

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université SAAD DAHLAB de BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de **Biologie**



Mémoire

De fin d'Etudes En Vue de l'Obtention de Master en Biologie

Option : **Entomologie médicale**

Thème

Inventaire des phlébotomes vecteurs des leishmanioses et des phlebovirus et détection moléculaire des leishmanies dans la région de Hadjout (wilaya de Tipaza).

Présenté par :

Soutenue publiquement le 19 décembre 2013

M^{lle} OUMESSOUM Amina

Devant le jury composé de:

Mme MATMOUR A.Maître assistante AUSDB.....Présidente.

Mme HAMICHE A.Maître assistante AUSDB.....Examinatrice.

Mme INAL D.Maître assistante AUSDB.....Examinatrice.

Mr BITAM I.Maître de Conférences AUMBB.....Promoteur.

Mr BENDJOUDI D.Maître de Conférences BUSDB.....Co-promoteur.

Promotion 2012-2013

Dédicaces

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui me sont chères :

A la mémoire de ma grand-mère, qui s'est tant occupée de moi, qu'elle repose en paix.

A celle qui attend mon retour à chaque coucher de soleil

*A celle qui m'a comblé d'affection, d'amour et de tendresse, et qui a veillé sur moi de mon berceau
pour consoler mes cris de douleurs, et qui n'a jamais cessé de le faire
« YEMMA ».*

A celui qui fait le plus brave des hommes, m'ouvrant ses bras dans les sombres moments et m'aidant à aller de l'avant vers le meilleur, et qui ma tant soutenu moralement et matériellement « VAVA ».

A mes très chers frères : Ali et Idir, je leurs souhaite une réussite dans leurs études tout autant ou plus que moi.

A ma grand-mère « YAYA » qui m'a guidé et toujours soutenu.

*A celle qui m'a été d'une aide précieuse ma chère tante Sonia
à qui je souhaite une bonne réussite.*

A mes tantes et oncles qui à un moment ou un autre m'ont apporté leurs aide.

A mes cousins et cousines, que j'adore beaucoup.

A tous mes amis de la promotion entomologie médicale, chacun par son nom, en particulier Lynda, Sara et Assia .

A tous mes amis avec qui j'ai passé de bons moments et qui m'ont aidé en particulier: Lila, Massi, Amar, Myassa, Boualem, Lilia, Lyly.

A mes enseignants depuis le primaire à L'USDB.

Remerciements

Avant d'exposer les résultats de ce travail, il est nécessaire d'exprimer, avec plaisir, ma reconnaissance et mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé à les réaliser ou qui m'ont fait l'honneur de les juger.

Ma profonde gratitude et mes sincères remerciements vont particulièrement à l'inspirateur de ce travail, mon promoteur : Dr. Bitam Idir, Biologiste Entomologiste médical, Enseignant-chercheur à l'université de Boumerdes. Il a toujours bien veillé à ce que ce travail aboutisse et il m'a toujours encouragé pour aller plus loin dans mon travail de recherche. Je le remercie pour la confiance et la compréhension qu'il a toujours manifestées à mon égard.

Je dois une reconnaissance particulière à M^r. Bendjoudi Djamel, maître de conférences B à l'université de Blida. Il a accepté aimablement de co-diriger ce travail. Il est toujours très disponible. Je le remercie particulièrement pour sa générosité et sa gentillesse.

Mes remerciements vont aussi à M^{me} Matmour, maître de conférences à l'Université de Blida, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider mon jury. Qu'elle trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à adresser mes vifs remerciements et à exprimer ma gratitude à Mme. Inal Dalila, Maître de conférences à l'Université de Blida, qui a aimablement accepté d'examiner mon travail sans oublier sa gentillesse, ses encouragements et ses conseils durant ces deux années de Master.

Je remercie Mme. Hamiche, Maître de conférences à l'Université de Blida, d'avoir accepté de m'honorer par sa présence lors de l'examen de ce présent travail.

Je ne pourrais jamais remercier assez Dr Lafri Smail, pour sa gentillesse illimitée, sa serviabilité, ses qualités humaines rares. Je témoigne toute ma reconnaissance pour son aide précieuse.

Je remercie vivement tous mes enseignants d'Entomologie médicale en particulier M^{me} Tail.

Je tiens à remercier également l'équipe de l'institut Pasteur : Dr Derrar, Benldjouzi Assia, Izeri Kahina, Nabila , Mr Amrouni, Dr Kernif... pour l'accueil qu'ils m'ont réservé et pour le temps qu'il m'ont consacré afin de mener à bien et à terme ce mémoire et toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Résumé :

Dans le cadre de surveillance et de prévention de la survenue de nouveau foyer de leishmaniose dans la wilaya de Tipaza, nous avons mené une série d'échantillonnage dans cinq stations prospectés à savoir Hadjout, Fedjana, Bourkika, Sidi boufadhal, et Bouyaghssane.

Nous avons abouti au recensement de 450 spécimens phlebotomiens, à l'aide de deux techniques de capture, celles de pièges adhésifs et pièges lumineux. Ces spécimens identifiés se répartissent en quatre espèces : *P. perniciosus* (180), *P. longicuspis* (168), *P. papatasi* (77), *Sergentomyia.minuta* (25). Les deux espèces *P. perniciosus* et *P. longicuspis* sont considérés comme vecteur de la leishmaniose viscérale. Cependant *P. papatasi* est le vecteur confirmé de leishmaniose cutanée à *Leishmania major*. L'échantillonnage dans son ensemble présente un sex-ratio en faveur des femelles.

L'analyse parasitologique par PCR, sur 40 femelles inventoriées du genre *Phlebotomus* en vue de la recherche de *Leishmania sp* a été négative. Ces résultats sont intéressantes ceci prouve bien qu'il s'agit pas de *Leishmania major* qui provoque la Leishmaniose cutanée zoonotique correspondant au primers utilisé lors de notre expérimentation, donc ces résultats nous poussent à rechercher d'autres espèces de Leishmanioses notamment celle de *Leishmania killicki* qui donne les mêmes manifestations cliniques que celles de la cutanée zoonotique mais avec des ulcérations qui restent même après les traitements par Glucantime, Il serait particulièrement intéressant de rechercher et d'identifier des leishmanies par des techniques plus développées qui permettent une meilleure compréhension du cycle épidémiologique des leishmanioses en Algérie.

Mot clés : Hadjout, *Phlebotomus*, identification, PCR, *Leishmania sp.*, pièges.

Summary:

Under surveillance and prevention of the occurrence of new outbreaks of leishmaniasis in the wilaya of Tipaza, we conducted a series of five sampling stations surveyed namely: Hadjout, Fedjana, Bourkika Sidi boufadhal and Bouyaghssane.

We lead the census phlebotomiens 450 specimens, with the aid of two capture techniques the pitfalls of adhesives and light traps. These identified specimens are divided into four species: *P. perniciosus* (180) *P. longicuspis* (168), *P. papatasi* (77) *Sergentomyia. minuta* (25). Both species *P. perniciosus* and *P. longicuspis* are considered vector of visceral leishmaniasis. However *P. papatasi* is the vector of *Leishmania major*. The sampling a whole present a sex ratio in favor of females.

Parasitological analysis by PCR, 40 females of the genus *Phlebotomus* inventoried for research *Leishmania sp* was negative. These results are interesting proven although this is not *Leishmania major* which caused zoonotic cutaneous leishmaniasis corresponding to the primers used in our experiment, so these results we shoot a search for other species of the Leishmaniasis is including *L. killicki* which gives the same clinical than the zoonotic cutaneous leishmaniasis but with ulcerations which remains even after treatments by Glucantime events, it would be particularly interesting to investigate and identify *Leishmania* by more developed techniques that allow a better understanding of the epidemiological cycle leishmaniasis in Algeria .

Keywords: *Phlebotomus*, Hadjout, identification, PCR, *Leishmania sp*, pitfalls.

ملخص:

في إطار المراقبة والوقاية من انتشار فاشيات جديدة من داء اللشمانيات في ولاية تيبازة أجرينا سلسلة العينات في 5 محطات : حجوط، سيدي بوقاضل، بويغسان، فجانة وبوركيقة. بإستعمالنا لنوعين من المصائد: اللاصقة والضوئية قمنا بجمع 450 ذبابة رمل تنتمي إلى 4 أنواع:

P. perniciosus (180), *P. longicuspis* (168), *P. papatasi* (77), *Sergentomyia.minuta* (25).

الفصلين *P. perniciosus* (180), *P. longicuspis* ناقلين لداء اللشمانيا الكبرى بينما *P. papatasi* ناقل لليشمانيا الجلدية. النسبة بين الجنسين في جميع المحطات لصالح الإناث.

من خلال الدراسة الطفيلية على 40 إناث ناقله لداء اللشمانيا إتضح لنا أنها سلبية. تجارينا تثبت من إنها ليست ناقله لداء اللشمانيات الجلدية. وهذا ما يدفعنا للبحث عن أنواع أخرى من فصائل اللشمانيا مثل *L. Killicki* التي تسبب نفس أعراض "تقرحات" اللشمانيات الجلدية لكن هذه الأخيرة لا تزول حتى بعد العلاج. سوف يكون مثيرا للاهتمام البحث عن اللشمانيا بواسطة تقنيات أكثر تطورا نتيج لنا استيعابا أفضل للدورة الوبائية لداء اللشمانيات في الجزائر.

الكلمات المفاتيح: الفخاخ، حجوط، الدراسة الطفيلية، ذبابة رمل، اللشمانيا.

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AE: Tampon d'élution (Elution Buffer)

AL: Lysis Buffer

ATL: Tampon de lyse tissulaire (Tissus lysis Buffer)

AW1: Tampon de lavage 1 (Wash buffer1)

AW2: Tampon de lavage 2 (Wash buffer2)

CDC: (Centers for Disease Control)

dNTPs :Déoxynucléotides

EDTA : Ethylène diamine tétra acétique acide

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

IFI : Immunofluorescence Indirecte

LV : Leishmaniose viscérale

LC : Leishmaniose cutanée

LCM : Leishmaniose cutano-Muqueuse

LCS : Leishmaniose cutanée sporadique

LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique

Mm : Millimètre

mM : Milli Molaire

Mgcl₂ : Chlorure de magnésium

MON : Désignation du laboratoire de l'Université 1 de Montpellier

NNN : Novy-McNeal-Nicolle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Pb : Paire de base

PH : piège huilé

PCR : Polymérase chaîne réaction

TAE : Tris-Acétate-ADTA

UV : Ultra violet

U/ μ l : Unité par Microlitre

V : voltes

μ M : Micro Molaire

Liste des figures :

Figure 1 : Cycle de développement des phlébotomes.....	6
Figure 2 : Morphologie d'un phlébotome adulte vue au microscope	8
Figure 3 : Anatomie des génitalia mâle et femelle d'un phlébotome.....	9
Figure 4 : Taxonomie des Leishmania	15
Figure 5 : Les deux principaux stades morphologiques de <i>Leishmania</i>	16
Figure 6: Cycle de vie du parasite <i>Leishmania</i>	17
Figure 7: Les différentes formes de leishmaniose	18
Figure 8 : Distribution de la leishmaniose dans le monde	20
Figure 9: Cycle épidémiologique de la leishmaniose.....	21
Figure 10 Répartition géographique des deux types des leishmanioses en Algérie.....	22
Figure 11 : Localisation de la commune dans la wilaya de Tipaza.....	25
Figure 12 : Site de capture	26
Figure 13 : Différents emplacements de piège adhésif	29
Figure 14: Piège lumineux simple.....	30
Figure 15 : Technique de préparation des phlébotomes.....	31
Figure 16: Etapes d'extraction d'ADN.....	34
Figure 17 : Le matériel utilisé pour la PCR	37
Figure 18 : Schéma explicatif des différentes étapes de la PCR.....	39
Figure 19 : Protocole d'électrophorèse sur gel d'agarose.....	41
Figure 20 : Génitalia d'un <i>P. perniciosus</i> mâle	44
Figure 21 : Génitalia <i>P. longicuspis</i> mâle Gx40.....	44
Figure 22 : Génitalia ♂ de <i>P.papatasi</i> Gx40	45
Figure 23: Génitalia ♂ de <i>S. minuta</i> Gx40	45
Figure 24: Répartition des fréquences d'abondance (%) des phlébotomes recensés.....	46
Figure 25: La répartition des phlébotomes selon le type de piégeage	51
Figure 26 : Amplification de l'ADN de <i>Leishmanies sp</i> , photographiés sous UV	53

Liste des tableaux :

Tableau I : Distribution géographique des genres de phlébotomes	3
Tableau II : Clefs détermination des stades larvaires.....	6
Tableau III : Liste des espèces de phlébotomes recensées en Algérie	12
Tableau IV : Coordonnées géographiques des sites prospectés	26
Tableau V: Résultats de capture réalisé à Hadjout.....	42
Tableau VI : Préparation du mix pour un volume total d'une réaction de 25µl	38
Tableau VII : Programmes du thermocycleur	40
Tableau VIII : La liste des espèces recensées dans la région de Hadjout	43
Tableau IX : fréquence d'occurrence des espèces recensées dans les 5 stations	45
Tableau X : Fréquence d'abondance des espèces capturées	46
Tableau XI : Répartition globale des espèces recensées selon le sexe.....	49
Tableau XII : Pourcentages des phlébotomes capturés selon le type de piégeage.....	51

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I : Recueil bibliographique sur les phlébotomes et les maladies qu'ils transmettent	03
1.1.- Position systématiques des phlébotomes	03
1.2.- Cycle de développement	04
1.3.- Repas sanguin	09
1.4.- Activité du vol.....	10
1.5.- Les gîtes potentiels.....	10
1.6.- Répartition des phlébotomes en Algérie	11
1.7.- Importance médicale	13
1.7.1.- Transmission d'arbovirus	13
1.7.2.- Transmission de la bartonellose humaine	13
1.7.3.- Les phlébotomes et la transmission des leishmanioses	14
1.7.3.1.-Historique	14
1.7.3.2.- Définition.....	14
1.7.3.3.- Taxonomie	15
1.7.3.4.- Morphologie et cycle de vie	16
1.7.3.5.- Manifestations cliniques chez l'homme	17
1.7.3.6.- Réservoir.....	19
1.7.3.7.- Epidémiologie.....	20
1.7.3.8.-Diagnostic biologique.....	22
1.7.3.9.- Traitement.....	23
1.7.3.10.- Prophylaxie.....	24
Chapitre II : Matériel et méthodes	25
2.1.-Objectif	25
2.2.- Présentation de zone d'étude et facteurs climatiques de cette région.....	25
2.2.1.- Localisation du cadre d'étude	25
2.2.2.- Stations d'études	25
2.2.3.- Facteurs climatiques.....	26
2.2.4.- Données épidémiologiques sur la leishmaniose	28
2.3.- Méthode d'échantillonnage des Phlébotomes.....	28
2.3.1.- Les Pièges Adhésifs.....	28

2.3.2.- Les pièges lumineux.....	29
2.4.- Traitement des phlébotomes	30
2.5.- Détection de l'agent pathogène.....	32
2.5.1.- Extraction de l'ADN génomique	32
2.5.2.- Technique de polymérase Chaine Réaction (PCR).....	35
2.5.2.1.- Préparation du mix pour PCR.....	36
2.5.2.2.-Programmation du thermocycleur	38
2.5.3.- Electrophorèse sur gel d'agarose.....	40
Chapitre III : Résultats et discussions.....	42
3.1. Inventaire systématique des phlébotomes recensés dans la commune de Hadjout	42
3.1.1. Identification des espèces phlebotomiennes	43
3.1.1.1. Critères morphologiques d'identification	43
3.1.2. Constance ou indice d'occurrence.....	45
3.1.3. Fréquence d'abondance	46
3.1.4. Sex-ratio	49
3.1.5. Efficacité du piégeage	50
3.2. Résultats de l'analyse moléculaire	52
Conclusion	54
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Les maladies à transmission vectorielle sont des maladies pour lesquelles l'agent pathogène (virus, bactérie ou parasite) est transmis d'un individu infecté (un hôte vertébré : homme ou animal) à un autre par l'intermédiaire d'un arthropode (insecte, tique) hématophage. Ces maladies, notamment humaines comme leishmaniose, les arboviroses contribuent de façon majeure à l'impact global des maladies dans le monde (Tran *et al* 2005). Les changements climatiques contribuent de façon importante dans l'augmentation et l'extension de ces anthroponoses, notamment des leishmanioses (Rodhain, 2007).

Parmi les insectes hématophages, les phlébotomes de l'ordre des Diptères (Dondji, 2001), dont leurs classifications reconnaissent six genres. Parmi ces derniers, deux genres reconnus d'importance médicale en épidémiologie tels que *Phlebotomus* et *Lutzomyia*. Ils posent un problème à la santé humaine et animale. Il est à signaler que le rôle vecteur de ces phlébotomes a été démontré dans les arboviroses et dans les leishmanioses qui sont des affections parasitaires dont la focalisation dépend de la distribution de ces insectes (Killick-Kendrick et Ward, 1981).

Les leishmanioses dues au protozoaire *Leishmania* (Ashford, 2000), sont des maladies émergentes étroitement liées à l'état de l'environnement (Desjeux, 2002). Elles sévissent à l'état endémique dans 88 pays principalement dans les zones tropicales et subtropicales (De La Rocque et Rioux, 2008). L'Algérie compte parmi les pays les plus touchés dans le monde par la leishmaniose avec 54 mille cas déclarés entre 2000-2005 et une extension géographique importante avec apparition de nouveaux foyers (Achour Barchiche et Madiou, 2008). Elle est concernée par trois formes cliniques sévissant à l'état endémique : la leishmaniose viscérale (LV), leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCS) et la leishmaniose cutanée zoonotique (Harrat et Belkaid, 2003).

Les phlébotomes ont fait l'objet d'importants travaux menés à l'institut Pasteur d'Alger, sous la direction de Parrot et frères Sergent. Des découvertes capitales concernant tant leur systématique que leur pouvoir pathogène y ont été réalisées, nous citons en particulier ceux qui ont trait entre 1972 et 1976 à un ensemble de 201 stations sur la totalité du territoire Algérien. D'autres inventaires faunistiques ont été effectuées dans plusieurs foyers de la leishmaniose, dans la région de Constantine (Moulaheem *et al.*, 1998), de Mila

(Messai, 2006), d'Oum- EL -Bouaghi (kabbout et al, 2007), de Skikda (Bouleknafet, 2006), de Biskra, de Batna (Bencherif, 2010) et de Tizi Ouzou (Barchiche et al., 2008).

En 2012, Boudrissa et al., ont signalés une flambée épidémique de leishmaniose cutanée (L.C.) à *L. major* transmise par *P. papatasi* dans le bassin de Soummam (Bejaia), où prolifère habituellement *L. infantum*. Cette avancée vers le nord de L.C. zoonotique a été alertée récemment en mai 2013, à l'hôpital de Hadjout (Tipaza), par la survenu des cas de leishmaniose cutanée humaine. Nous avons à cet effet jugé utile d'effectuer des recherches écologiques et des études moléculaires sur les phlébotomes de cette région considérée comme un nouveau foyer de LC. A travers cette étude, nous avons essayé de répondre à un certain nombre de question :

- Quels sont les espèces phlebotomiennes qui coexistent dans la région de Hadjout (Tipaza) ?
- Quels sont les espèces vectrices de leishmaniose apparues dans cette région et quel est le taux de phlébotomes femelles infectés par leishmanies ?
- Le diagnostic moléculaire confirme t-il les cas de leishmaniose cutanée humaine déclarés ?

Dans la première partie du présent travail, nous présenterons un bref rappel bibliographique sur les phlébotomes et les maladies qu'ils transmettent.

Dans la seconde partie, nous exposerons l'étude expérimentale qui s'articulera comme suit :

Présentation de la région d'étude et identification des phlébotomes recensés au niveau des stations prospectées, ainsi que la détection moléculaire de l'agent pathogène par PCR.

Dans la dernière partie, nous avons calculé les fréquences d'abondance et les fréquences d'occurrence de chaque espèce inventoriée, tout en déterminant le sex ratio de l'ensemble des espèces recensées dans la région. Enfin, nous clôturons l'étude par une conclusion générale avec des perspectives.

1.1.- Position systématique des phlébotomes :

Les phlébotomes sont des Diptères Nématocères de la famille des *Psychodidae* (Kertész, 1904 in Boussaa 2008), cette dernière est divisée en 6 genres dont trois comportent des espèces hématophages à savoir *Phlebotomus*, *Lutzomyia* et *Sergentomyia* (Killick-Kendrick, 1999). 4 genres regroupent 90 % des espèces, représentés par les genres *Phlebotomus* et *Sergentomyia* de l'ancien monde et les genres *Lutzomyia*, *Brumptomyia* qui sont bien connus du nouveau monde (Leger et Depaquit, 2002) (Tab.I)

Phlebotomus et *Lutzomyia* regroupent les espèces mammophiles vectrices de leishmanies. Par ailleurs *Sergentomyia* qui ne sont jamais vecteurs se nourrissent sur les reptiles, les amphibiens et les oiseaux, et piquent très rarement l'homme (Moulinier, 2002).

Parmi les représentants de la famille de *Psychodidae*, la taxonomie de *Phlebotominae* est toujours une issue très discutée (Dujardin et al, 1996).

Les femelles phlébotomes se nourrissent de sang pour développer leurs ovaires et transmettent les agents infectieux (leishmanies- phlebovirus). Lors de la pique ce sont des insectes telmophages. Néanmoins, on le retrouve près de l'hôte attiré par la femelle pour la reproduction. Alors que le mâle ne joue aucun rôle dans la propagation des leishmanioses, on le retrouve près de l'hôte attiré par la femelle pour la reproduction (Meghamla, 2007).

Tableau I: Distribution géographique des genres de phlébotomes dans le monde (Léger et Depaquit, 1999).

	Nombre D'espèce	Amérique	Océanie	Indonésie	Afrique au sud du Sahara	Eurasie et Afrique du nord
<i>Brumptomyia</i>	22	+				
<i>Lutzomyia</i>	+ de 300	+				
<i>Warileya</i>	6	+				
<i>Australophlebotomus</i>	10		+			
<i>Idiophlebotomus</i>	12		+	+		
<i>Chinius</i>	1				+	+ (Chine et Inde)
<i>Spelaeophlebotomus</i>	1				+	+ (Chine)
<i>Parvidens</i>	4				+	
<i>Grassomyia</i>	5				+	
<i>Spelaeomyia</i>	4				+	
<i>Demeillonius</i>	1				+	
<i>Sergentomyia</i>	≈ 250		+	+	+	
<i>Phlebotomus</i>	≈ 100			+	+	

+ : présence

1.2.- Cycle de développement

Les phlébotomes présentent un cycle de vie holométabole comprenant obligatoirement quatre stades larvaires (Ba, 1999) dont le développement jusqu'au stade adulte dure de 35 à 60 jours en absence de phénomène de la diapause qui peuvent intervenir lorsque les conditions sont défavorables (période hivernale pour les phlébotomes des régions tempérées) (Fig.1).

1.2.1.- Œuf

L'œuf des phlébotomes à la forme d'une ellipse allongée incurvée d'environ 0,4 mm de long (Dolmatova et Demina, 1971). La femelle pond 50 à 200 œufs sur le sol dans un endroit calme, abrité du vent, humide et sombre. Au moment de la ponte, ces œufs sont de couleur claire mais ils se pigmentent rapidement en brun au contact de l'air. Les éclosions se font au bout de 4 à 15 jours après la ponte libérant une larve de premier stade (Brumpt, 1949). Généralement, les femelles pondent leurs œufs dans un substrat de plantes en décompositions et dans toutes sortes de déchets modérément humides. Le dessèchement du substrat et les rayons directs du soleil sont mortels pour les œufs. (Ba, 1999).

Au laboratoire, les femelles pondent sur du papier filtre humidifié. Lorsque les œufs sont couverts par la moisissure noire du *Penicillium glaucum*, les larves ne se développent pas.

La durée du développement embryonnaire dans des conditions d'humidité appropriées dépend de la température. Le développement des œufs de *P. papatasi* s'accélère lorsque la température monte de 26°C-30°C et se ralentit graduellement à mesure de son abaissement. Dans des conditions de température optimale (26-30°C) il est assez rapide (six à sept jours) et les larves sortent des œufs presque simultanément (Baldet et al, 2003).

1.2.2.- Larves

Les larves vermiformes de phlébotome qui mesurent de 2 à 8 mm, et eucéphales sont dotées de pièces buccales broyeuses sur la capsule céphalique et d'un tégument orné de petits tubercules portant chacun une soie épineuse. Les segments abdominaux (de 1 à 7) sont munis de fausses pattes locomotrices et le segment abdominal 9 est doté de deux paires de soies fortes, très longues et foncées (Baldet, et al 2003). Certaines espèces hivernent à l'état larvaire le plus souvent au quatrième stade lorsque la température est suffisamment basse (Dolmatova et Demina, 1971 ; Djazor, 1975).

Le développement larvaire dure de 14 à 60 jours (Killick-Kendrick, 1999). Il est à mentionner que la détermination des stades larvaires, est basée sur les dimensions de la tête qui se modifie

peu au cours de leur croissance mais qui grossit sensiblement après chaque mue, ainsi que sur les modifications de la taille du corps entier (Tab.II).

Les périodes de mue dépendent des conditions de température en moyenne sept à dix jours.

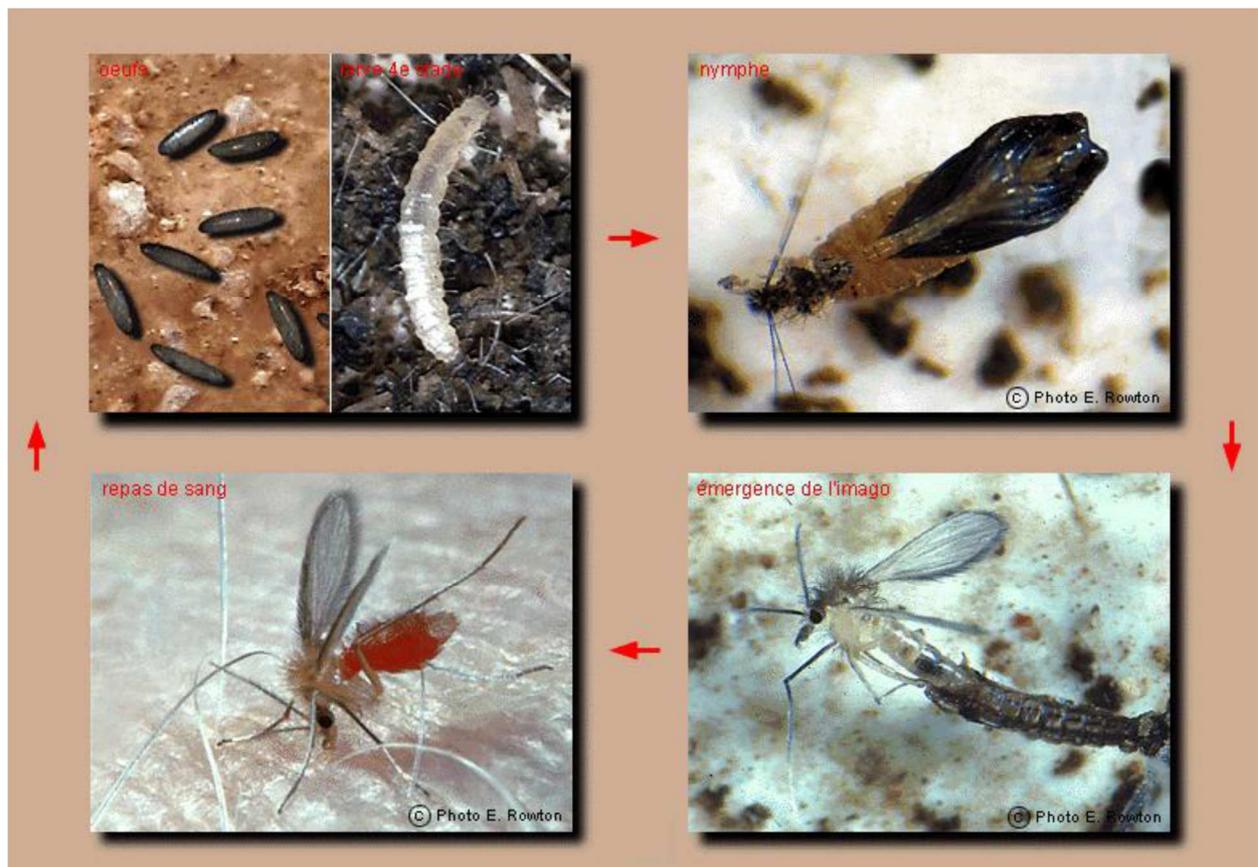


Figure 1 : Cycle de développement des phlébotomes (Niang et al, 2000).

Tableau II : Identification des différents stades larvaires des phlébotomes (Ba, 1999)

Stade	Mensurations de la tête, en mm		Mensurations du corps, en mm	
	Longueur	Largeur	Longueur	Largeur
I	0.14	0.11	0.46 à 1.06	0.09 à 0.15
II	0.22	0.18	1.06 à 1.68	0.17 à 0.22
III	0.30	0.23	1.70 à 2.50	0.24 à 0.33
IV	0.48	0.36	2.55 à 3.78	0.36 à 0.52

1.2.3.- Nymphe

La nymphe qui mesure 3 mm de long se caractérise par un céphalothorax distinct de l'abdomen. Les 4 premiers segments (tête et trois segments thoraciques) sont plus ou moins soudés entre eux et constituent le céphalothorax. Les autres, bien différenciés forme l'abdomen avec 9 segments. Les deux derniers segments sont habituellement cachés dans la dépouille de la larve qui sert de support à la nymphe. Ainsi fixé au substrat, la nymphe peut se tenir verticalement (Abonnec, 1972), resté inerte ou peu mobile, fixée par son extrémité postérieure au sol (Segyu, 1951), et ne s'alimente pendant cette période qui dure de 6 à 15 jours Avant d'entamer le processus de la nymphose, la larve du 4^{ème} stade demeure immobile avec la partie antérieure du corps relevée (fig.1) (Baldet, 2004).

1.2.4.- Imago

Le corps grêle des imagos (Ba, 1999) qui mesurent de 2 à 3 mm sont parfois confondus avec des petits moustiques. Ils sont de couleur claire, jaune pâle, à brune, à peine visible à l'œil nu. Leurs ailes, de forme lancéolée, se dressent en V à 45° sur le dos lorsqu'ils sont au repos (Izri *et al.*, 2006). Examinés à la loupe, ils apparaissent velus, bossus, pourvus de longues pattes et d'une nervation alaire caractéristique (Dolmatova et Demina, 1971 ; Abonnenc, 1972).

1.2.4.1.- Tête

La tête de phlébotome est dotée de longues antennes (16 articles), fines pourvues de soies. Il n'y pas de dimorphisme sexuel comme chez les moustiques (Moulinier, 2002). Les yeux sont gros. Pour ce qui est des pièces buccales, le labre, les maxilles et les mandibules dentés, forment avec l'hypopharynx parcouru par le canal salivaire, un fascicule court, engainé au repos par un labium en gouttières. Enfin le cibarium (partie antérieure de la cavité buccale) porte des denticulations que chez le genre *Lutzomyia* (Moulinier, 2002) (Fig. 2A).

1.2.4.2.- Thorax

D'après Abonnenc (1972), le thorax des phlébotomes est bien développé comme chez tous les diptères, en particulier le mésothorax. Ce dernier formé de plusieurs plaques portant des soies sensorielles. Il porte également le stigmate antérieur. Cependant le stigmate postérieur se retrouve dans le métathorax. Il faut rappeler que sur les trois segments thoraciques sont insérés ventralement une paire de pattes articulée, longue, fines et couverte de soies (Fig.2B) Dorso-latéralement sont insérés les ailes et les balanciers ou haltères, les ailes présentent 7 nervures longitudinales et deux nervures transverses (Ba, 1999).

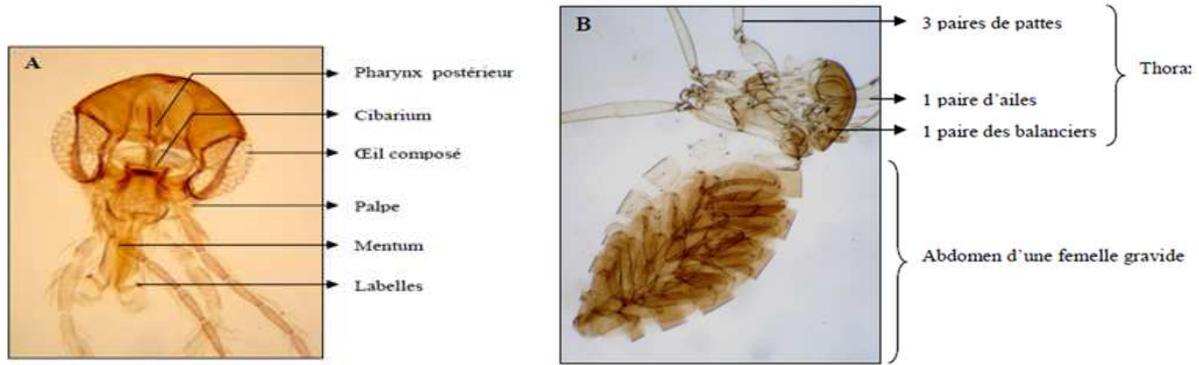


Figure 2 : Morphologie d'un phlébotome adulte (*Sergentomyia minuta*) vue au microscope optique au G : 100 (A : Tête (vue ventral) ; B : Thorax et abdomen) (Bousaa, 2008)

1.2.4.3.- L'abdomen

L'abdomen cylindrique composé de dix segments dans sa plus grande partie se termine par un cône. Les sept segments non modifiés portent chacun une paire de stigmates respiratoires ; tandis que les trois derniers sont transformés en segments génitaux (Ba, 1999).

Chez le mâle, l'armature génitale très développée et aussi long que le tiers de la longueur de l'abdomen (Moulinier, 2002). Elle se compose de trois paires de prolongements: une paire de coxites sur lesquels s'articulent les styles ; une paire de pièces médianes, les paramères naissant à la base des coxites ; une paire de prolongements ventraux appelés lobes latéraux et enfin, soudés à la partie interne de ces derniers, deux lames membraneuses, les lamelles sous-médianes entre lesquelles s'ouvre l'anus. Entre les paramères, se situent les fourreaux ou gaines du pénis protégeant deux filaments génitaux (Fig.3A).

Chez la femelle, l'appareil génital interne se compose de deux ovaires, deux glandes annexes et deux spermathèques. Ces dernières sont formées chacune d'une capsule chitineuse, de morphologie variable, suivie d'un conduit plus ou moins long, qui vient déboucher dans l'atrium génital. Les spermathèques et l'armature buccale de la femelle varient dans leur morphologie et sont utilisés dans l'identification et la classification des espèces (Fig.3B).

Les caractères d'identification d'espèces les plus utilisés sont, le pharynx et le cibarium au niveau de la tête, et l'implantation des soies au niveau du thorax, l'implantation des soies dorsales au niveau abdominal et les génitalia qui permettent l'identification rapide et précise de nombreuses espèces (Leger *et al.*, 1983 ; Killick-Kendrick *et al.*, 1991). Enfin, l'étude des iso enzymes (Izri *et al.*, 2006).

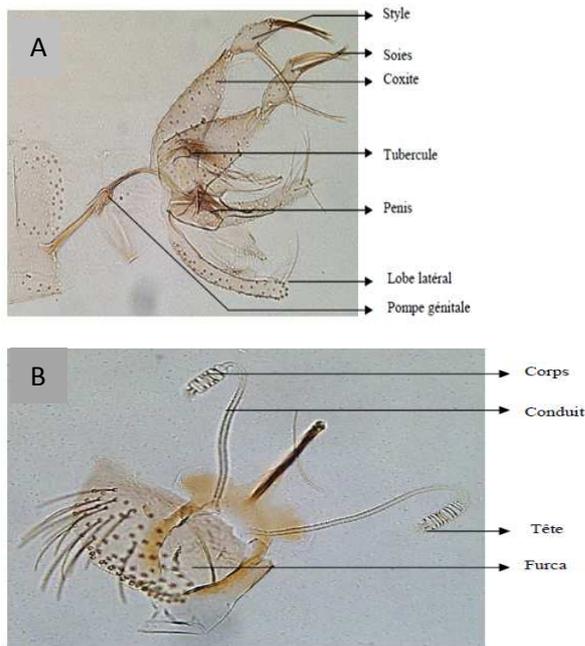


Figure 3: Anatomie des genitalia ♂ et ♀ d'un phlébotome (*Ph. Sergenti*) vue au microscope optique au G : 100 (Bousaa, 2008).

1.3.5.- Accouplement :

L'accouplement des phlébotomes intervient sans vol nuptial à proximité du gîte de repos. Cet accouplement se produit trois à dix jours après le repas sanguin qui dure de 30 secondes à 5 minutes. Les mâles émergent quelques heures avant les femelles ; la rotation des derniers anneaux abdominaux et la mise en place des pièces génitales sont terminées 12 heures après l'émergence. L'accouplement se réalise au crépuscule, en vol, à terre ou parfois sur un hôte (Moulinier, 2002).

1.3.- Repas sanguin :

La femelle de phlébotome se nourrit en piquant aussi bien l'homme que les animaux (Ba, 1999). Elle prélève le sang en dilacérant avec sa trompe les tissus superficiels de ses hôtes, provoquant un petit hématome qu'elle aspire. La piqûre peut passer inaperçue en raison de la petitesse de l'insecte ou du sommeil de l'hôte. La durée du repas sanguin est assez longue de l'ordre de 10 à 30 minutes probablement par pool feeding (Dolamtova *et al.*, 1971 ; Messai, 2006).

Une fois gorgée de sang, la femelle prend une brève période de repos sur support proche avant de rejoindre un abri où elle digère son repas pendant 3 à 10 jours qui permettent la maturation

de ces ovaires. Le temps entre un repas sanguin et la maturation des œufs est en fonction de l'espèce, de la vitesse de digestion et de la température ambiante.

Après la ponte, la femelle cherche un hôte pour un nouveau repas de sang qui sera suivi d'une nouvelle ponte selon un cycle gonotrophique répété tous les 3 à 10 jours (Abonnenc, 1972). C'est ainsi que la femelle qui vit de 1 à 3 mois peut se nourrir sur plusieurs hôtes, s'infecter sur l'un d'eux et assurer la diffusion d'agents pathogène (Moulinier, 2002). Alors que le mâle se contente de sucs de plantes et de miellat de puceron (Nieves et Pimenta., 2002).

1.4.- Activité du vol :

Contrairement à d'autres diptères comme les moustiques, les phlébotomes sont de mauvais voiliers que leurs vols est court avec des arrêts fréquents (Brumpt, 1949). Ils se déplacent avec un vol sautillant, saccade et au niveau du sol. Le rayon maximum de leur déplacement varie selon les espèces est d'environ 1km (Baldet et *al.*, 2003). Ils ne commencent à s'agiter qu'à la tombée du jour si la température est suffisamment élevée (19-20°C), en l'absence de vent. Les phlébotomes ont une activité nocturne et crépusculaire (Izri et Belazzoug, 2007).

1.5.- Les gîtes potentiels des phlébotomes :

1.5.1.- Gîtes des œufs

Les œufs sont pondus un à un dans toutes sortes de substrats mais surtout les endroits humides qui constituent les gîtes larvaires. En effet la survie et le développement des œufs dépendent des conditions d'humidité et de température appropriées (26-30°C). L'incubation de ces œufs varie en fonction de la température. Elle est de l'ordre de quatre à dix-sept jours (Dolamtova *et al.*, 1971).

1.5.2.- Gîtes larvaires :

Les gîtes larvaires varient selon les espèces. Ils peuvent être présentés par les fissures du sol, terriers de micromammifères, nids d'oiseaux, creux d'arbres fentes des murs, sols des habitations et des étables. Il faut rappeler que les larves des phlébotomes sont terricoles, sédentaires, saprophages et phytophages (Moulinier, 2002). La durés des quatre stades larvaires successifs varie selon les conditions climatiques (Dolamtova *et al.*, 1971).

1.5.3.- Gîtes nymphales :

La nymphe est fixée en position verticale par son extrémité postérieure et se rencontre au niveau des mêmes gîtes que ceux de la larve (Dolamtova *et al.*, 1971). Elle est plus grande

que la larve et adaptée à un milieu aérien sec. Tout comme les œufs, la nymphe a besoin de protection contre l'insolation et d'autres facteurs météorologiques agissant de manière brutale.

1.5.4.- Gîtes des adultes

Les habitats des adultes sont caractérisés par le calme et la tranquillité du gîte de repos, l'existence de gîtes de ponte propice à la vie des larves et la proximité d'hôtes vertébrés nécessaire au repas de sang de la femelle. Les phlébotomes sont très sensibles à la dessiccation, fréquentent des gîtes ombrageux, à l'abri du vent et humides (Moulinier, 2002):

- Grotte, cavernes, creux d'arbres, terriers de rongeurs, termitières, anfractuosités des vieux murs pour les espèces sauvages ;
- Granges, étables, caves, clapiers pour les espèces domestiques.

Ils sont actifs toute l'année en zone tropicale et seulement à la belle saison en zone tempérées (Brumpt, 1949). La période de vie active des phlébotomes est en fonction du climat (Dolmotova et Demina 1971), et celle des adultes est en fonction de la température et de l'humidité. Les femelles vivent en moyenne deux semaines à deux mois et prennent généralement plusieurs repas sanguins. Les mâles quand à eux ont une durée de vie plus brève (Léger et Depaquit, 2001).

1.6.-La répartition des Phlébotomes en Algérie :

La présence des Phlébotomes a été rapportée pour la première fois en Algérie en 1912 par Foley et Leduc et signalés plus tard par Parrot et Sergent dont les travaux ont été menés entre 1917 et 1960 (in Dedet *et al.*, 1984).

En Algérie, 24 espèces sont connues, réparties entre les genres *Phlebotomus* (14 espèces) et *Sergentomyia* (10 espèces) dont chaque espèce a sa propre distribution écologique (Tab.III), notamment la répartition de *P. perniciosus* s'étend dans l'étage humide et subhumide (Dedet, 1979) mais aussi dans les étages semi-arides (Berchi, 1990), tandis que *P. papatasi* est inféodé à l'étage aride et saharien (Tab :II). (Croset *et al.*, 1977). *Phlebotomus sergenti* est abondant dans l'étage bioclimatique saharien et dans les régions limitrophes de la région aride (Dedet *et al.*, 1984). Il est à noter que *P.perniciosus* et *P. papatasi* sont les vecteurs prouvés de *Leishmania infantum* (leishmaniose viscérale) et de *Leishmania major* (Leishmaniose cutanée) respectivement (Belazzoug, 1991)

Tableau III: Liste des espèces de phlébotomes recensées en Algérie (Bitam, 2010)

Sous –famille Phlebotominae	
Genre Phlebotomus	Genre Sergentomyia
<i>Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi</i> (Scopoli, 1786)	<i>Sergentomyia (Parrotomyia) africana</i> <i>asatica</i> (Newstead, 1912)
<i>Phlebotomus (Transphlebotomus) mascitii</i> (Grassi 1908)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) antennata</i> (Newstead, 1912)
<i>Phlebotomus (Larroussius) perniciosus</i> (Newstead, 1911)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) fallax</i> (Parrot, 1921)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti</i> (Parrot, 1917)	<i>Sergentomyia (Sintonius) christophersi</i> (Sinton, 1927)
<i>Phlebotomus (Larroussius) ariasi</i> (Tonnoir, 1921)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) minuta</i> <i>parroti</i> (Alder et Theodor, 1927)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri</i> (Sinton, 1928)	<i>Sergentomyia (Sintonius) clydei</i> (Sinton, 1928)
<i>Phlebotomus (Larroussius) longicuspis</i> (Nitzulescu, 1930)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) schwetzi</i> (Adler, Theodor et Parrot, 1929)
<i>Phlebotomus (Larroussius) langeroni</i> (Nitzulescu, 1930)	<i>Sergentomyia (Grassomyia) dreyfussi</i> (Parrot, 1933)
<i>Phlebotomus (Phlebotomus) bergeroti</i> (Parrot, 1934)	<i>Sergentomyia (Parrotomyia) eremitis</i> (Parrot et Bouquet de Joliniere, 1945)
<i>Phlebotomus (Larroussius) perfiliowi</i> (Parrot, 1939)	<i>Sergentomyia (Sintonius) hirta</i> (Parrot et Bouquet de Jolinière, 1945)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) kezeruni</i> (Theodor et Mesghali, 1964)	
<i>Phlebotomus (Larroussius) chadlii</i> (Rioux, Juminer et Gbily, 1966)	
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi</i> (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970)	
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi</i> (Depaquit ,1998)	

1.7- Importance médicale des phlébotomes :

L'importance médicale des phlébotomes tient au rôle vecteur de certaines espèces dans la transmission d'affections humaines et animales qui peuvent, à la faveur d'expositions répétées à la piquûre, provoquer des réactions allergiques mais connus pour transmettre des agents pathogènes au premier rang desquels figurent des parasites (leishmanies), des bactéries (bartonelles) et des arbovirus (phlebovirus) (Ba,1999).

Il existe un genre prédominant dans le Nouveau Monde, *Lutzomyia* et un dans l'Ancien Monde, *Phlebotomus* qui sont responsables d'à peu près toutes les transmissions connues des *Leishmania* aux humains. Sur 81 espèces de phlébotomes, 19 ont été confirmées comme vecteurs des différentes espèces de *Leishmania* (Killick-Kendrick et al., 1991). Leur piquûre est de type telmophage et douloureuse, mais l'intensité des réactions de l'hôte varie selon l'espèce de phlébotomes en cause (douleur, apparition d'une papule ou d'une tache hémorragique).

1.7.1.- Transmission d'arbovirus

Les phlébotomes peuvent être incriminés dans la transmission biologique du virus de la stomatite vésiculeuse, affectant les équidés, les bovins et les porcins. Notons également que ce virus peut être transmis par des moustiques ou des culicoïdes (Rodhain et Perez, 1985). Ils peuvent également transmettre biologiquement certains virus notamment : Toscana virus, Sissiliens virus et Phlebovirus constituant le groupe de fièvre à phlébotomes. Parmi ces virus certains sont responsables d'une affection humaine bénigne appelée 'fièvre à phlébotomes' ou 'fièvre à *papatasi*' (car elles sont transmise par *Phlebotomus papatasi*) ou encore fièvre à 3 jours. Ces fièvres à phlébotomes sont répandues principalement dans le bassin méditerranéen, au moyen orient, en Asie central, au Pakistan et en Inde. Ces fièvres ont aussi été signalées en Afrique de l'est et en Amérique du nord (Boulkenafet, 2006).

1.7.2.- Transmission de la bartonellose humaine :

La bartonellose humaine, due à *Bartonella bacilliformis* est une affection dont les foyers sont limités au versant occidental dans les Andes (Pérou, Equateur, Colombie). Elle est caractérisée dans sa première phase par une fièvre et une anémie hémolytique et plus tard par des affections cutanées avec formation de nodules ou de verrues (Rodhain et Perez, 1985). Les vecteurs sont des *Lutzomyia sp*, principalement *L. verrucarum*. La maladie sévit sous deux formes, la verruga péruvienne et la fièvre d'Oroya ou maladie de carrion, dont le réservoir animal est suspecté (Boulkenafet, 2006).

1.7.3.- Phlébotomes et la transmission des leishmanioses

1.7.3.1.- Historique : Les parasites du genre *Leishmania* agents des leishmanioses, décrits par William Leishmana et Charles Donovan en 1903, mais précédemment ont été observés par David Cuninghame (1885) et Peter Borovsky (1898). Ces parasites ont été confondus avec d'autres protozoaires et le genre *Leishmania* a été proposé par James Wright seulement en 1903 (Nogueira *et al.*, 1998 ; Vannier-Santos *et al.*, 2002).

La révélation de la relation entre le vecteur (phlébotome) et les symptômes est due à l'équipe de l'Institut Pasteur d'Algérie dirigé à l'époque par les frères Edmond et Etienne Sergent et leurs collaborateurs. Les preuves expérimentales de la transmission de la leishmaniose cutanée ont été apportées en 1921, lorsque les frères Sergent contaminèrent un sujet sain en le faisant piquer par des phlébotomes récoltés dans le sud du pays. Presque parallèlement, des observations faites en Palestine et en Syrie par Adler et Theodor confirmèrent celles de l'équipe de l'Institut Pasteur d'Algérie (Dedet, 1999).

1.7.3.2.- Définition : Les leishmanioses sont des anthroponoses dues à des protozoaires du genre *Leishmania* (Minodier *et al.*, 1999 ; Basset *et al.*, 2001 ; Dedet et Pratlong, 2001), famille des trypanosomatidae (Lightburn *et al.*, 2000). Ce sont des maladies infectieuses dues au parasitisme des cellules mononuclées par des protozoaires flagellés (Del Giudice *et al.*, 2001). Ces parasites obligatoires dihéteroxyènes (Marignac *et al.*, 2003) affectent de nombreuses espèces de mammifères, dont l'homme (Dedet, 2001), auxquelles ils sont transmis par la piqûre de la femelle hématophage d'un diptère appartenant au genre *Phlebotomus* dans l'Ancien monde et *Lutzomyia* dans le nouveau monde. Les réservoirs de parasites sont des rongeurs sauvages, les mammifères, l'homme et le chien. (Marty et Rosenthal, 2002).

1.7.3.3.- Taxonomie : L'approche taxonomique s'est basée sur le comportement du parasite dans le vecteur, le pouvoir pathogène expérimental, les caractères culturels, les critères immunologiques, les données épidémiologiques et exceptionnellement la morphologie comparée. (Dumon et Piarroux, 1995). En effet, plus de 30 espèces de *Leishmania* ont été nommées d'après Bates et Ashford (2006) dont 10 espèces ont une importance médicale et vétérinaire. Le développement du parasite dans le tube digestif du vecteur, au niveau du pylore est le critère qui a permis de diviser le genre *Leishmania* en deux sous-genres. D'une part, la section *Suprasyllaria*, caractérisée par la multiplication dans l'intestin moyen et antérieur, devient le sous-genre *Leishmania*. D'autre part, la section *Perisyllaria*, caractérisée par la multiplication dans la partie postérieure suivie d'une migration antérieure, devient le

sous genre *Viannia* (Acebey, 2007) (Fig. 4). Il faut ajouter que la classification actuelle privilégie des critères biochimiques et immunologiques d'investigation.

L'électrophorèse des iso enzymes a connu depuis une vingtaine d'années une utilisation de plus en plus large (Harrat *et al.*, 1995). Cette technique biochimique, par comparaison avec des souches de référence, permet de définir des zymodèmes qui constituent l'ensemble des souches présentant le même profil enzymatique. On regroupe habituellement les espèces de *Leishmania* en complexes selon la similarité biochimique de leurs isoenzymes.

En Algérie, les espèces responsables des deux formes cliniques de leishmaniose appartiennent à deux complexes distincts : le complexe *L. infantum* et le complexe *L. major* (Harrat *et al.*, 1996).

Dans le complexe *L. infantum*, les zymodèmes responsables de la forme viscérale sont les MON-1 ; MON-24 ; MON-33 ; MON-34 ; MON-78 ; et MON-80. Quant à la leishmaniose cutanée, on trouve les zymodèmes MON-1 ; MON-24 et MON-80. Les zymodèmes MON-1, MON-34 et MON-77 étant isolés du réservoir canin et le MON-1 et le MON-24 de chez le vecteur toujours dans le complexe *L. infantum* (Harrat *et al.*, 1996).

Dans le complexe *L. major*, un seul zymodème a été isolé chez l'homme, le rongeur et le vecteur : il s'agit du MON- 25. Ce dernier est également, l'agent causal de la leishmaniose cutanée en Tunisie (Kallel *et al.*, 2005).

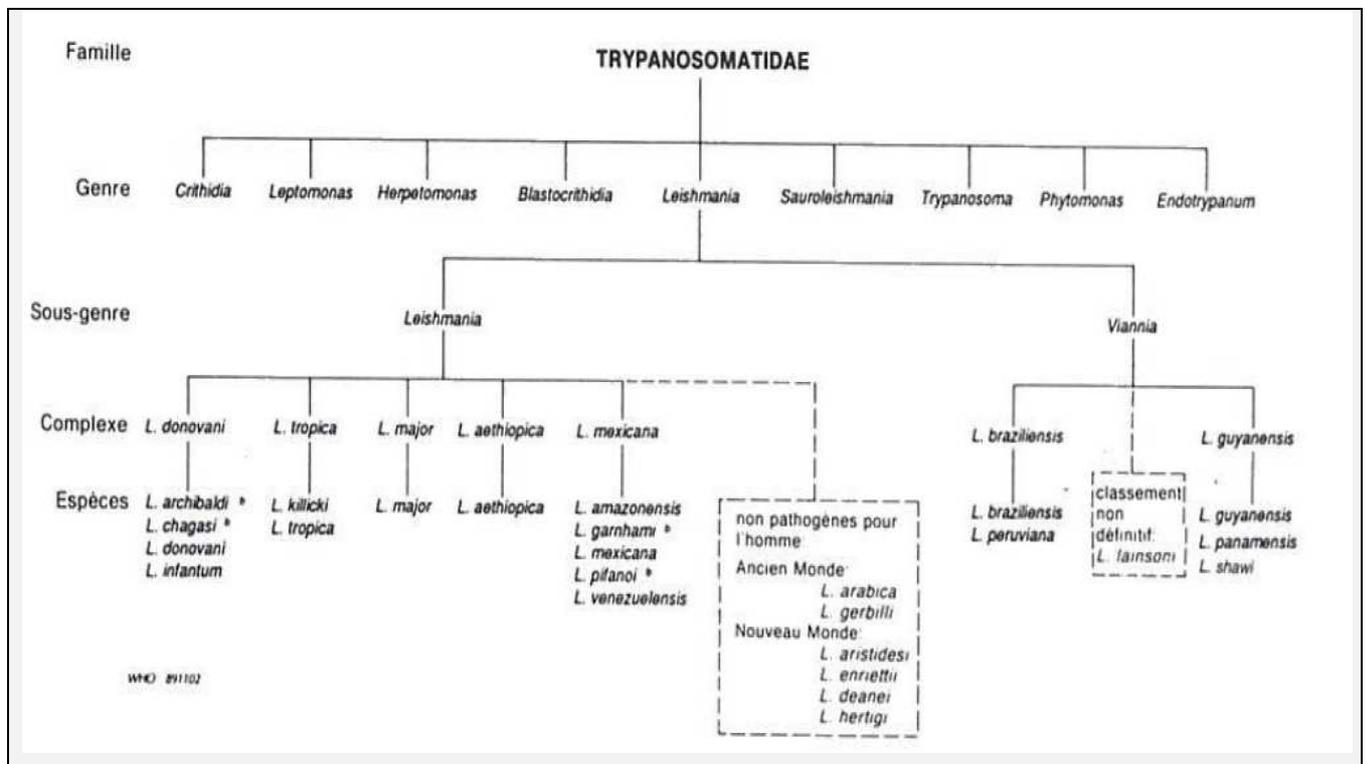


Figure 4 : Taxonomie des *Leishmania* (WHO, 2000).

1.7.3.4.- Morphologie et cycle de vie :

Le parasite *Leishmania* a un cycle de vie dimorphique qui nécessite deux hôtes, l'insecte phlébotome et un mammifère. Il se présente chez leurs hôtes successifs sous deux stades morphologiques principaux : les promastigotes et les amastigotes (Fig.5).

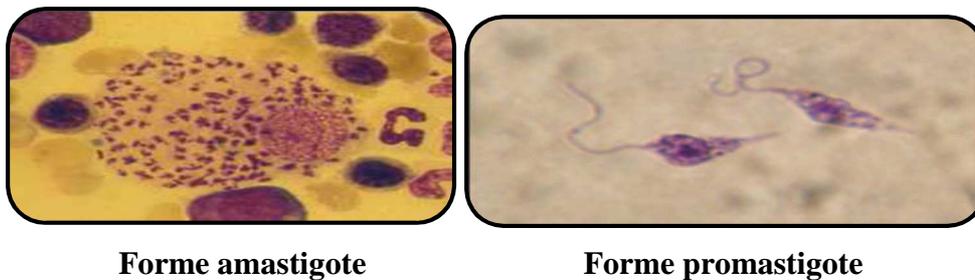


Figure 5: Principaux stades morphologiques de *Leishmania* (Boussaa, 2008)

La femelle de phlébotome infectée prend un repas sanguin chez un hôte mammifère **1**, elle salive au site de piqûre et régurgite le sang qui se contamine au contact des parasites, sous forme promastigote, qui obstruent la valvule stomodéale (Miriam et Robert, 2007). Les promastigotes (long. 5 à 20 μm ; larg. 1 à 4 μm) sont des parasites extracellulaires mobiles vivant dans le tube digestif du phlébotome. Ils présentent un corps plus ou moins fuselé prolongé par un flagelle de 20 μm de long et qui émerge de leur pôle antérieur (Dedet, 1999 ; Vannier-Santos *et al.*, 2002).

Chez l'hôte mammifère, *Leishmania* infecte ensuite un phagocyte (Monocytes/macrophages) du système phagocytaire mononuclé **2** et se transforme en amastigote **3**. Les amastigotes, nichent à l'intérieur des macrophages de mammifères, au sein de vacuoles dites parasitophores (Sacks et Kamhawi, 2001). Les amastigotes sont ovoïdes ou sphériques ($\text{\O} = 2,5$ à 5 μm), immobile avec un court flagelle qui se multiplie par division binaire dans le phagolysosome du phagocyte qui est finalement lysé **4** (Bates, 2007). Les parasites ainsi libérés sont phagocytés par des cellules avoisinantes où le processus se poursuit (Handman et Bullen, 2002).

Le cycle est achevé lorsqu'une autre femelle de phlébotome prend un repas sanguin du site d'infection et prélève des phagocytes contenant *Leishmania* **5**. Dans l'intestin de l'arthropode (Fig. 6).

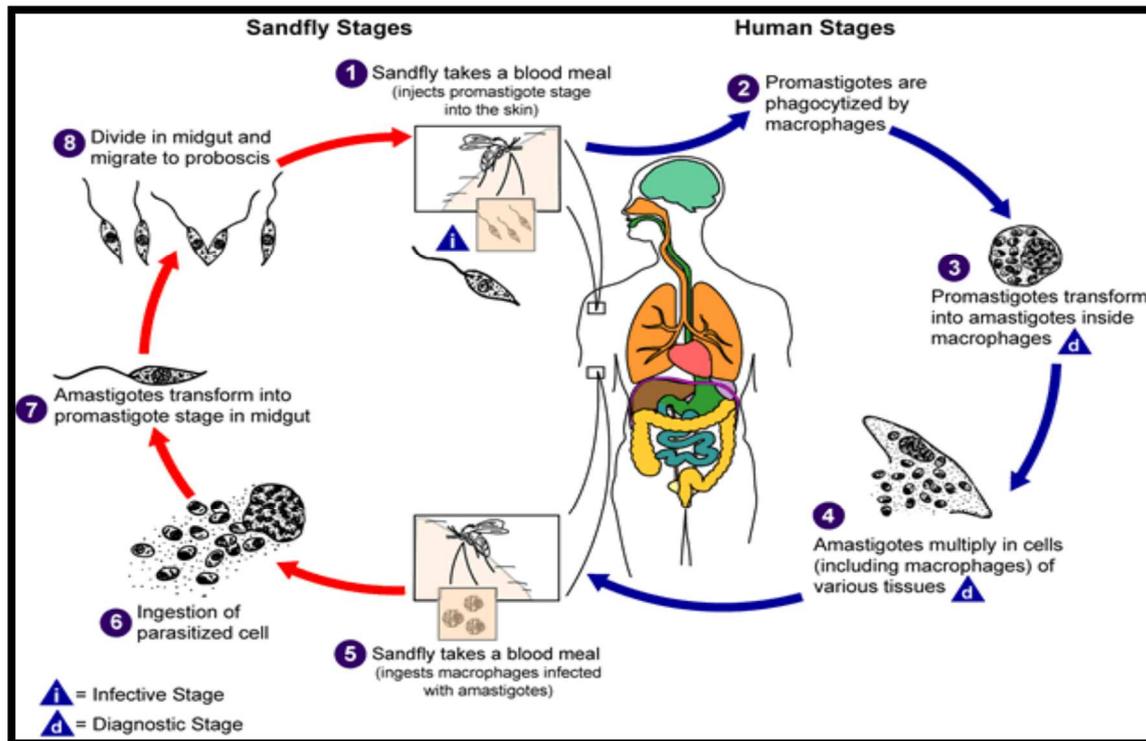


Figure 6: Cycle de vie du *Leishmania* (CDC).

6, les parasites se différencient à nouveau en promastigotes après 12 à 18 heures 7. Ces derniers se multiplient et migrent vers les glandes salivaires et la trompe en attendant un nouveau repas sanguin 8 (Mazelet, 2003).

1.7.3.5.- Manifestations cliniques chez l'homme

Le parasite du genre *Leishmania* est responsable de différentes pathologies. Selon les espèces, ce protozoaire représente une cause importante de morbidité et de mortalité en médecine humaine et vétérinaire (Ouellette *et al.*, 2003). Les manifestations symptomatiques peuvent être classées en quatre groupes (Hide, 2004) (Fig.7).

Leishmaniose cutanée (LC) : cette manifestation clinique était autrefois appelée bouton d'Orient, qui se caractérise par la formation d'une petite papule prurigineuse rouge sombre qui apparaît au site de piqûre. Puis, elle s'ulcère, s'infiltré en profondeur et se recouvre d'une mince croûte évoluant très lentement sous forme sèche ou forme humide. Le tout se résorbe généralement après quelques mois voire un an, en laissant de profondes cicatrices non pigmentées (Dedet, 1999).

Leishmaniose cutanéomuqueuse ou mucocutanée (LCM), il s'agit d'une zoonose où les manifestations cliniques, de façon générale, évoluent en deux temps, d'une part l'apparition d'ulcères cutanés initiaux, similaires à la leishmaniose cutanée, qui finissent par se résorber spontanément entre six mois et un an. D'autre part, une deuxième infection peut s'installer avant la guérison de la première ou apparaître plusieurs années plus tard (Roqueplo, 2003). Elle provoque des lésions pouvant conduire à une destruction étendue et mutilante des muqueuses du nez, de la bouche et de la gorge. Ces lésions nécrosées peuvent entraîner des infections bactériennes et le tout peut engendrer une grande difformité due à la perte des lèvres, nez, palais et pharynx. La mort du patient peut également survenir à cause d'infections secondaires ou de problèmes de respiration (Hide, 2004). Ils se surinfectent facilement et peuvent donner lieu à des métastases (Khiati, 1992).

Leishmaniose cutanée diffuse (LCD), est caractérisée par la dissémination des lésions nodulaires ou en plaques qui ressemblent fortement à des formes lèproïdes, souvent présentes au niveau de visage ou des membres. Ces lésions ne guérissent pas de façon spontanée et sont plus fréquentes chez des individus ayant un système immunitaire défectueux (Dedet, 2001).

Leishmaniose viscérale (LV), également appelée kala-azar, un mot indien signifiant fièvre noire. Représente la forme la plus grave de la maladie, avec une mortalité d'environ 100 % en l'absence de traitement. Les parasites ne restent pas au site de piqûre, ils migrent vers les organes lymphoïdes (foie, rate et moelle osseuse), via les systèmes sanguins et lymphatiques (Guerin *et al.*, 2002). La LV se caractérise par des poussées de fièvres irrégulières, une perte de poids, une hépato-splénomégalie, une lympho-adénopathie et une anémie. La mort survient chez les patients non-traités de 6 mois à quelques années suivant l'infection (Hide, 2004). Les leishmanioses viscérales qui peuvent être endémiques, épidémiques ou sporadiques prennent des caractères cliniques différents selon le cas (Marty, 2005).

Les espèces de leishmanies incriminées dans la transmission des pathologies humaines sont illustrées dans l'annexe 6.



Figure 7 : Les différentes formes de leishmaniose (WHO, 2000).

1.7.3.6.- Réservoir :

Les réservoirs naturels des *Leishmania* sont des mammifères domestiques ou sauvages, chez lesquels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononucléés. Les mammifères réservoirs des *Leishmania* appartiennent à divers groupes tels que les carnivores, les rongeurs, les marsupiaux, les édentés, les primates ou les périssodactyles. Dans certains cas, l'homme est l'unique réservoir du parasite (Dereure, 1999 ; Pinto *et al.*, 2001).

En Algérie, la leishmaniose viscérale admet comme réservoir le chien (Dedet *et al.*, 1973). Il faut noter que 11,4% des chiens de la grande Kabylie étaient atteints de LV. Le rôle joué par cet animal confirme la corrélation entre foyer de leishmaniose canine et leishmaniose viscérale humaine (Belazzoug *et al.*, 1985, 1986). La leishmaniose canine concernant tout le territoire national avec une prévalence variant d'une région à l'autre. Le réservoir de la leishmaniose cutanée zoonotique est représenté essentiellement par deux rongeurs sauvages gerbillidés. Le premier étant *Psammomys obesus*, naturellement infesté par *Leishmania major* (Belazzoug, 1983) et le second : *Meriones shawi* au niveau du foyer de Ksar Chellal (Belazzoug, 1986). Quant à la leishmaniose cutanée variant enzymatique de *L. infantum*, le réservoir demeure inconnu, bien que le chien soit fortement suspecté (Courtenay *et al.*, 2001).

1.7.3.7.- Epidémiologie

a.- Situation de la leishmaniose dans le monde

Largement répandues à la surface du globe (fig.8), les leishmanioses connaissent une aire géographique globalement circumterrestre, mais débordant largement sur les zones tempérées d'Afrique du Nord, du Sud de l'Europe et d'Asie (Roqueplo, 2003). Présentent sur cinq continents dans les zones tropicales et sub tropicales de 88 pays : 16 sont des pays industrialisés et 72 des pays en développement, dont 13 parmi les pays les moins développés (Desjeux, 2002 ; Loiseau, 2007).

On estimait une incidence d'environ 1,0 à 1,5 millions de cas par an pour les LC et de 0,5 million de cas par an de LV dans 88 pays (WHO, 2000 ; Dedet, 2001 ; Croft et Yardley, 2002). Parmi les deux espèces couramment responsables de LV, *L. donovani* est anthroponotique et sévit principalement en Inde et en Afrique de l'Est, alors que *L. infantum* est une espèce zoonotique s'étendant de la Chine à l'Amérique du sud. En ce qui concerne les LC, l'Ancien Monde présente des espèces à aire géographique vaste, telles *L. major* et *L. tropica*, et des espèces à distribution restreinte comme *L. killicki* (Tunisie), *L. aethiopica*

(Ethiopie), *L. arabica* (Arabie Saoudite). Quant à *L. turanica* et *L. gerbilli*, elles parasitent uniquement des rongeurs en Asie Centrale. *L. major* est une espèce zoonotique des rongeurs terrioles des steppes per-arides, qui s'étend sur de vastes territoires comme l'Afrique occidentale sub-saharienne, l'Afrique du Nord, et l'Afrique de l'Est centrale. Il est à mentionner que *L. tropica* est une espèce anthroponotique urbaine dans de nombreux pays du Proche et du Moyen Orient. Cette espèce se rencontre également en Afrique du Nord (Maroc et Tunisie) où un réservoir animal est suspecté dans certains foyers (Dedet et Pratlong, 2000).

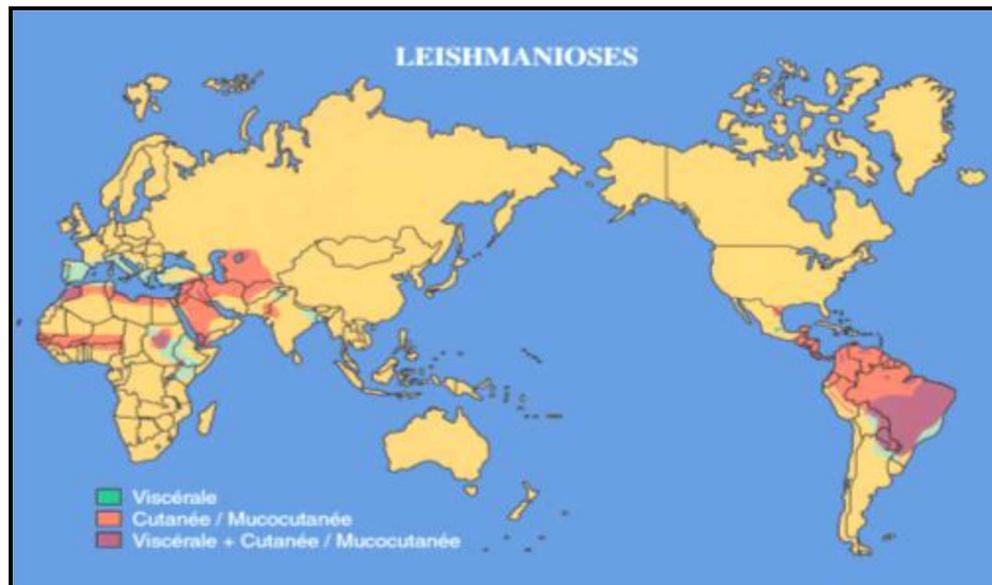


Figure 8 :Distribution de la leishmaniose dans le monde (who, 2000).

La propagation des cas de leishmaniose est basée sur deux formes éco épidémiologiques ; dans la première « forme zoonotique », les mammifères sauvages ou domestiques (surtout le chien) interviennent en tant que réservoirs naturels, où l'être humain joue le rôle d'hôte facultatif lorsqu'il s'expose accidentellement au cycle de transmission. Ensuite, la deuxième forme

« anthroponotique » qui est caractérisée par la présence d'un seul réservoir considérée ainsi comme source d'infection pour l'homme (Ouellette *et al.*, 2003) (Fig.9).

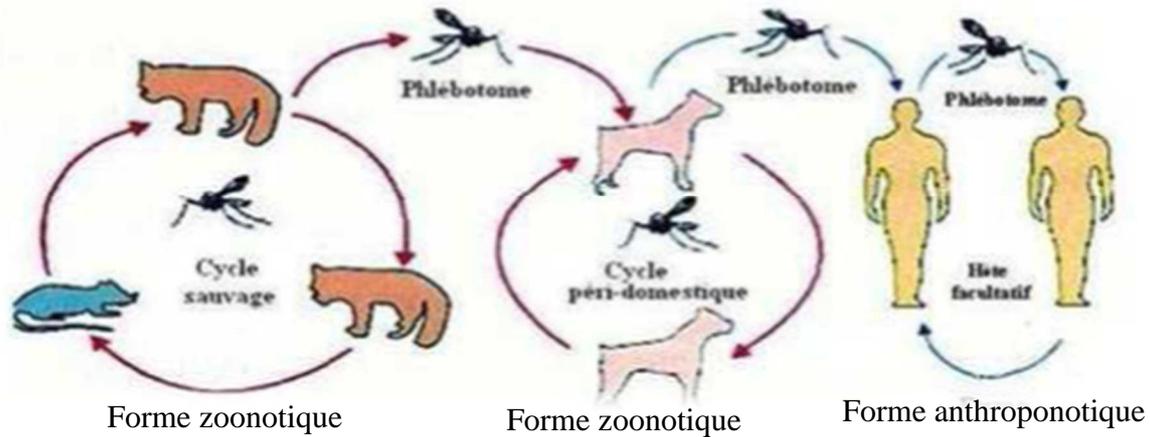


Figure n°9: Cycle épidémiologique de la leishmaniose (Acebey, 2007).

b.- Situation de la leishmaniose en Algérie :

En Algérie, les leishmanioses sont signalées sur tout le territoire national (Berchi *et al.*, 2007), trois formes cliniques sévissant à l'état endémique, y sont décrites (Izri et Belazzoug, 2007). Mais chaque forme constitue une entité clinico-épidémiologique distincte. La leishmaniose viscérale (LV), due à *Leishmania infantum* (Harrat et Belkaid, 2002), est la forme la plus grave. Elle sévit surtout dans le nord du pays où elle touche 100 à 200 sujets chaque année. La leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) à *Leishmania major* regroupe, à elle seule, la quasi-totalité des cas des leishmanioses cutanées (LC) algériennes. Elle sévit en bordure du Sahara et dans les oasis. Elle est relativement bénigne mais peut avoir un pronostic esthétique redoutable en raison des cicatrices indélébiles qu'elle laisse après la guérison. La troisième forme, la leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCS) à *Leishmania infantum*, est bénigne et moins fréquente. Elle est observée dans le même territoire que la forme viscérale (Izri et Belazzoug, 2007). La répartition géographique de ces leishmanies est illustrée dans la Figure 10.

En Algérie les leishmanioses constituent un problème majeure de santé publique, avec près de 40000 cas par an (Izri et Belazzoug, 2007). Il est important de noter que le foyer de la Grande Kabylie regroupe à lui seul près de 50 % de cas recensés (Harrat *et al.*, 1995). Cependant les espèces responsables des trois formes cliniques de leishmaniose appartiennent à deux complexes distincts : le complexe *L. infantum* et le complexe *L. major* (Harrat, 1996).

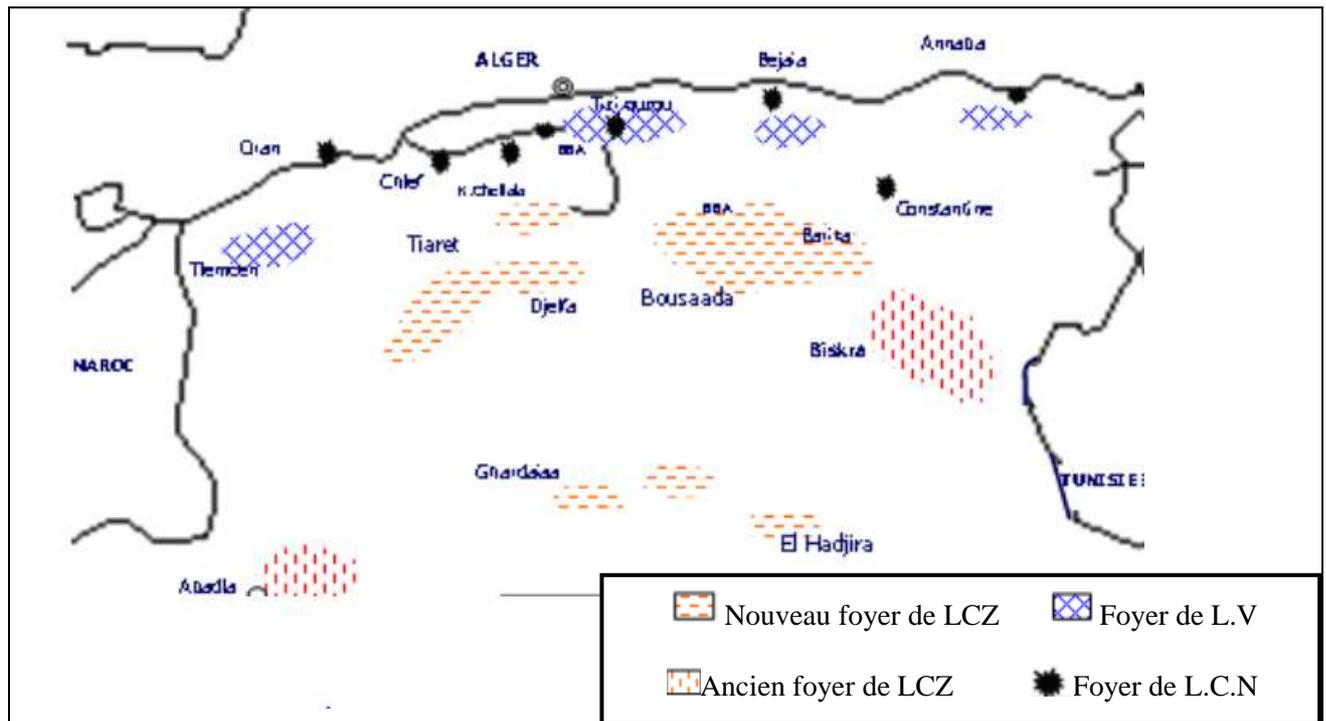


Figure 10 : Répartition géographique des deux types des leishmanioses en Algérie. LCZ Leishmaniose cutanée zoonotique, LV : leishmaniose viscérale, LCN : leishmaniose cutanée du Nord (Boudrissa *et al.*, 2006).

1.7.3.8.-Diagnostic biologique : Le diagnostic des leishmanioses repose sur la mise en évidence du parasite, ou de son acide désoxyribonucléique (ADN), et sur la recherche des traces immunologiques de l'infection, anticorps circulants ou hypersensibilité retardée (Le Fichoux *et al.*, 1999).

Examen microscopique :

Il permet la recherche des amastigotes intracellulaires (Murray *et al.*, 2005). Les frottis seront faits à partir de matériel prélevé par ponction de moelle osseuse, de rate ou de lymphes dermique. Pour les lésions cutanées, le prélèvement se fera par raclage à la périphérie de la lésion. Les frottis fixés au méthanol, seront colorés au May Grünwald Giemsa. (Del Giudice *et al.*, 2001).

Culture :

Elle permet la croissance des formes promastigotes à partir des ponctions ou des biopsies, dans des milieux d'isolement appropriés (Wery, 1995). Le milieu le plus utilisé est le milieu Novy-Mac Neal- Nicolle (N.N.N). C'est un milieu diphasique composé d'une phase solide faite de gélose salée avec 10% de sang de lapin défibriné et une phase liquide constituée de l'exsudat produit à partir de la gélose au sang. En cas de positivité, les formes promastigotes

flagellées mobiles sont visibles. Si le résultat est négatif, la phase liquide est transférée sur un milieu neuf et quatre à cinq repiquages sont effectués à une semaine d'intervalle avant de conclure à la négativité.

Diagnostic sérologique

De nombreuses réactions immunologiques ont été utilisées. Les plus courantes, à l'heure actuelle sont (Dedet, 2001) :

Immunofluorescence indirecte : consiste à mettre en présence un antigène figuré avec des dilutions successives de sérum suspect. Si le sérum contient des anticorps spécifiques, ceux-ci se fixent sur les parasites puis retiennent le conjugué fluorescent (anti-immunoglobuline marquée à l'isothiocyanate de fluoresceine). A l'examen en lumière ultraviolette, le parasite apparaît fluorescent (Letonturier, 2007).

Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA): est de plus en plus utilisé car elle est automatisée. Sa sensibilité et sa spécificité varient en fonction de l'antigène utilisé.

Le western blot : ou immunoempreinte est actuellement une des techniques sérologiques les plus sensibles. Elle est réalisée dans des laboratoires spécialisés (Desmettre, 1993)

Le diagnostic moléculaire : Il s'est remarquablement développé au cours des 20 dernières années.

Bien que différentes méthodes moléculaires aient été successivement évaluées, ce sont les techniques basées sur la PCR qui sont actuellement les plus utilisées. La PCR est une technique d'amplification de séquence nucléique, décrite par Mullis en 1985. Elle est devenue un outil quasi universel dans le domaine de la biologie : elle permet d'obtenir en quelques heures plusieurs millions de copies d'une séquence donnée d'ADN. Son avantages en effet résident dans leur très grande sensibilité (Etienne, 2000).

1.7.3.9.- Traitement :

Pour le traitement des leishmanioses, l'antimoine trivalent fût la première molécule utilisée mais elle a été vite abandonnée à cause de sa toxicité. Depuis 1940, les médicaments de première ligne les plus utilisés sont des antimoinés pentavalents, le N-méthyl glucamine (Glucantime) avec une teneur d'antimoine de 8,5 % (85 mg/ml) et le stibogluconate desodium (Pentostam) dont la teneur en antimoine est de 10 % (100 mg/ml). Ces produits ont une action inhibitrice sur la synthèse de l'ADN, sur l'oxydation glycolytique et sur celle des acides gras, de plus, ils ne sont actifs in vivo qu'après conversion en antimoine trivalent (Hide, 2004).

Des essais récents ont montré que l'utilisation d'antigènes leishmaniens Ag ESP induit une réaction immunitaire de type Th1 (réaction forte) à l'origine d'une forte destruction des

parasites, et pourrait constituer les bases d'une nouvelle thérapeutique (Bourdoiseau *et al.*, 2004 ; Hugnet *et al.*, 2006 ; Bourdoiseau, 2007).

1.7.3.10.- Prophylaxie :

a.- Prophylaxie sanitaire

La lutte contre les phlébotomes est difficile. Il est souvent conseillé de rentrer les chiens au crépuscule, période d'activité maximale de ces insectes. Ce n'est cependant pas une méthode sûre car certains phlébotomes étant endophiles, on les retrouve donc également en intérieur. De plus, ils sont de taille inférieure au maillage des moustiquaires classiques et peuvent donc pénétrer facilement dans les maisons. L'usage de diffuseurs anti-moustiques est intéressant mais pas entièrement fiable (Roqueplo, 2003).

Il existe également des formes spécifiques d'insecticides, de la famille des pyréthrynoïdes : deltaméthrine (collier), perméthrine (spot-on et spray) (Molina *et al.*, 2006 ; Miro *et al.*, 2007). Ces molécules ont un effet létal par simple contact et ne nécessitent pas une piqûre du phlébotome. Cet effet peut être utilisé par exemple en imprégnant les moustiquaires, ce qui potentialiserait leur effet mécanique. Le réservoir canin étant le principal, l'usage de ces molécules en prophylaxie canine permettrait une diminution de la prévalence de la leishmaniose (Bourdoiseau et Franc, 2002).

La lutte anti-vectorielle serait intéressante mais difficile à mettre en œuvre, notamment en raison de l'ignorance des gîtes de reproduction de ces insectes.

b.- Prophylaxie médicale

Il existe selon Dantas-Torres (2006), deux vaccins, le premier, Canileish®, empêche la survenue de signe clinique chez l'animal mais celui-ci reste réservoir, et la transmission est toujours possible. Le second, Leishmune®, c'est un vaccin qualifié car il empêche la présence de leishmanie dans le derme de l'animal, et donc la propagation de la maladie. Grâce à ce vaccin, il semble possible d'enrayer la progression de la leishmaniose, voir de mener à son éradication. Ce vaccin est disponible en Europe, où les vétérinaires ont déjà commencé à l'administrer. Bien que ce traitement n'empêche la survenue de rechute de la maladie et n'a pas pour conséquence une stérilisation parasitaire, d'où l'intérêt d'un suivi des animaux malades.

2.1.- Objectif de l'étude

Dans le cadre d'un travail national sur la surveillance des vecteurs des maladies infectieuses en Algérie et la prévention des nouveaux cas de leishmaniose dans la wilaya de Tipaza. Nous avons réalisé un premier inventaire des populations Phlébotomiennes dans la localité de Hadjout. En effet, l'apparition des cas de leishmaniose cutané (LC) humaine dans cette commune considérée comme un nouveau foyer, nous avons proposé d'effectuer cette étude sur l'aspect vectoriel de cette infection. De ce fait, des sorties sont organisées sur terrain afin de collecter les vecteurs dans les abris d'animaux près des habitations des malades atteints par cette maladie.

2.2.- Présentation de zone d'étude et facteurs climatiques de cette région

2.2.1.- Localisation du cadre d'étude

La commune de Hadjout ($36^{\circ} 30' 45''$ N ; $2^{\circ} 24' 49''$ E) qui se trouve à proximité du littoral méditerranéen, est située à 75 km du sud-ouest d'Alger. Elle est limitée au sud par Tipaza, au sud-est par Cherchell et à l'ouest par Blida (fig. 11). La superficie de Hadjout est de $52,3 \text{ km}^2$ (Boudjelal, 2007).

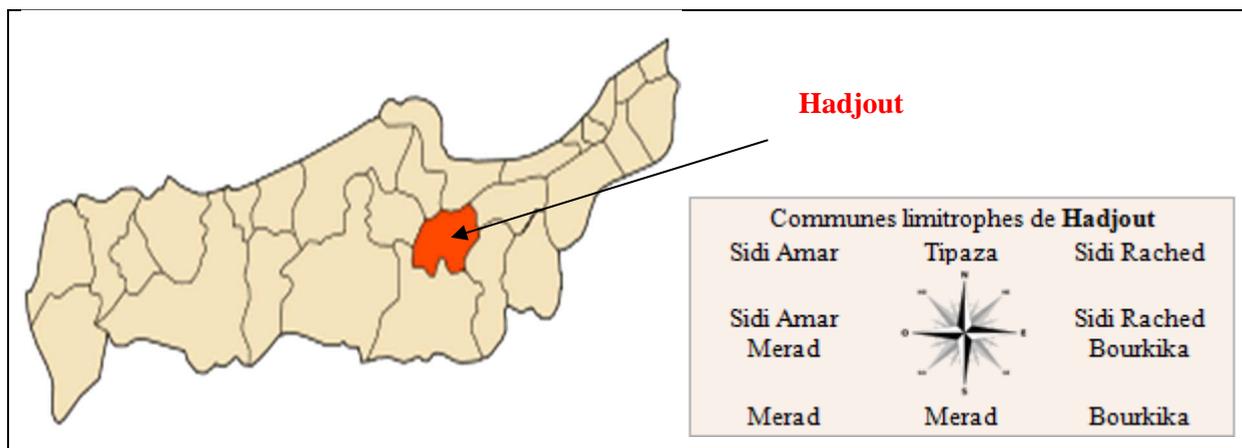


Figure 11 : Localisation de Hadjout dans la wilaya de Tipaza (Boudjelal, 2007)

2.2.2.- Stations d'études

Nous entendons par station, la partie du milieu prospecté dans laquelle sont situés les sites de piégeages. Ces derniers sont représentés par les biotopes piégés ou les points précis de captures des phlébotomes. Il est à mentionner que les points de captures piégés sont propices au développement des Phlébotomes (milieu de ponte et de repos), qui sont choisis en fonction des plans géographiques altitudinaux, et environnementaux (tab. IV) (Izri et Belazzoug, 2007). Ce sont également des foyers reconnus comme étant des foyers de leishmaniose. Nous

avons ainsi choisi cinq stations à savoir Hadjout, Fedjana, Bourkika Sidi boufadhal, et Bouyaghssane.

Ces stations sont constituées d'anciennes maisons d'argile. Cette matière organique en décomposition est la litière préférée des larves de phlébotomes. Les murs de ces bâtisses qui présentent des anfractuosités, hébergent des bétails composés de moutons et chèvres (fig. 12).



Figure 12 : Sites de capture (Originale)

Tableau IV : Coordonnées géographiques et nature d'abri des sites prospectés.

Station	latitude	Longitude	Nature d'abri
Hadjout	36. 30 50 N	2° 25' 4" E	Humain
Fedjana (Menacer)	36.5614 N	2.5325 E	Bovin
Bourkika	36.4928 N	2.47361 E	Caprin, ovin
Bouyeghssane	36.44583 N	2.40781 E	Poule, Lapin Bovin, Ovin
Sidi boufadhal	36.43675	2.4185E	Bovin

2.2.3.- Facteurs climatiques

Les facteurs climatiques jouent un rôle fondamental dans la distribution et la vie des êtres vivants que ces derniers ne peuvent se maintenir en vie qu'entre certaines limites bien précises de températures, d'humidité relative et de pluviométrie (Dajoz, 1982). Des modifications dans la distribution et/ou le comportement de nombreuses espèces vivantes sont observées par les biologistes (De La Rocque et Rioux, 2008) qui tentent d'analyser l'influence du changement climatique sur le risque d'émergence de maladies vectorielles (Duvallat, 2006).

2.2.3.1.- Température : Etant le facteur le plus important, la température contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne la répartition de la totalité des êtres

vivants dans la biosphère (Ramade, 1984). Elle a un rôle déterminant dans l'évolution biologique des insectes, en influençant sur l'espérance de la vie et la fécondité des adultes ainsi sur la maturation des œufs (Seguy, 1950).

L'activité des phlébotomes est concentrée à la période estivale. Ces derniers sont alors actifs en fin de journée, lorsque la température est moins élevée et le vent moins violent. Des observations expérimentales montrent l'augmentation du nombre de phlébotomes infectés fonction de l'augmentation de la température d'où les parasites se déplacent plus facilement vers l'avant du tube digestif de l'insecte, le rendant ainsi infectant (Boulkenafet, 2007).

2.2.3.2.- Pluviométrie :

La pluviométrie permet l'humidification du sol sur lequel se forment des gîtes favorables à la pullulation des phlébotomes et d'autres Nématocères. La pluie légère n'arrête pas les différentes activités des Diptères, mais une forte pluie les supprime complètement (Seguy, 1951).

2.2.3.3.- Le vent :

Le vent a une action sur la prolifération et la distribution des phlébotomes, il entraîne ainsi leur confinement dans leurs gîtes de repos (Frontier, 2004). Les vents dominants soufflent du Nord Est et d'Ouest ; la vitesse moyenne est de l'ordre de 2,5 à 3 m/s.

2.2.4.- Données épidémiologiques sur la leishmaniose :

21 cas des leishmanioses ont été enregistrés au sein du service de parasitologie-Mycologie de l'hôpital de Hadjout durant les périodes 2011 à 2013 (annexe : 5) (Bendjbellah, 2013).

2.3.- Méthode d'échantillonnage des Phlébotomes :

Afin de disposer d'un échantillon représentatif, nous avons opté pour deux techniques de piégeage à savoir le piège CDC (John W. Hock Company, Gainesville, FL, USA) et piège adhésif.

2.3.1.- Les pièges adhésifs

Connue depuis les importants travaux des épidémiologistes russes Vlazov, (1932) et Petrisheva (1935) in (Dedet *et al* ; 1984). La technique des pièges adhésifs est la mieux adaptée à l'inventaire qualitatif et quantitatif des phlébotomes en région méditerranéenne et

tout particulièrement aux études chronologiques (Abonnenc, 1972). C'est une méthode non sélective (Croset *et al.*, 1977 ; Ba, 1999).

Les pièges sont constitués de feuilles de papier blanc (mat de format 15x20 cm) largement imbibées de l'huile de ricin qui présente les avantages de ne pas être répulsive, d'être très visqueuse et enfin d'être soluble dans l'alcool ce qui facilite la récupération ultérieure des insectes (Boukraa *et al.*, 2011).

Les feuilles de papier dont la transparence indique une bonne imprégnation huileuse, sont soit roulés en cornets et introduits dans les anfractuosités de murs en pierres, soit placés debout dans les barbacanes avant le crépuscule et relevés le lendemain matin (fig. 13). Le dépouillement des papiers huilés est effectué le plus rapidement possible pour éviter la dessiccation des phlébotomes.



Figure13 : Différents emplacements de piège adhésif (Originale)

Cette méthode présente l'inconvénient de ne fournir que des insectes morts et souvent en mauvais état (perte de pattes et des antennes), ce qui rend leurs identifications malaisées.

2.3.2.- Le piège lumineux

Cette méthode est adaptée à la capture des espèces photophiles. Plusieurs types sont utilisés: les pièges lumineux CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (Matile, 1993). Elle nous offre la possibilité de travailler sur du matériel vivant (spécimens vivants) pouvant faire l'objet d'éventuelles études ultérieures de type parasitologique ou moléculaire (enzymologie et analyse d'ADN) (Bitam, 2010).

Pour être efficace, un tel piège doit d'après Rioux *et al.*, (1971), être non seulement attractif (doté d'une source lumineuse de faible puissance) mais également contentif (emprisonnant définitivement les phlébotomes après leur pénétration dans la zone éclairée).

Les pièges CDC sont dotés d'un moteur assurant le fonctionnement, d'un petit ventilateur destiné à entretenir une aspiration continue de faible intensité. Au dessus du ventilateur se

trouve une petite ampoule de 6 volts. Le tout se trouve à l'intérieur d'un cylindre transparent en matière plastique couverte d'un grillage métallique et alimenté par une batterie de 6 volts. La partie inférieure est une cage recouverte d'un tissu à mailles très serrées. Que l'on peut ouvrir et fermer grâce à un cardon coulissant. Elle permet la récupération des phlébotomes attirés par la lumière (fig. 14) (Boulkenafet, 2006).

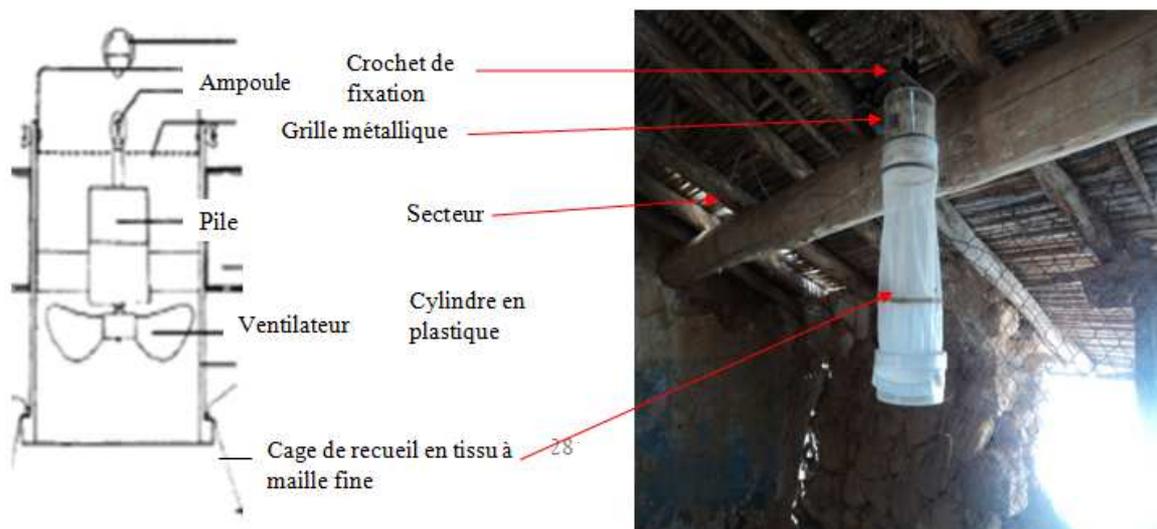


Figure 14 : Piège lumineux simple (originale).

Les pièges CDC sont installés avant le coucher du soleil et restent fonctionnels toute la nuit. Le lendemain matin, la cage est détachée et soigneusement fermée alors que le moteur fonctionne toujours, en prenant soin d'éviter la fuite des insectes piégés.

Nous avons pu capturer 450 phlébotomes à l'aide de 2 pièges lumineux CDC et 05 pièges huilés dans cinq stations à savoir, la ferme d'élevage de Hadjout, Fedjana, Sidi boufadhal, Bourkika et Bouyaghssane. Les résultats de capture sont cités dans le tableau VII.

Tableau V : Résultats des captures de phlébotomes dans la région de Hadjout

Station	Date de capture (2013)	Données Météorologique	Nb. Ind. (CDC)	Nb. Ind. (PH)
Hadjout	02 juillet	30/19° C. 15 kmh	00	00
Fedjana	19 juillet	32/21° C. 23 kmh	67	00
Bourkika	31 juillet	31/20° C. 10 kmh	225	00

Sidi boufadhal	19 juillet	/	22	12
Bouyaghssane	07 juillet	30/21° C., 13 kmh	04	00
	10 juillet	31/20° C., 10 kmh	03	11
	14 juillet	30/18° C., 18 kmh	32	00
	16 juillet	31/18° C., 21 kmh	10	00
	23 juillet	38/24° C., 08 kmh	40	14
	28 juillet	35/23° C., 14 kmh	10	00

Nb. Ind. : Nombre d'individus de phlébotomes ; CDC : Pièges lumineux ; PH : Pièges adhésif / Absence de relevés

2.4.- Traitement des phlébotomes

Un traitement préalable des spécimens est obligatoire, il dépend du milieu de montage choisi (fig. 15). Les réactifs utilisés sont :

- L'alcool éthylique à 70°.
- La solution aqueuse de potasse à 20%
- Le liquide de Marc-André:
- L'eau physiologique 30 ml
- L'hydrate de chloral 40 g
- L'acide acétique cristallisable 30 ml

Après la récupération des phlébotomes capturés dans les différents pièges utilisés, ceux-ci sont conservés dans l'alcool éthylique à 70°. Les informations concernant la date et le nom de la station sont indiquées sur les étiquettes collées aux tubes. Ces derniers sont mis à éclaircir pendant deux heures dans la solution de potasse à 20 %. Ensuite ils subissent trois rinçages à l'eau distillée pendant 45 minutes. Les bains sont changés toutes les 15 minutes.

Les phlébotomes sont transvasés et laissés agir dans une solution de Marc André pendant une heure.

Sous la loupe binoculaire, la tête est détachée du corps et placée en position dorso-ventrale afin de rendre l'observation des armatures cibariales et pharyngiennes plus aisée (annexe 2, et 3).

L'armature génitale du mâle est disposée de façon à mettre en évidence les valves péniennes qui présentent des critères utiles pour la détermination (Depaquit, 1995).

Chaque phlébotome est monté à part dans une goutte de la solution de Marc André, entre lame et lamelle. Chaque échantillon est identifié d'après les critères habituels, en se basant sur la clé de détermination des phlébotomes (d'après Abonnenc, 1972) (annexe 1).

*. Pour les phlébotomes mâles : La morphologie externe de l'appareil génital et, si nécessaire, l'anatomie de l'armature cibariale (*Sergentomyia*) ou pharyngienne (*Phlebotomus*) (annexes 2, et 4).

*. Pour les phlébotomes femelles : L'anatomie des spermathèques, de l'armature cibariale et pharyngienne.

Après identification, les phlébotomes non disséqués sont remis dans l'alcool à 70 % pour être conservés en vue d'éventuels examens ultérieurs (Abonnenc, 1972).

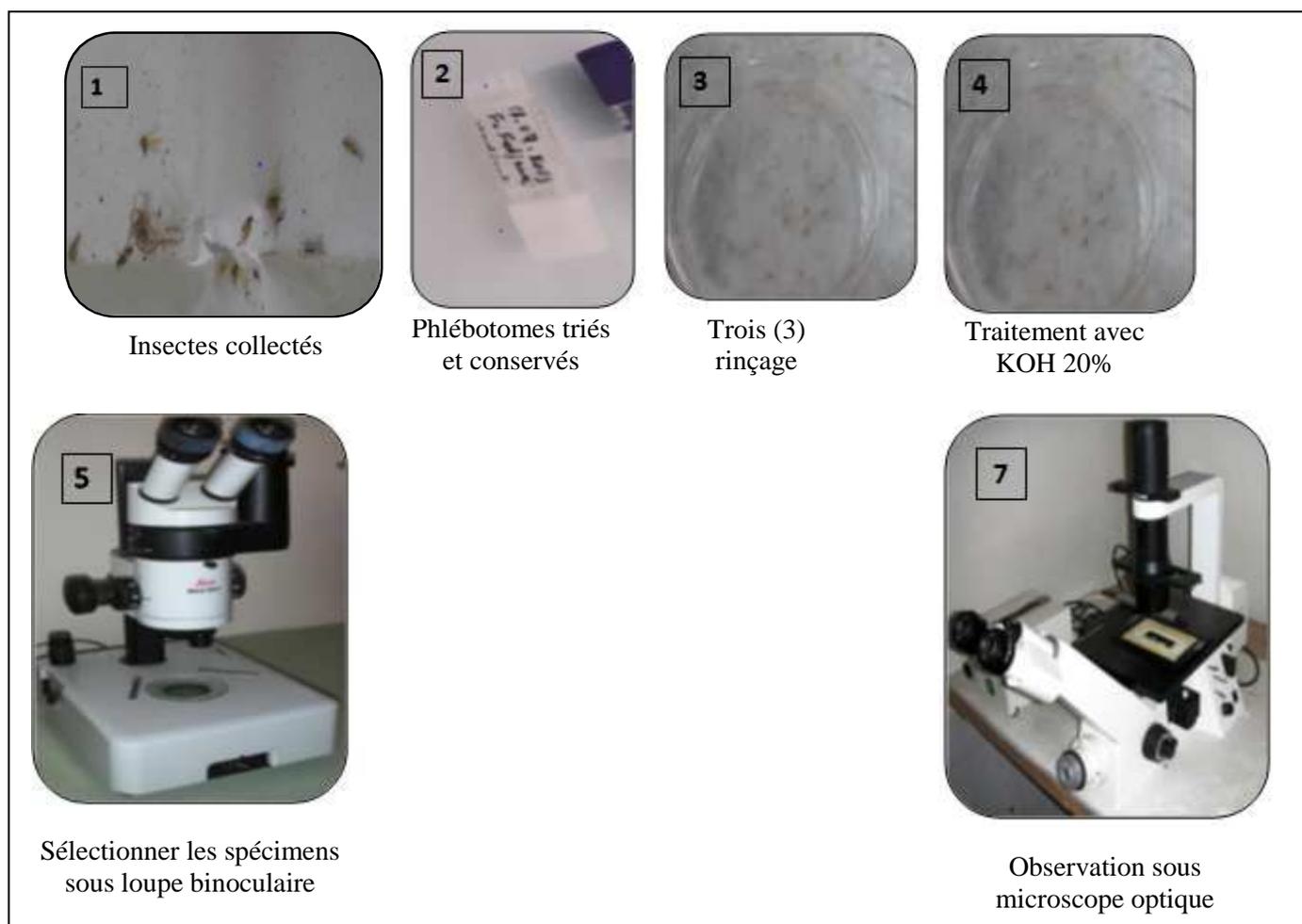


Figure 15: Technique de préparation des phlébotomes (originale).

2.5.- Détection de l'agent pathogène :

La détection des leishmanies peut s'effectuer chez l'hôte vertébré et chez le vecteur. De nombreuses méthodes sont disponibles, assurant un diagnostic de certitude dans le cas où la technique permet la mise en évidence de l'agent pathogène. L'identification selon les

critères parasitologique est empirique et souvent remise en cause face à la complexité des cycles évolutifs des parasites (Boussaa, 2008).

2.5.1.- Extraction de l'ADN génomique

* **Principe** : La technique consiste à dégrader les membranes cellulaires en émulsionnant leurs lipoprotéines à l'aide d'un détergent, ensuite faire précipiter l'ADN et enrouler les filaments (Etienne, 2000). Dans le présent travail, l'extraction d'ADN est réalisée à l'aide d'un Kit spécial QIAamp (kit QIAGEN®, Hilden, Germany) selon le protocole suivant (fig. 16) :

1. Rincer deux fois à l'eau distillée stérile le matériel biologique « les spécimens » à extraire son ADN à fin d'éliminer toute trace d'alcool.
2. Couper les échantillons en petit morceaux et les introduire dans des tubes Eppendorfs préalablement numérotés et codés.
3. Ajouter 180µl d'ATL (Broyage chimique), puis à l'aide des tiges, broyer les échantillons mécaniquement.
4. Ajouter 20µl de la protéinase K, puis agiter rapidement à l'aide du vortex.
5. Mettre les échantillons dans un bain à sec à 37°C. Pendant une nuit.
6. Faire une centrifugation rapide à 8000Tr/min pendant 4 seconde.
7. Ajouter 180µl d'AL, puis agiter 15 secondes au vortex.
8. Mettre les échantillons au bain sec à 70°C. Pendant 10 minutes, et centrifuger rapidement.
9. Ajouter 180µl d'éthanol, et agiter pendant 15 secondes.
10. Verser le mix dans les tubes collecteurs à filtre.
11. Centrifuger les tubes pendant 1 minute à 8.000 tours/min.
12. Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
13. Faire un premier lavage avec 500µl d'AW1
14. Centrifuger 1minute à 8.000 tours/min.
15. Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
16. Faire un deuxième lavage avec 500µl d'AW2.
17. Centrifuger 4 minutes à 10.000 tours/min.
18. Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
19. Centrifuger une nouvelle fois 1 minute à 10.000 tours/min.
20. Placer le filtre dans un nouveau tube Eppendorf
21. Ajouter 180µl de tampon AE

22. Incuber 1 à 5 minutes à température ambiante et centrifuger une dernière fois pendant 1 minute à 8.000 tours/min.
23. Récupérer l'éluat qui contient l'échantillon d'ADN
24. Conserver le résultat à + 4°C.



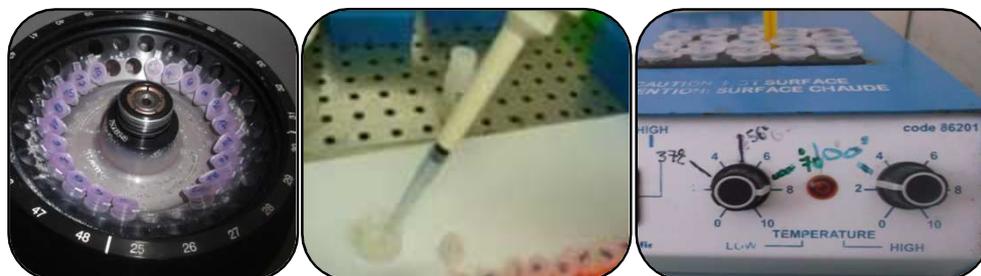
Rincer les échantillons à l'eau distillé stérile puis couper les aux petits morceaux et introduire dans des tubes Eppendorf étiquetés



Ajouter 180µl d'ATL (tampon de lyse) puis broyer mécaniquement à l'aide des tiges.



Ajouter 25µl de la protéinase K, agiter, et incuber à 37°C pendant 24h



Centrifuger, ajouter 180ul d'AI et incuber à 70°C. Pendant 10 minutes

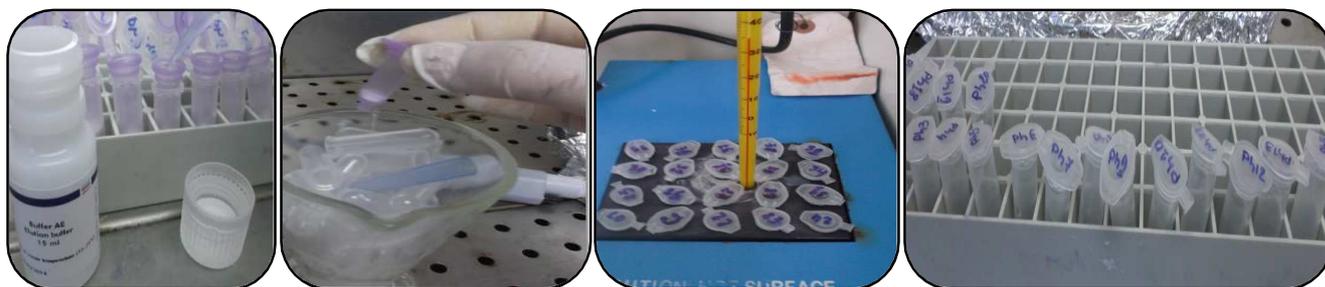
Figure 16 : Etapes d'extraction d'ADN (1^{ère} partie) (Originale).



Ajouter 180 μ l d'éthanol, transvaser le mix dans des tubes collecteurs à filtre



Effectuer deux lavages avec 500 μ l de AW1 et 500 μ l de AW2 et centrifuger après chaque lavage



Ajouter 180 μ l du tampon AE, récupérer l'éluât contenant l'échantillon d'ADN purifié, incuber à 37°C. et ensuite conserver les tubes à 4°C pour des utilisations ultérieures.

Figure 16 : Etapes d'extraction d'ADN (suite et fin) (Originale).

2.5.2.- Technique de Polymérase Chaîne Réaction (PCR)

Après extraction de l'ADN total présent dans un phlébotome femelle, l'ADN parasite est sélectivement amplifié par une réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (suivant le Protocole de l'institut Pasteur d'Algérie).

*. **Principe :** La PCR a été développée par Kary Bank Mullis (1993). C'est une technique qui permet d'amplifier in vitro une région spécifique d'ADN cible. Cet ADN amplifié est ensuite visualisé après migration électrophorétique. Ce test est extrêmement

performant permet ainsi d'obtenir des millions de copies d'une séquence donnée à partir d'une très faible quantité d'ADN présente dans les échantillons (Etienne, 2000).

2.5.2.1.- Préparation du mix pour PCR :

a.- Matériel (voir la figure 17)

- Tampon (2X Green Go Taq ®Flexi Buffer M891A) : sert à maintenir stable le pH du milieu réactionnel au niveau optimal pour la Taq polymérase.

- L'enzyme Taq polymérase (5U/µl, Go Taq ®Promega, M830B): Les ADN polymérase sont des enzymes qui synthétisent l'ADN de l'extrémité 3' → 5' et les polymérases utilisées en PCR sont extraites d'organismes vivants naturellement à des températures élevées exemple : sources hydro-thermiques des fonds des océans «*Thermus aquaticus* » (Taq polymérase).

De nos jours les enzymes utilisées sont des recombinants, leurs propriétés ont été largement modifiées pour les rendre plus efficaces.

- MgCl₂ : cofacteurs indispensables pour la réaction de polymérisation avec la Taq polymérase. La présence dans le milieu réactionnel des cations bivalents Mg²⁺ neutralisera les charges négatives des groupements phosphates (P) au niveau de l'ADN et ainsi stabiliser les hybrides ADN/ADN.

- Les Désoxyribonucléotides (dNTPs) : Ce sont des molécules de base, qui constituent l'ADN, utilisés par la Taq polymérase pour la synthèse du nouveau brin d'ADN complémentaire.

- Eau (H₂O) : ultra pure stérile

- Les deux Amorces : Ce sont des fragments courts d'ADN, capables de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases, sur l'un des deux brins d'ADN.

Les amorces sont choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier. La taille de ces amorces est généralement d'une vingtaine de désoxyribonucléotides. De plus, les amorces sont en très forte concentration par rapport à celle de l'ADN à amplifier. Elles sont fournies par la firme Eurogentic (San Diego, USA) et sont conservées à 20°C à une concentration stock de 10µM.

Primer1: CTG-GAT-CAT-TTT-CCG-ATG (Eurogentic)

Primer2: TGA-TAC-CAC-TTA-TCG-CAC-TT (Eurogentic)

- Acide Désoxyribonucléotides (ADN) : extrait à partir des phlébotomes identifiés cet extrait purifié en ADN, contenant le fragment d'ADN que l'on souhaite amplifier.

- Tubes à Eppendorf de 2ml
- Micropipettes : 0.5-10 μ l ; 20-40 μ l ; 40-200 μ l ; 200-1000 μ l
- Tips blancs, Bac a glace



Figure 17 : Matériel utilisé pour la PCR (originale).

b.- Méthode

Cette opération doit être faite dans une pièce isolée pour éviter toute contamination du mix (sous une hotte-biocaptair). Le mix peut être vendu préparé au préalable (Master mix) ou bien chaque constituant est à part, dans ce cas la PCR pour un échantillon doit contenir les volumes suivants (tab. VI) :

Tableau VI : Préparation du mix pour un volume total d'une réaction de 25µl.

Composants	Concentration de stock	Volume (µl) par échantillon	Nombre de réaction	Volume µl ajouté au mix
Tampon (Mgcl dNTPs Polymérase)	2X	12,5	39	487,5
Amorce sens	10µM	0,5	39	19,5
Amorce anti sens	10µM	0,5	39	19,5
H ₂ O	-	6,5	39	253,5
Volume Total	-	20	39	780

Chaque constituant du mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés, puis 20µl de ce mélange est distribué dans chaque tube Eppendorf PCR stérile alors pour :

*Témoin négatif : 5µl d'eau distillé stérile plus 20µl du mix

*Témoin positif : 5µl d'ADN positif avec 20µl du mix.

*Echantillons : 5µl d'ADN extrait de nos échantillons est ajouté à 20µl du mix.

2.5.2.2.- Programmation du thermocycleur :

Le but de cette technique (tab. VII) est de rendre décelable les faibles quantités d'ADN des phlébotomes. Pour cela trois étapes qui se font à savoir la dénaturation, l'hybridation et la polymérisation. Ces étapes sont expliquées comme suite (fig. 18).

- Dénaturation : La température dans le thermocycleur est réglée à 95°C. A ce degré l'ADN double-brin est dénaturé en ADN (les liaisons hydrogène reliant les bases de chaque brin d'ADN étant instables à cette température).

- Hybridation : Ensuite la température est descendue à la température dite d'hybridation. Cette dernière est généralement comprise entre 50°C. et 60°C. et elle est en fonction de la composition en désoxyribonucléotide des amorces, qui se fixent à leurs séquences complémentaires en reformant des liaisons hydrogène (On dit que les amorces s'hybrident au brin d'ADN).

- La polymérisation ou l'élongation : Puis la température est réglée à 72°C., (température idéale pour l'activité de la Taq polymérase). La Taq polymérase permet de synthétiser le brin

complémentaire à l'ADN matrice, grâce aux dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel. Le premier cycle est fini et voilà qu'un nouveau cycle recommence. Cela se reproduira 35 fois (selon notre protocole) (Friedberg, 2006).

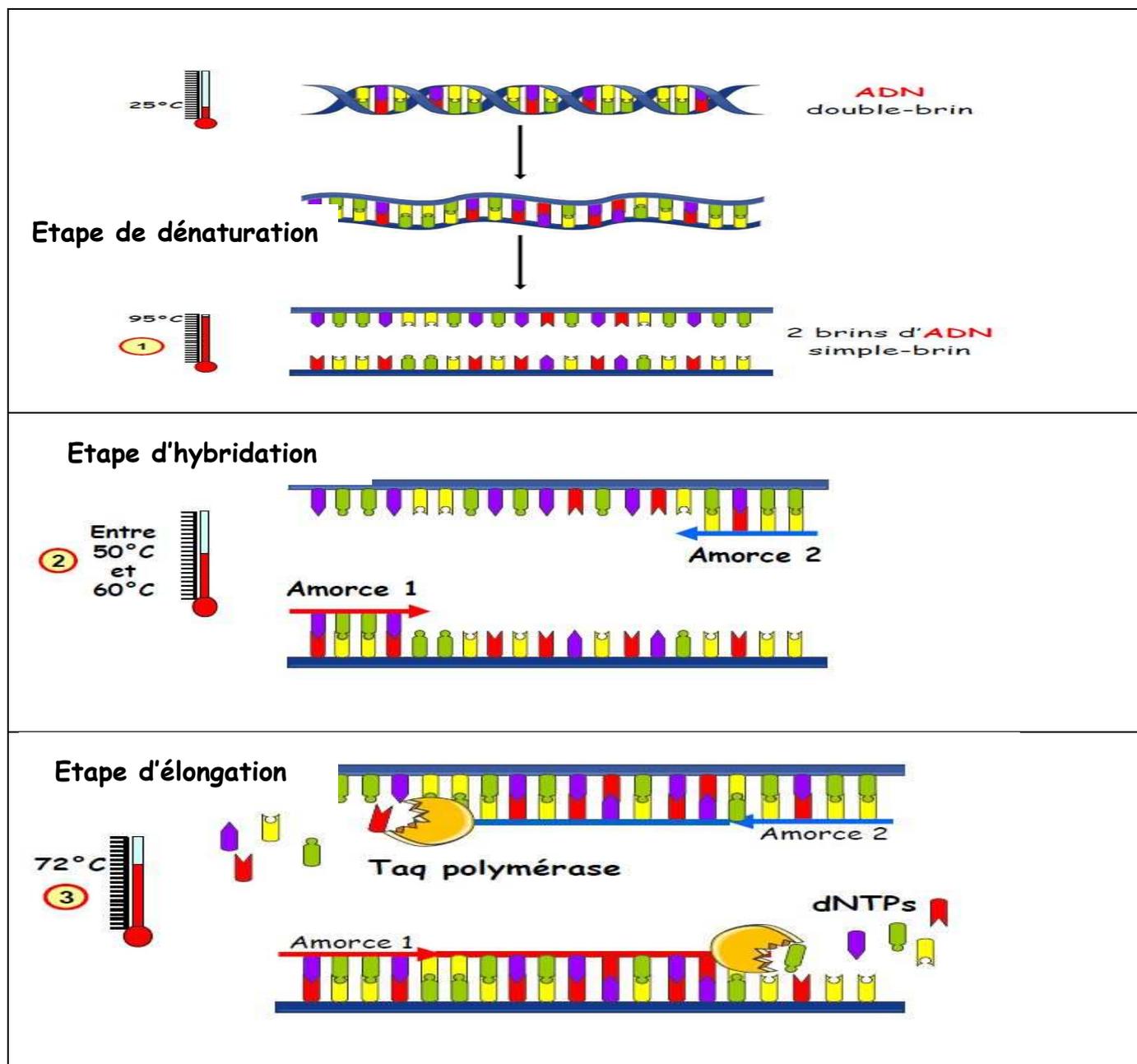


Figure 18 : Différentes étapes de la PCR (Friedberg, 2006).

Tableau VII : Programmes du thermocycleur.

Température en °C	Temps (secondes)	Répétition
Dénaturation initiale 95°C	300	1 X
Première dénaturation 95°C	30	35 X
Hybridation des amorces 50°C	30	
Elongation 72°C	30	
Extension finale	600	1 X
Stockage 4°C	Infini	1 X

X : nombre de fois

2.5.3.- Electrophorèse sur gel d'agarose :

L'électrophorèse est une méthode de séparation et de révélation des fragments d'ADN chargés négativement. Les fragments d'ADN amplifiés sont séparés en fonction de leur taille sur un gel d'agarose à 1,5%. L'analyse des produits de la PCR est faite comme suite (fig.19).

a.- Préparation du gel d'agarose à 1,5% :

- Peser 1,5g d'agarose et le mettre dans 100ml de TBE 1X (Tris Borate EDTA)
- Chauffer le mélange à la micro-onde jusqu'à l'obtention d'un liquide limpide.
- Refroidir sous l'eau courante puis ajouter 3,5µl de BET.
- Couler le gel dans la cuve après avoir positionner le peigne.
- Après polymérisation du gel, retirer soigneusement le peigne et placer le gel dans la cuve d'électrophorèse préalablement remplie du tampon TBE 0,5X.

b.- Dépôt des échantillons :

- Mélanger 5µl d'ADN avec 2µl de tampon de charge puis les déposer dans les puits de gel.
 - Réserver les trois derniers puits pour le témoin négatif, le témoin positif et le marqueur de poids moléculaire (PM) respectivement.
 - Brancher les électrodes de la cuve à l'alimentation de manière à ce que les dépôts soient de coté cathode. Appliquer une tension de 120 V correspondant à 1h de migration.
 - Couper l'alimentation quand le colorant de charge arrive à proximité du bord du gel
- Révélation des bandes d'ADN par transilluminateur : il s'agit d'une simple visualisation des bandes d'ADN sur une table UV du transilluminateur dans une chambre noir.

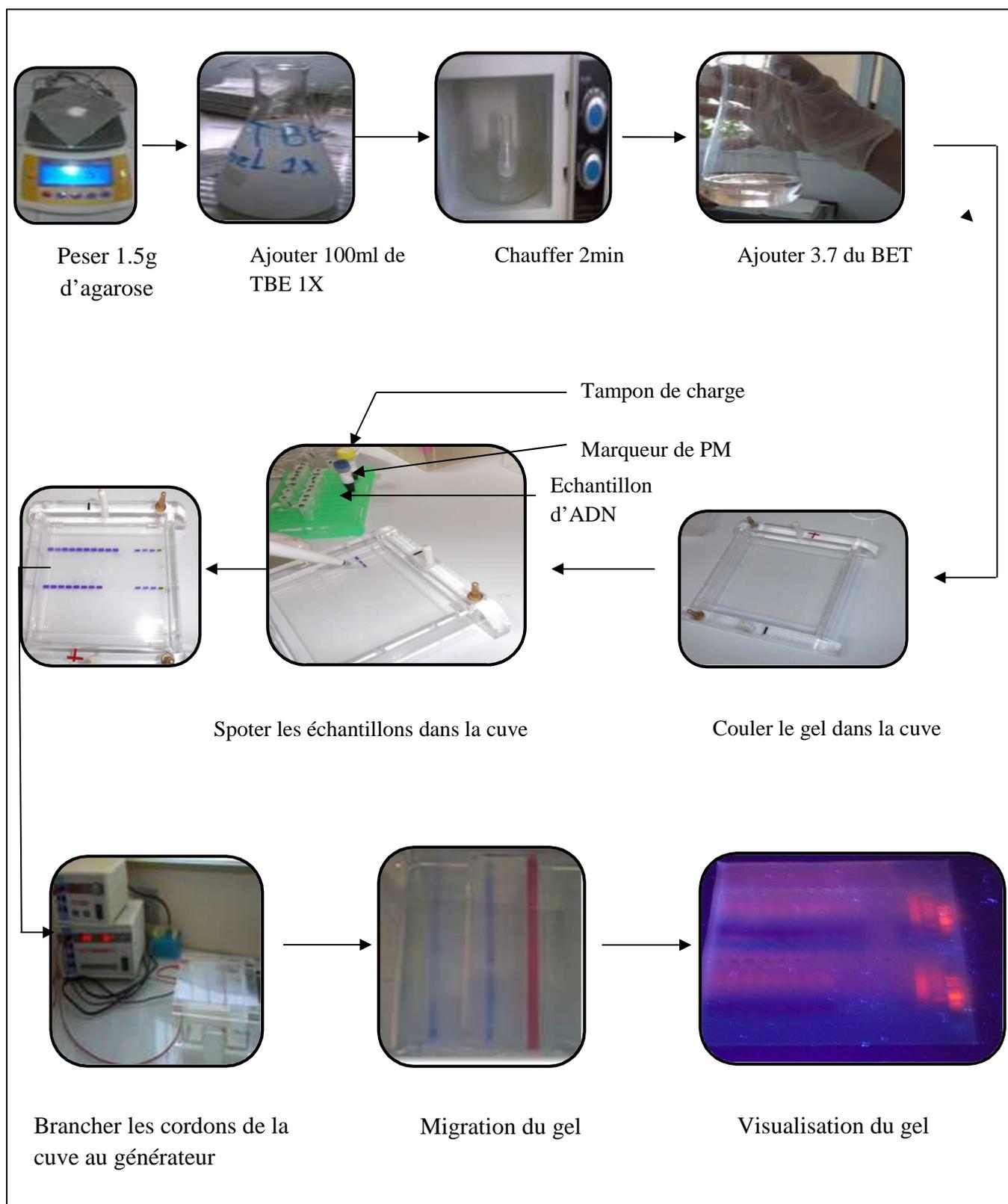


Figure 19: Protocol d'électrophorèse sur gel d'agarose (originale).

3.1.- Inventaire systématique des phlébotomes recensés dans la région de Hadjout

3.1.1.- Identification des espèces phlébotomiennes

La liste des espèces recensées dans la région d'étude comprenant quatre espèces appartenant à la famille des Psychodidae. Les espèces inventoriées sont rapportées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Liste des espèces recensées dans la région de Hadjout (Tipaza)

Genre	Sous genre	Espèce
<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i> Nitzulescu, 1931	<i>Phlebotomus longicuspis</i> (Nitzulescu, 1930)
	<i>Phlebotomus</i> Larrousius, 1966	<i>Phlebotomus perniciosus</i> (Newstead, 1911)
	<i>Phlebotomus</i> Rodani, 1843	<i>Phlebotomus papatasi</i> (Scopoli, 1786)
<i>Sergentomyia</i>	<i>Sergentomyia</i> Franca, 1920	<i>Sergentomyia minuta</i> (Adler et Théodor, 1927)

3.1.1.1.- Critères morphologiques d'identification

D'après la clé d'identification d'Abonnenc (1972), les espèces capturées présentent les critères qui sont présentés comme suite :

Phlebotomus perniciosus

Le ♂ de *P. perniciosus* porte cinq longues épines (deux terminales et trois médianes) sur le style. Un groupe de longues soies sur la face interne du coxite. La ♀ possède une structure très caractéristique des spermathèques avec un réservoir annelé et une petite tête arrondie portée par un long cou, et un pharynx armé de dents punctiformes (fig. 20).

Phlebotomus longicuspis

Le style de cette espèce présente cinq épines, la valve pénienne terminée par une pointe unique, longue, plus ou moins recourbée vers le bas. Chez la ♀, la spermathèques de neuf à dix segment, le pharynx postérieur est de morphologie voisine de celle de *P. perniciosus* (fig. 21).

Phlebotomus. Papatasi

C'est un phlébotome d'assez grande taille (jusqu'à 2,60 mm). Chez le ♂, le génitalia est bien développé. Le style, long porte cinq épines ; trois apicales et deux sub-terminales. Le

coxite, présente à sa base un petit lobe garni de quelques soies courtes et dans sa partie sub-terminale une douzaine de soies longues bien différenciées (fig. 22).

Sergentomyia minuta

Cette espèce se distingue d'emblée des autres phlébotomes par sa petite taille (1,6 à 2,1 mm) et sa couleur foncée, dont la diagnose spécifique pose peu de problèmes. Le style est court, et porte quatre épines terminales groupées et une soie non caduque insérée au niveau du tiers apical. Les valves péniennes sont épaisses, digitiformes et arrondies à l'apex (fig. 23).

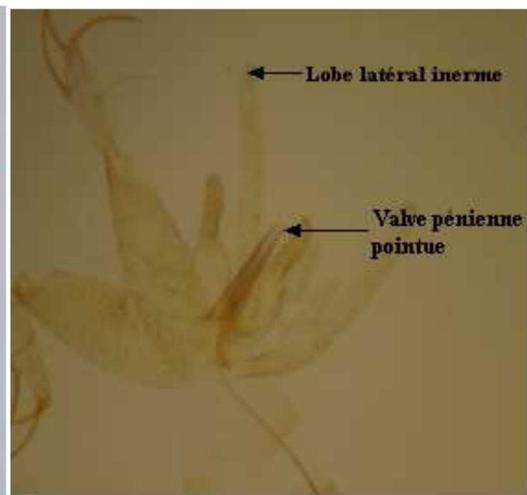
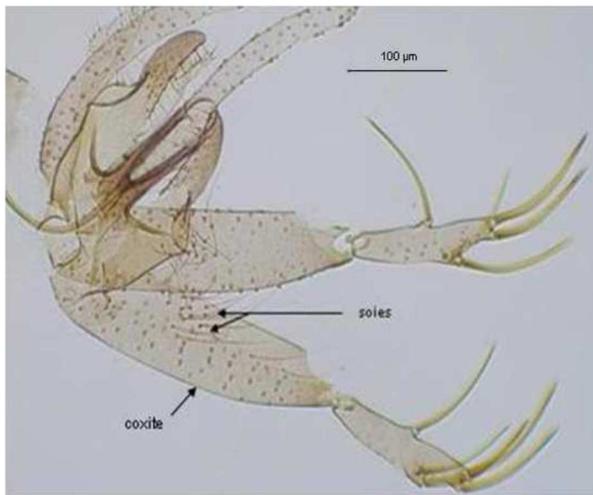


Fig. 20 : Génitalia d'un *P. perniciosus*♂
(G X 40 ; Boussaa, 2008)

Fig. 21 : Génitalia d'un *P. longicuspis*♂
(G X 40 ; Boussaa, 2008)

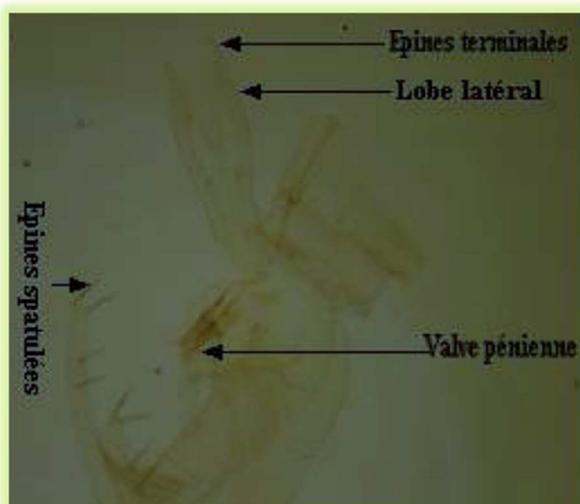


Fig. 22 : Génitalia♂ de *P. papatasi* (Gx40)

Fig. 23 : Génitalia ♂ de *S. minuta* (Gx40)

(Boussaa, 2008).

3.1.2.- Constance ou indice d'occurrence

La constance (C) exprimée en pourcentage, représente le rapport du nombre de relevés contenant l'espèce étudiée (P_i) au nombre total de relevés (P) (Dajoz, 1982).

Bigot et Bodot (1973), distinguent des groupes d'espèces en fonction de leur fréquence d'occurrence :

- Les espèces constantes sont présentes dans 50 % ou plus des relevés effectués.
- Les espèces accessoires sont présentes dans 25 à 49 % des prélèvements.
- Les espèces accidentelles sont celles dont la fréquence est inférieure à 25 % et supérieur à 10%
- Les espèces très accidentelles qualifiées de sporadiques, dont leur fréquence est inférieure à 10 %.

Dans le tableau IX sont présentées les fréquences d'occurrence des espèces recensées dans les cinq stations d'étude.

Tableau IX : Fréquence d'occurrence des espèces recensées dans les 5 stations

Espèce/station	Bourkika	Bouyaghssane	Sidi boufadhal	hadjout	Fedjana	C %	Echelle
<i>P. perniciosus</i>	+	+	+	-	+	80	C
<i>P. longicuspis</i>	+	+	+	-	+	80	C
<i>P. papatasi</i>	+	+	+	-	+	80	C
<i>S. minuta</i>	+	-	-	-	+	40	A
Total	4	3	3	0	4		

C (%) : Fréquence d'occurrence ; **A :** accessoire; **C :** constante ; - : Absence d'espèce ; + : Présence d'espèce.

D'après les résultats obtenus (tab. IX), on remarque que les trois espèces *P. perniciosus*, *P. longicuspis* et *P. papatasi* sont les plus constantes dans toutes les stations d'étude. De ce fait, présentent une ubiquité dans l'espace (stations explorées). Par contre, *S. minuta* est accessoire.

3.1.3.- Fréquence d'abondance

La fréquence centésimale (F_c) représente l'abondance relative d'une espèce donnée et correspond au pourcentage d'individus de cette espèce (n_i) par rapport au total des individus recensés (N) d'un peuplement (Dajoz, 1985).

Les valeurs des fréquences d'abondance des espèces de Phlébotomes capturés à Hadjout sont présentées dans le tableau X et la figure 26.

Tableau X : Fréquence d'abondance des espèces de *Psychodidae* capturées

Espèce	Effectifs	Pourcentage (%)
<i>Phlebotomus longicuspis</i> (Nitzulescu, 1930)	168	37,33
<i>Phlebotomus perniciosus</i> (Newstead, 1911)	180	40
<i>Phlebotomus papatasi</i> (Scopoli, 1786)	77	17,11
<i>Sergentomyia minuta</i> (Adler et Théodor, 1927)	25	5,55
Total	450	100

Il apparait que l'on capture proportionnellement plus d'espèces du genre *Phlebotomus* (94%) que du genre *Sergentomyia* (6%) en milieu domestique et prédomestiqué (tab. X).

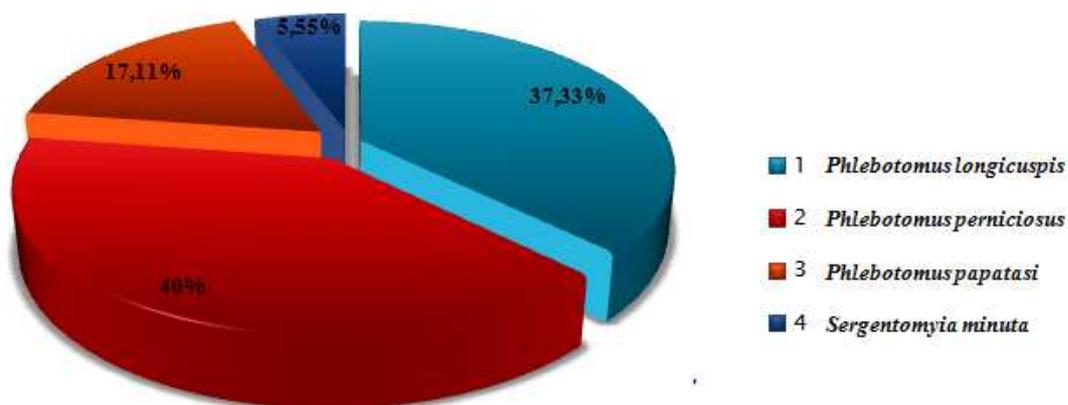


Figure 24 : Répartition des fréquences d'abondance (%) des phlébotomes recensés

Les phlébotomes ont fait l'objet de nombreux travaux menés à l'institut Pasteur d'Algérie, sous la direction de Parrot et des frères Sergent. Des découvertes capitales concernant leur systématique et leurs pouvoirs pathogène y ont été réalisées (Dedet et *al.*, 1984).

Au cours de notre étude, nous avons inventorié un total de quatre espèces réparties en deux genres "*Phlebotomus* et *Sergentomyia*". Le genre *Phlebotomus* avec deux sous genres (*Phlebotomus*, et *Larroussius*) et pour ce qui est de *Sergentomyia* avec seulement un sous genre (*Sergentomyia*). A signalé en Algérie 24 espèces ont été recensées dont 14 *Phlebotomus* et 10 *Sergentomyia* (Bitam, 2010).

Durant le suivi de cette étude, nous avons pu identifier *Phlebotomus longicuspis*, *Phlebotomus perniciosus*, et *Phlebotomus papatasi* dans les quatre stations alors que *Sergentomyia minuta* a été déterminé seulement dans deux stations (Fedjana, Bourkika).

Ceci serait dû d'une part à une répartition naturelle et d'autre part à la concentration de l'échantillonnage qui était plus importante à Bourkika avec 225 spécimens et à Fedjana avec 67 spécimens par rapport aux autres stations.

❖ ***Phlebotomus (Larrousius) perniciosus* (Newstead, 1911)**

Très répandue en Algérie où elle a été signalée pour la première fois par Sergent (1914), sa répartition géographique est essentiellement tellienne. Elle peut être retrouvée aussi bien en plein campagne, qu'au voisinage immédiat des habitations et dans les grandes villes comme celle d'Alger (Dedet *et al.*, 1984). *P. perniciosus* est particulièrement constant à l'étage bioclimatique humide et subhumide (en grande Kabylie et dans le Constantinois). Dans nos captures, cette espèce arrive en première place par le nombre de spécimens récoltés (180) au niveau de quatre stations.

P. perniciosus est une espèce accusée de transmettre la leishmaniose canine et la leishmaniose viscérale humaine dans le bassin méditerranéen (Raynal, 1954). Le rôle vecteur de cette espèce a été prouvé dans divers foyers comme la Jordanie (Janini *et al.*, 1995), l'Arabie Saoudite (Killik-kendrick *et al.*, 1985), la Tunisie (Ben-Ismaïl *et al.*, 1987), le Maroc (Rioux *et al.*, 1986) et l'Égypte (Mansour *et al.*, 1991). En Algérie, cette espèce suspectée par Sinton dans la transmission de la leishmaniose viscérale en 1925, puis démontrée par Parrot à Alger (Moulehem *et al.*, 1998), puis confirmée en Kabylie en 1991 par la découverte d'un spécimen parasité par *Leishmania infantum* Mon -1 (Izri *et al.*, 1990).

Deux régions endémiques de la leishmaniose viscérale dont elle est présente à Mila et à Annaba, sur les hauts plateaux à l'Est de l'Algérie. Il est aussi incriminé dans la transmission d'arbovirus. Dans le groupe des *Phlebovirus*, *Toscana virus* et l'*Arbia virus* qui sont isolés chez *P. perniciosus* (Verani *et al.*, 1991 et 1995). Dans le groupe des *Vesiculovirus*, *Radi virus*, sont également isolés chez *P. perniciosus* (Comer et Tesh, 1991).

❖ ***Phlebotomus (Larrousius) longicuspis* (Nitzulescu, 1930)**

Cette espèce est endémique d'Afrique du Nord. Signalée pour la première fois en Algérie par Parrot 1936 très répandue et sensiblement plus abondante dans les régions subhumides et aride. Elle peut être capturée aussi bien dans la nature qu'en ville. Toute fois, elle est beaucoup moins fréquente et moins dense de *P. perniciosus* (Dedet *et al.*, 1984). Effectivement dans nos résultats de capture, *P. longicuspis* occupe la seconde place (168). Cette espèce est également capturée dans les quatre stations d'étude.

Il faut rappeler que *P. longicuspis* est la troisième espèce trouvée infestée naturellement par *Leishmania* en Algérie par Parrot *et al.* (1954) in (Moulehem *et al.*, 1998). Cette dernière est considérée comme vecteur possible de la leishmaniose viscérale, associée à *P. perniciosus* (Dedet *et al.*, 1984).

❖ ***Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786)**

Se localise préférentiellement dans la zone steppique, *P. papatasi* est plus rare dans le semi-aride et exceptionnel dans le sub humide. Au sud Algérien dans le massif de Hogar, elle est remplacée par *P. bergeroti* qui est une espèce très proche (Ghosh *et al.*, 1999). Son biotope est très varié, mais elle se retrouve particulièrement à l'intérieur des maisons ou sur les murs extérieurs des habitations (Dedet *et al.*, 1984). A Hadjout, nous avons identifiés 77 spécimens répartis dans les quatre stations, néanmoins la densité de *Ph. papatasi* (17%) est faible par rapport à *P. perniciosus* (40%) et *P. longicuspis* (37%).

P. papatasi est un vecteur confirmé de leishmaniose cutanée à *L. major* (Killick-Kendrick *et al.*, 1991 et Theodoris, 1997). L'isolement et le typage du parasite chez ce vecteur a confirmé son rôle épidémiologique dans plusieurs pays: en Arabie Saoudite (Killick-Kendrick *et al.*, 1985), en Tunisie (Ben Ismail *et al.*, 1987), en Iran (Yaghoobi-Ershadi *et al.*, 1995), au Maroc (Delanoë, 1916). Il est à souligner qu'en Lybie et au Nord du Soudan L.C transmise par *P. papatasi* est due à *L. tropica* (Chauvet, 1984). A ce propos, il faut noter que dans le sous-bassin de Soummam (Bejaia), où prolifère habituellement *L. infantum*, est apparue récemment une flambée épidémique de leishmaniose cutanée à *L. major* transmise par *P. papatasi*. Cette avancée vers le nord de L.C. zoonotique est expliquée par la présence concomitante du vecteur et du réservoir principal *Psammomys obesus* suite aux mouvements des populations et aux bouleversements écologiques (Boudrissa *et al.*, 2012).

❖ ***Sergentomyia (Sergentomyia) minuta* (Adler et Théodor, 1927)**

Dans l'ensemble du territoire national cette espèce se distingue du Nord au Sud et d'Est en Ouest dans chaque étage bioclimatique. *Sergentomyia minuta* à la distribution périméditerranéenne on l'a retrouvée en Espagne, en France, en Italie, en Grèce, en Yougoslavie, en Turquie, en Jordanie, en Palestine, en Tunisie, et au Maroc (Depaquit, 1995). En Algérie, sa fréquence est également à souligner (Belazzoug 1983). Cette espèce s'étend sur les bordures méridionale de la région méditerranéenne à Chypre ; sa limite sud coïncide avec le Sahara (Lupasco *et al.*, 2003 cite par Croset *et al.*, 1977).

L'inventaire de la présente étude nous a permis d'observer 25 spécimens de l'espèce *S. minuta* seulement dans deux stations (Bourkika, Fedjana). De ce fait, ce nombre représente la proportion minimale sur l'ensemble des phlébotomes capturés (5%). Ce faible taux, peut avoir comme explication, la localisation des sites de piégeage choisis, qui sont en effet situés dans des fermes d'élevage domestiques loin des gîtes de reptiles recherchés par cette espèce. Étant donné son comportement trophique, *S. minuta* n'intéresse pas l'épidémiologie (Dancesco, 2008).

3.1.4.- Sex-ratio

C'est le rapport entre le nombre d'individus appartenant au sexe mâle (*M*) par rapport à celui du sexe femelle (*F*) que compte une population (Ramade, 1984).

Tableau XI : Répartition globale des espèces recensées selon le sexe.

Espèce	Mâle	%	Femelle	%	Sex-ratio
<i>Ph. longicuspis</i>	63	35,80	105	37,33	0,6
<i>Ph. perniciosus</i>	65	36,93	115	41,97	0,56
<i>Ph. papatasi</i>	35	18,89	42	15,33	0,83
<i>S. minuta</i>	13	7,39	12	4,38	1,08
Total	176	100	274	100	0,64

Nous remarquons une prédominance des femelles ($\text{♀} = 274$ ind.) par rapport aux mâles ($\text{♂} = 176$ ind.) au niveau des quatre stations (tab. XI). Ces résultats concordent avec ceux trouvés par Rioux et *al.*, (1967) in Messai (2006) qui affirment que le taux sexuel dans la région de Constantine est toujours en faveur des femelles. Par contre, pour le genre *Sergentomyia minuta*, nous avons un équilibre pour l'ensemble des captures (13 ♂ et 12 ♀). Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux mentionnés par Bailly et *al.*, (1971) et Bencherif (2010). En effet, la proportion entre le nombre des mâles et des femelles est différente selon les moyens de capture et le type d'abri exploré.

L'inventaire phlébotomiennes dans la région de Hadjout a révélé l'existence de quatre (04) espèces réparties sur 02 genres et 03 sous genres différentes. Parmi les Phlébotomes qui sont déjà repérées sur le territoire Algérien, les espèces appartenant au genre *Phlebotomus* prédominent tant par le nombre de spécimens capturés que par leur diversité (02 sous genres,

03 espèces). Le taux élevé de ce genre est conforme aux données bibliographiques sur les inventaires faunistiques effectuées à Constantine (Moulahem *et al.*, 1998), à Mila (Messai, 2006), à Oum- EL -Bouaghi (kabbout *et al* 2007), à Skikda (Bouleknafet, 2006), à Biskra et à Batna (Bencherif, 2010). Uniquement, une espèce du genre *Sergentomyia* a été capturées. En Algérie *Phlebotomus perniciosus* et *P. longicuspis* sont considérés comme vecteur de la leishmaniose viscérale cependant *P. papatasi* est le vecteur confirmé de leishmaniose cutanée à *L. major* (Killick-Kendrick *et al* ; 1990). L'échantillonnage dans son ensemble présente un sex-ratio en faveur des femelles. Il est à souligner que *P. perniciosus*, *P. longicuspis* et *P. papatasi* vivent donc en sympatrie sur la totalité des zones prospectées.

3.1.5.- Efficacité du piégeage

Les deux méthodes de capture adoptées nous ont permis la collecte d'un total de 450 phlébotomes dont 40 spécimens femelles ont été utilisés pour la recherche de *Leishmania* (fig. 25). Afin de mettre en évidence l'efficacité des deux types de pièges utilisés lors de notre étude, à savoir, les pièges adhésifs (PH) et les pièges lumineux (CDC) ; nous avons calculé les pourcentages des captures réalisées par les deux méthodes de piégeages (tab. XII).

Tableau XII : Pourcentages des phlébotomes capturés dans les cinq sites d'étude selon le type de piégeage

Stations Paramètres	Hadjout	Fedjana	Bourkika	Sidi boufadhhal	Bouyaghssane	Total
Nb. phlébotomes piégés par CDC	00	67	225	22	99	413
Pourcentage (%)	00	16.22	54.48	5,33	23.97	100
Nb. phlébotomes piégés par PH	00	00	00	12	25	37
Pourcentage (%)	00	00	00	32.43	67.57	100
Totaux	00	67	225	34	114	450
(%) par station	00	16.62	54.48	37.89	91.54	100

Nb. : Nombre

Stations Paramètres	Nb. phlébotomes piégés par CDC	Pourcentage (%)	Nb. phlébotomes piégés par PH	Pourcentage (%)	Totaux	(%) par station
Hadjout	00	00	00	00	00	00
Fedjana	67	16.22	00	00	67	16.62
Bourkika	225	54.48	00	00	225	54.48
Sidi boufadhhal	22	5,33	12	32.43	34	37.89
Bouyaghssane	99	23.97	25	67.57	114	91.54
Total	413	100	37	100	450	100

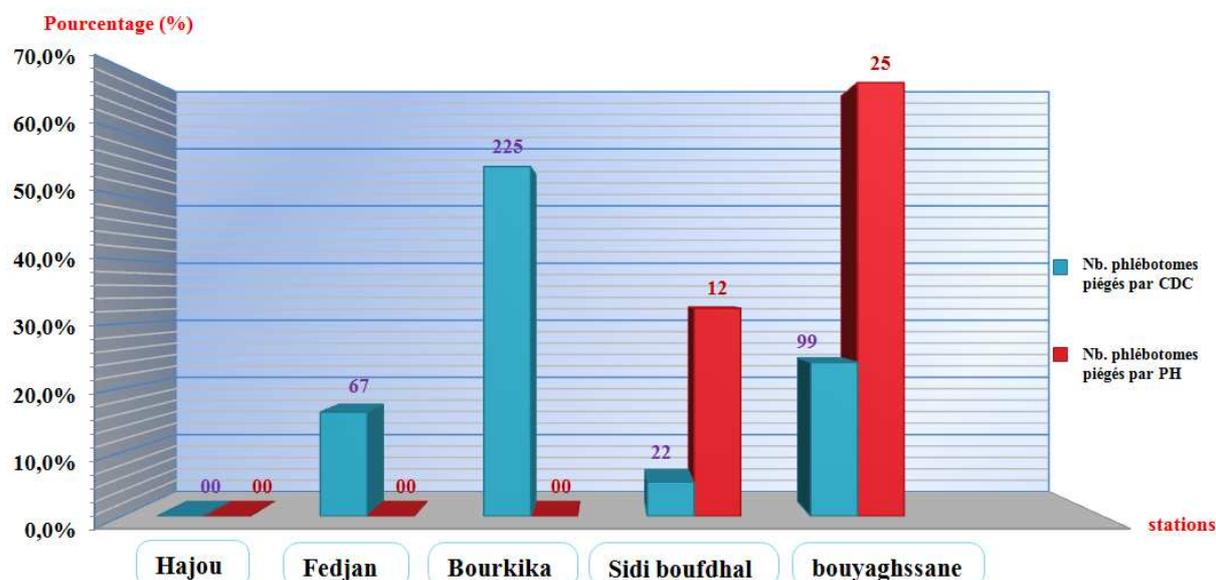


Figure 25 : Répartition des phlébotomes selon le type de piégeage dans les différentes stations.

Les pièges lumineux nous ont permis la capture de 413 phlébotomes soit un taux de 91,77 % de l'ensemble des insectes capturés. Cependant, 37 individus (8,22 %) sont trouvés dans les pièges adhésifs. Cette plus grande efficacité de capture des phlébotomes par les pièges lumineux (CDC) est également constatée dans les cinq stations. Il est utile de signaler que le piège lumineux placé soit à l'intérieur d'un local humain (Hadjout) soit dans une étable ou une bergerie alors que les pièges adhésifs sont placés dans les anfractuosités des murs et des ruines. D'après Ba (1999), la diversité des phlébotomes est surtout liée aux méthodes d'échantillonnage. Cette dernière est en relation avec l'habitat humain et son environnement. La majorité des spécimens de phlébotomes collectés sont capturés sur CDC pour les quatre stations. Ceci revient au fait que les pièges CDC sont toujours disposés dans des endroits sécurisés d'une part et d'autre part au fait que les phlébotomes sont des insectes photophiles.

Les pièges adhésifs se révèlent également assez efficaces dans la capture des phlébotomes moyennant quelques précautions : disposer les pièges dans des endroits bien abrités, loin des populations et leur collecte dans un intervalle de temps assez court (éviter l'action du vent et des pluies).

3.2.- Résultats des analyses moléculaires

L'identification précise des vecteurs de leishmanioses est primordiale pour l'épidémiologie de la maladie. Les espèces vectrices varient d'un foyer à l'autre et leur identification morphologique est souvent difficile. En outre, le rôle joué dans la transmission par chacune d'entre elles n'apparaît pas uniforme dans son aire de répartition. Ceci semble indiquer qu'il existe dans les populations de phlébotomes des variations génétiques conditionnant leur pouvoir vectoriel. La recherche de caractères moléculaires est toujours associée à l'étude morphologique, s'avère utile pour préciser les différences inter et intra spécifiques et tenter de mettre en évidence d'éventuels marqueurs des populations vectrices.

Il faut rappeler qu'en Algérie, peu de travaux ont été réalisés sur les aspects moléculaires chez les phlébotomes notamment celui de Bounamous *et al.*, (2008). Ces derniers se sont intéressés au typage moléculaire des males et des femelles de *P. Chabaudi* et *P. Riouxi* pour une identification fiable qui semble nécessaire ajoutent les mêmes auteurs.

La recherche des protozoaires, notamment des leishmanies, agent pathogènes à l'origine de leishmanioses est effectuée sur un total de 40 ♀ du genre *Phlebotomus*. Ce dernier est potentiellement celui qui constitue le vecteur principal de leishmaniose. Cette recherche effectuée par PCR s'est avéré négative pour l'ensemble de spécimens (fig. 26).

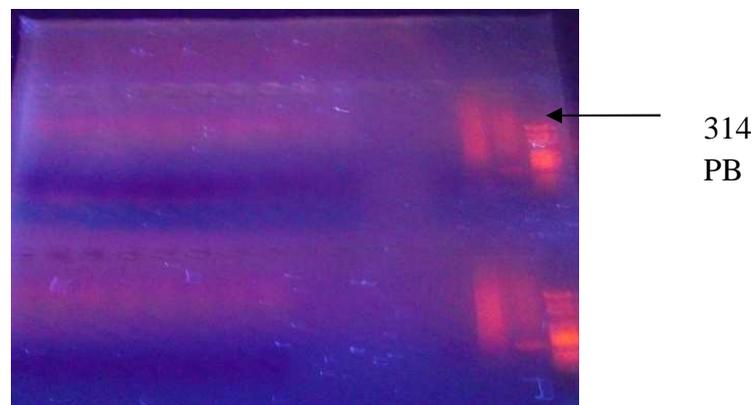


Figure 26 : Amplification de l'ADN de Leishmanias sp., analysés par électrophorèse (Photo. sous UV).

On a utilisé des sondes spécifiques pour la détection de leishmaniose cutanée zoonotique (*L. major*) qui ne correspondent pas à des cas de Hadjout et du coup à ceux des vecteurs. Ceci nous amène à dire que probablement, ils s'agissaient des cas qui sont dus à un autre type de L.C à *L. killiki* qui a été prouvé très récemment par Izri et ces collaborateurs en 2013 (non publié) sur des prélèvements des lésions de grattage et directement mis en culture sur NNN (Novy-McNeal-Nicolle), puis après extraction des ADN une PCR et séquençage des PCR en utilisant des sondes *Leishmanies sp* général ITS a prouvé qu'il s'agit bien de *L. killiki* (première découverte des cas dans les zones littorales).

Conclusion générale

Leishmaniose est un problème major tant en sante humaine qu'animale dans tout le Bassin méditerranéen. Cette anthroponose est due à des protozoaires du genre *Leishmania* transmise par des Diptères Nématocères.

Suite à la survenue des nouveaux cas de leishmaniose cutanée signalée en Mai 2013 à Hadjout (Tipaza), nous avons tenté de réaliser une enquête sur les espèces phlébotomiennes vectrice de cette maladie qui coexiste dans cette région. Afin de détecter par PCR l'espèce de leishmania incriminée.

En effet les résultats d'un échantillonnage effectués sur cinq stations portant sur 450 spécimens de phlébotomes capturer, a permis de recenser quatre (4) espèces de phlébotomes dont 3 appartenant au genre *Phlebotomus* et 1 au genre *Sergentomyia*. Ce dernier est uniquement représenté par *Sergentomyia minuta* (5,55%). Le genre *Phlebotomus* est essentiellement représenté par *Phlebotomus perniciosus* (40%), *P. longicuspis* (37,33%) et *P. papatasi* (17,11%).

Les densités de phlébotomes capturés sont plus importantes sur les pièges CDC (89,55 %), que sur les pièges huilés (8,22%). Ces piégeages nous ont permis de recenser 3 espèces vectrices avec la probabilité de transmettre les trois (3) formes de leishmanies.

Une forte abondance de *P. perniciosus*, et de *P. longicuspis* vecteurs de la leishmaniose viscérale en Algérie (Berchi *et al.*, 2007).

Nous signalons aussi un haut risque de la leishmaniose cutanée dans la région de Tipaza à cause de la coexistence des conditions d'un foyer potentiel de *Leishmania major* par la présence de *P. papatasi*, vecteur dont le rôle épidémiologique est bien confirmé en Algérie (Dedet *et al.*, 1984), ainsi l'apparition des cas de leishmanie humaine cutanée. Cependant la recherche de parasite de leishmanies portant sur un ensemble de 40 femelles de genre *Phlebotomus* a été négative.

Les récoltes ponctuelles réalisées dans la région de Hadjout durant le mois de juillet sont insuffisantes pour dresser un recensement précis des phlébotomes de cette région. Néanmoins, elles représentent les premières données pouvant servir à la connaissance des espèces et de leurs répartitions. Nous avons, à travers cette étude, tirer un certain nombre de prospectives :

La faune phlébotomiennes n'est pas suffisamment connue en Algérie tant sur le plan de la biodiversité que sur le plan de la biologie spécifique. Il serait intéressant dans l'avenir d'identifier les autres espèces vectrices de *L. killicki* dans la zone littorale, de prospecter cette espèce dans d'autres régions d'Algérie et d'étudier le rôle épidémiologique de cette dernière suivant son abondance, son indice d'anthropophilie et sa réceptivité. Il faut noter que la détection de *L. killicki* à Tipaza est une deuxième détection de cette espèce en Algérie après celle identifiée en 2005 à Ghardaïa (Harrat *et al.*, 2009). Il serait particulièrement intéressant de rechercher et d'identifier des leishmanies par des techniques plus développées tel que PCR *Leishmanies. sp* général qui permet une meilleure compréhension du cycle épidémiologique des leishmanioses.

Références bibliographiques

- Abonnenc E.** (1972) - Les Phlébotomes de la région éthiopienne. *O.R.S.T.O.M*, 289 p.
- Acebey-Castellon I. L.** (2007) - *Caractérisation de terpènes anti-leishmaniens isolés par bioguidage d'une plante bolivienne Hedyosmum angustifolium (Ruiz et Pavon) Solms.* Thèse Doctorat, Chimie-Biologie-Santé, univ. Toulouse, 255 p.
- Achour Barchiche N. et Madiou M.** (2008) - Outbreak of cutaneous leishmaniasis: About 213 cases in the wilaya of Tizi-Ouzou; *Pathologie Biologie xxx-xxx:1-6pp*
- Ashford R.W.** (2000) - The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 30,1269-1281.
- Ba Y.** (1999) - *Phlébotomes du Sénégal : Dynamique des populations de trois régions biogéographiques - Rôle dans la transmission des Arbovirus.* Thèse Doctorat 3^{ème} cycle de Biologie Animale, Univ. Cheikh Anta Diop, Dakar, 154 p.
- Baldet T., Mathieu B. et Delecolle J.C.** (2003)- Réémergence de la fièvre catarrhale ovine et surveillance entomologique en France. *Insectes*, (131) : 28- 30.
- Basset D., Pratlong F., Ravel C., Puechberty J., Dereure J. et Dedet J.P.** (2001) - Les leishmanioses déclarées en France en 1999. *BEH*, 5 :19 – 21.
- Bates P.A.** (2007) -Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*, 37: 1097–1106.
- Bates P.A. et Ashford R.W.** (2006) - Old World leishmaniasis. In: Cox, F.E.G., Wakelin, D., Gillespie, S.H., Despommier, D.D. (Eds.), Topley & Wilson's. *Microbiology & Microbial Infections, tenth. ed.* Parasitology, Hodder Arnold, London, pp. 283-312.
- Belazzoug S.** (1983) - Le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de M'sila (Algérie). Infestation naturelle de «*Psammomys obesus*» (rongeur, gerbillidé). *Bull.Soc.Pathol. Exot.*, 76:146-149.
- Belazzoug S.** (1986) - Découverte d'un *Meriones shawi* (rongeur, Gerbillide) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar Chellala (Algérie). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **79**: 630-633.
- Belazzoug S.** (1991) - The sandflies of Algeria. *Parasitologia* 33 (Suppl. 1): 85- 87.
- Belazzoug S., Bendali-Braham S., Lakhal Z. & Abdennebi H.** (1986) - Hémagglutination indirecte dans le sérodiagnostic de la leishmaniose viscérale, comparaison avec l'immunofluorescence indirecte. *Arch. Inst. Past. d'Algérie*, **55** : 107-112.
- Bencherif F.** (2010) -Contribution à l'étude des insectes d'intérêt médical dans les régions

- de Batna et de Biskra : Cas particulier des phlébotomes (Diptera : Psychodidae).
Magister en Biologie Cellulaire et Physiologie Animale. Univer de Batna ,140 p.
- Ben-Ismail R., Helal H., Bach-Hamba D., Ben-Rachid M-S.** (1987) – Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* dans un foyer de leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie. *Bull. Soc. Pathol. Exot*, 80, 63-614.
- Berchi S.** (1990) - *Ecologie des phlébotomes (Diptera, Psychodidae) de l'Est algérien.* Mémoire Magister en Entomologie Appliquée, Univ. Constantine, 154 p.
- Berchi S., Bounamous A., Louadi K. et Pesson B.** (2007) - Différenciation morphologique de deux espèces sympatriques : *Phlebotomus perniciosus* Newstead (1911) et *Phlebotomus longicuspis* Nitzulescu (1930) (Diptera : Psychodidae). *Ann. Soc. Entomol.* 43 (2): 201-203.
- Bigot L. et Bodot P.** (1973) - Contribution à l'étude biocénétique de la garrigue à *Quercus coccifera* – Composition biotique du peuplement des invertébrés. *Vie et Milieu*, 23, Fasc. 2 (Sér.C): 229-249.
- Bitam I.** (2010)-Ecologie des espèces phlebotomiennes en Algérie. *Journée Nationale de biologie Clinique organisée par la société Algérienne de biologie clinique au centre culturelle Moufdi Zakaria*, p. 21.
- Boubidi SC., Benallal K., Boudrissa A., Bouiba L., Bouchareb B., Garni R., Bouratbine A., Ravel C., Dvorak J., Volf P. et Harrat Z.** (2011) - *Phlebotomus sergenti* (Parrot, 1917) identified as *Leishmania killicki* host in Ghardaïa. *Microb. Infection* : 13 (7): 691-6.
- Boudjelal A.** (2007)-*Détermination des besoins en eau des cultures à l'aide de logiciel cropwat 4.3 dans la wilaya de Tipaza.* mémoire de fin d'étude, école national sup. agro.El harrach.
- Boudrissa A., Cherif A., Kherrachi I., Benbetka S., Bouiba L., Boubidi S.C, Benikhelf R., Arrar L, Hamrioui B. et Harrat Z.** (2012) - Extension de *Leishmania major* au nord de l'Algérie. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 105 : 30-35.
- Boudrissa A., Harrat Z., Cherif K., Benthamiene A. et Belkaid M.** (2006) - Leishmaniose cutanée zoonotique et facteurs de risque (Cas du foyer Chott El Hodna), *Séminaire de formation sur la leishmaniose. Univ Mohamed Boudiaf M'sila.*
- Boukraa S., Boubidi S.C, Zimmer J.Y., Francis F., Haubruge E., Alibenali-Lounaci Z., Doumandji S.** (2011). Surveillance de la population de phlébotomes (Diptera :

- Psychodidae), vecteurs des agents responsables des leishmanioses dans la région du M'Zab-Ghardaïa (Algérie). *Entomologie Faunistique*. 63(3) : 97-101.
- Boulkenafet F.** (2006) - *Contribution à l'étude de la biodiversité des phlébotomes et appréciation de la faune culicidienne dans la région Skikda*. Thèse de Magister en entomologie. Université Mentouri, Constantine 175 p.
- Bounameus A., Boudabous R., Jouet D., Augot D., Ferté H., Babba H., Berchi S. et Depaquit J.** (2008) - Caractérisation moléculaire et morphologique de deux espèces affinées de *Paraphlebotomus* : *Phlebotomus chabaudi* Croset, Abonnenc et Rioux, 1970 et *P. riouxi* Depaquit, Killick-Kendrick et Léger, 1998 (Diptera : Psychodidae). *Parasite*, 15 : 565-571.
- Bourdoiseau G.** (2007) – Actualités, la leishmaniose canine à *Leishmania infantum* : points de confirmation et d'interrogation. *Nouv. Prat. vét. Canine féline* : 49-54.
- Bourdoiseau G., Franc M.** (2002) - *Leishmaniose canine*. Ed. Elsevier, Encycl. Vétér.-Parasit., Paris, 385.
- Bourdoiseau G., Hugnet C., Papierok G.M, Lemesre J.L.** (2004) - La leishmaniose canine à *Leishmania infantum* : essais d'immunothérapie. *Bull. Acad. vét. Fr.*, 157 (1) : 63-67.
- Boussaa S.** (2008) - *Epidémiologie des leishmanioses dans la région de Marrakech, Maroc : effet de l'urbanisation sur la répartition spatio-temporelle des Phlébotomes et caractérisation moléculaire de leurs populations*. Thèse Doctorat, Univ. Louis Pasteur Strasbourg I, 181p.
- Brumpt E.** (1949) - *Précis de Parasitologie*. Ed. Masson, Paris, 2183 p
- Chauvet G.** (1984) - Investigations entomologiques dans les foyers de Leishmaniose cutanée de la wilaya de M'sila, *Rapport d'une mission en Algérie*. 36p.
- Courtenay O., Quinnell R.J. et Dye C.** (2001) - The role of foxes (*Carnivora: canidae*) in the maintenance and transmission of *leishmania infantum*: implications for peridomestic control. *Summaries of presentations at the International Canine leishmaniasis Forum, 20-24 mai, Grèce*.
- Croft S.L. et Yardley V.** (2002) - Chemotherapy of Leishmaniasis. *Current Pharmaceutical Design.*; 8 (4) : 319-341.
- Croset H., Rioux J.A., Léger N., Houin R., Cadi-Soussi M., Benmansour N., Maistre M.** (1977) - Les méthodes d'échantillonnages des populations de phlébotomes en région méditerranéenne. *Coll. Inter. CNRS, 239 "Ecologie des leishmanioses "*: 139-151.

- Dajoz R.** (1975) - *Précis d'écologie*. Ed. Bordas, Paris, 549 p.
- Dajoz R.** (1982) - *Précis d'écologie*. Ed. Bordas Paris, 483 p.
- Dajoz R.** (1985) - *Précis d'écologie*. Ed. Dunod, Paris, 505 p.
- Dancesco P.** (2008) - Les espèces de phlébotomes (*Diptera: Psychodidae*) de Roumanie, certains aspects de leur écologie et nouvelles stations de capture. *Travaux du muséum national d'histoire naturelle*. 185–199pp.
- Dantas-Torres. A.** (2006)-leishmaniose canine , *communiqué de presse*, IRD, Marseille.
- Depaquit J.** (1995)-Les phlébotomes (*Diptera, Psychodidae*) de L'Ile de Rhodes (Grèce). Thèse doctorat, Univ. Reims, France, 93 p.
- Dedet J.P.** (1979) - Les leishmanioses en Afrique du Nord. *Bull. Inst. Past.*, 77 (1) : 49-82.
- Dedet J.P.** (1999) - *Les Leishmanioses*. Ed. Ellipses, Paris, 5 :19-30
- Dedet J.P.** (2001) - Leishmanies, leishmanioses. Biologie, clinique et thérapeutique. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*, **8** : 506-510.
- Dedet J.P., Addadi K. et Tabet-Derraz O.** (1973) - Epidémiologie des leishmanioses en Algérie ; capture des phlébotomes (*Dipteria-Psychodide*) à Biskra Présence de *Sergentomyia christophersi* (Sinton 1927) en Algérie ; *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, **51** : 183-194.
- Dedet J.P., Addadi K. et Belazzoug S.** (1984) - Les Phlébotomes (*Diptera: Psychodidae*) d'Algérie. *Cah. ORSTOM. Sér. Ent. Méd. Parasitol*, vol. XXII (2) : 99-127.
- Dedet J.P. et Pratlong F.** (2000) - Taxonomie des *Leishmania* et distribution géographique des leishmanioses. *Ann. Dermatol. Venerol.*, 127 : 421-424.
- Dedet J.P. et Pratlong F.** (2001) - *Leishmanioses*. In: *Epidémiologie des maladies parasitaires*. (Ripert C. Ed). Editions Médicales Internationales, **3** : 221-241.
- Delanoë P.** (1916)- Existence de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) à Mazagan. *Bull. Soc. Path. Exot.* 9 :762.
- De La Rocque et Rioux J.A.** (2008)-Influence des changements climatiques sur l'épidémiologie des maladies transmissibles, *Bull. Soc. Patho. Exot.*, 101: 213 – 219 .
- Del Giudice P., Marty P. et Lacour J.PH.** (2001) - Leishmaniose cutanée autochtone en France métropolitaine. *Ann. Dermatol. Venerol.*, 128 : 1057-1062.
- Desjeux P.** (2002) -Urbanisation of the leishmaniasis. *Moving towards a solution Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum Sevilla, Spain* : 49-55.

- Desmettre A.**, (1993) - Biotechnologie et santé animale. *Rev. science Technology Office international*.12 (2) : 355-368.
- Dereure J., Rioux J.P., Gallego M., Perieres J., Pralong F., Mahjour J. et Saddiki A.** (1999)- *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85:595.
- Dolmatova A.V. et Demina N.A.** (1971) - Les Phlébotomes et les maladies qu'ils transmettent. *O.R.S.T.O.M.*, 168 p.
- Dondji B.** (2001) - Leishmanioses et phlébotomes du Cameroun : le point sur les données actuelles. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **94** : 277-279
- Dujardin J.P., Le pont F., Cruz M., Leon R., Tarrieu F., Guderian R., Echevarria R. et Tibayrenc M.** (1996) - Cryptic speciation in *Lutzomyia (Nyssomyia) trapidoi* (Fairchild et Hertig) (Diptera: Psychodidae) detected by multilocus enzyme electrophoresis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 54: 42-45.
- Dumon H. et Piarroux R. (1995).** Identification des leishmanies : outils actuels au service de la clinique et de l'épidémiologie. *Méd Trop.* **55**: 123-126
- Duvallet G.** (2006)-Parasites, vectors and global change. *Hydroécol. Appl.* (**15**) 87-96 pp.
- Etienne J.** (2000). Biochimie, génétique et biologie moléculaire. 6ème édition MASSON, Paris, 505P.
- Friedberg EC.** (2006)-The eureka enzyme: the discovery of DNA polymerase. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 7 (2): 143-147.
- Frontier S., Pichod-viale D., Lepretre A., Davoult D. et Luczak C.H.** (2004) - *Ecosystème, structure, fonctionnement, évolution*. Ed. Dunod, Paris, 549 p.
- Ghosh K.N., Mukhopadhyay J.M., Guzman H., Tesh R.B. et Munstermann L.E.** (1999) - Interspecific hybridization and genetic variability of *Phlebotomus* sand flies. *Med. V et Entomol.*, 13: 78-88.
- Guerin P., Olliaro P., Sundar S., Boeleart M., Croft S.L., Desjeux P., Wasunna M. et Bryceson A.** (2002) - Visceral leishmaniasis: Current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *The Lancet Infectious Diseases*, **2**(8): 494-501.
- Janini R., Saliba E., Khoury S., Oumish O., Adwan S. et Kamhawi S.**, (1995) - Incrimination of *Phlebotomus papatasi* as vector of *Leishmania major* in the southern Jordan Valley. *Med. Vet. Entomol.*, 9: 420-422.

- Handman E. et Bullen D.V.R.** (2002) - Interaction of *Leishmania* with the host macrophage. *Trends. Parasitol.*, **18** : 332–334.
- Harrat Z., Boubidi S.C. et Pratlong F.** (2009) - Description of a dermotropic *Leishmania* close to *L. killicki* (Rioux, Lanotte & Pratlong 1986) in Algeria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 103 (7): 716-20.
- Harrat Z., Hamrioui B., Belkaïd M. et Tabet-Derraz O.** (1995) - Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 88 : 180-184.
- Harrat Z., Pratlong F., Belazzoug S., Dereure J.M., Deniau A., Rioux J.A., Belkaïd M. et Dedet J.P.** (1996) - *Leishmania infantum* and *Leishmania major* in Algeria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **90** (6): 625-629.
- Harrat Z. et Belkaïd M.** (2003). Les leishmanioses dans l'Algérois. Données épidémiologiques. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **96** : 212-214.
- Henning W.** (1972) - Insektenfossilien aus der unteren Kreide. IV. Psychodidae (Phlebotomidae) mit einer kritischen Übersicht über das phylogenetische System der Familie und die bisher beschriebenen Fossilien (Diptera). - *Stuttgart Beiträge zur Naturkunde aus dem Staatlichen Museum für Naturkunde in Stuttgart*, 24: 1-89.
- Hide M.** (2004) - Variabilité pathogénique du complexe *Leishmania donovani*, agent de la leishmaniose viscérale. Étude comparative des caractères biologique, génétique et l'expression génique. Thèse Doctorat, Univ. Montpellier II, 269 p.
- Hugnet C., Lemesre J.L., Papierok G., Bourdoiseau G.** (2006) - Résultats de la vaccination contre la leishmaniose canine (*Leishmania infantum*) en zone d'enzootie. *Bull. Acad. vét. Fr.*, 95 :100-117
- Izri A. et Belazzoug S.** (2007) - Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 396: 3-10.
- Izri A., Depaquit J. et Parola P.** (2006) - Phlébotomes et transmission d'agents pathogènes autour du bassin méditerranéen. *Med. Trop.*, 66 : 429-435.
- Izri M.-A., Belazzoug S., Boudjebba Y., Dereure J., Pratlong F.** (1990)– *Leishmania infantum* MON-1 isolé de *Phlebotomus perniciosus* en Kabylie. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 65 : 507-508.
- Kabbout N., Berchi S., Merzoug D.** (2007) – étude des leishmanioses dans le foyer d'Oum El-Bouaghi : aspect entomologique, deuxième journées nationales sur la biodiversité, l'environnement naturel et la qualité de vie dans la région des Aurès. Université de Batna.

- Kallel K., Pratlong F., Belhadj S., Cherif F., Hammadi M., Dedet J.P., Chaker E.** (2005) - Cutaneous leishmaniasis in Tunisia: results of the iso-enzymatic characterization of 71 strains. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 99 (1):11-19.
- Keita S., Faye O., Ndiaye H.T. et Konare H.D.** (2003) - Epidémiologie et polymorphisme clinique de la leishmaniose cutanée observée au CNAM, Bamako (Mali). *Mali Médical* : 29- 31.
- Khiati M.** (1992) - Leishmaniose viscérale, Service de pédiatrie, hôpital Salim-Zemirli, Alger. *Jour. Péd. Puéric.*, 8 : 451-454.
- Killick-Kendrick R., Leaney A., Peters W., Rioux J-A., Bray R.,** (1985) – Zoonotic cutaneous leishmaniasis in Saudi Arabia: the incrimination of *Phlebotomus papatasi* as the vector in the Al Hassa oasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, (79): 252-255
- Killick-Kendrick R.** (1985) - Some epidemiological consequences of the evolutionary fit between *Leishmania* and their phlebotomine vectors. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales* 78, 747–55
- Killick-Kendrick R.** (1999) - The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies. *Clinics in Dermatology*, 17: 279-289.
- Killick-Kendrick R., Tang Y., Killick-Kendrick M.** (1991) - The identification of female sandflies of the subgenus *Larroussius* by the morphology of the spermathecal ducts. *Parasitologia*, 33 : 335-347.
- Killick-Kendrick R. et Ward R.D.** (1981)- Ecology of *Leishmania*. *Parasitology*. 82, 143-152.
- Le Fichoux Y., Marty P. et Kubar J. (1999)**- *Diagnostic des leishmanioses*.
In :Dedet J.P. Ed. Les leishmanioses. Paris : Ellipses ; 190-203
- Léger N. et Depaquit J.** (1999) - *Les phlébotomes*. In: J-P. Dedet (ed.), les leishmanioses, Ed. Ellipses, Paris, 90-108.
- Léger N. et Depaquit J.** (2002) - Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. *Revue Française des laboratoires*, 338 : 41-48.
- Léger N., Pesson B., Mabulo-Leblond G., Ferte H., Tselentis C. et Antoniou M.** (1983) - Sur la différenciation des femelles du sous-genre *Larroussius* Nitzulescu, 1931 (Diptera, Phlebotomidae) de la région méditerranéenne. *Ann. Pathol. Hum. Comp.* 58 : 611-623.
- Letonturier P.** (2007)- *Immunologie générale connaissance et pratique*, 8° éd revue et complétée, MASSON. 175p

- Lightburn E., Morand J.J. et Chouc C.** (2000) - Leishmaniose tégumentaire du nouveau monde. *Nouv. Dermatol.*, 19 : 385 p.
- Loiseau P.** (2007) - De nouveaux espoirs pour 12 millions de malades, Spécial Recherche 2006/2007. *Plein sud* : 48-53.
- Lupascu G., Dupont M., Dancescu P. et Cristescu M.** (2003) - Ethologie et phénologie Des phlébotomes vecteurs potentiels de la leishmaniose en Roumanie. *Colloques internationaux du C.N.R.S.* 239 :191-194 pp.
- Mansour N.-S., Fryauff D.-J., Modi B., Mikhail E.-M. et Youssef F.** (1991) – Isolation and Characterization of *Leishmania major* from *Phlebotoms papatasi* and military personnel in North. Sinai, Egypt. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 85 : 590-591.
- Maquaire S.** (1997) - *Etude des activités protéasiques constitutives et excrétées-sécrétées au cours du cycle de développement parasitaire de Leishmania amazonensis.* Mémoire D.E.A. de Parasitologie, Univ. Sc. et Tech., Languedoc, Montpellier II, 47 p.
- Marignac G., Lebastard M., Fall G., Nicolas L. et Milon G.** (2003) - Exploration de la dissémination de *Leishmania*, un parasite délivrer et prélevé par le phlébotome au niveau du derme de l'hôte vertébré. *Bull. Acad. Vét. France*, Tome 157, (2) : 41-45.
- Matille L.** (1993) – *Les diptères d'Europe occidentale. Introduction, technique d'étude Et morphologie. Nématocères, Brachycères, Orthoraphes et Aschizes.* Ed. Boubée, T1, Paris :439p.
- Marty P.** (2005) - Viscéral Leishmaniasis: Epidemiology and Diagnosis, *Médecine et maladies infectieuses*, 35 : 72-73.
- Marty P. et Rosenthal E.** (2002) - Treatment of visceral leishmaniasis : a review of current treatment practices. *Expert Opin. Pharmacother.* 3(8): 1101-1108.
- Mazelet L.** (2003) - La leishmaniose canine dans Le bassin méditerranéen français. Univ. Pierre et Marie Curie, Paris, 31p.
- Meghamla S.** (2007) - *Etudes Caractérisation des protéasomes chez Leishmania major.* Diplôme Ecole Pratique des Hautes Etudes, Sc. Vie et Terre, France, 82 p.
- Messai N.** (2006) - *Contribution à l'étude de la biodiversité des espèces Culicidienne (Diptera-Culicidae) et inventaire des Phlébotomes (Diptera-Psychodidae) dans la région de Mila.* Mémoire Magister en entomologie, Univ. Constantine, 179 p.
- Miriam A. L. et Robert M.W.** (2007) - *Leishmania: conserved evolution - diverse diseases.* *Trends in Parasitology*, 80 : 1- 3.
- Minodier P., Piarroux R., Garnier J.M. et Unal D.** (1999) - Leishmaniose viscérale méditerranéenne : physiopathologie. *Presse Med.*, 28 (1) : 28-33.

- Miro G., Galvez R., Mateo M., Montoya A., Decalzo M.A. et Molina R. (2007)** - Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Vet. Parasitol.* 28, 143 (3-4): 375-379.
- Molina R., Miro G., Galvez R., Nieto J., Descalzo M.A. (2006)** - Evaluation of a spray of permethrin and pyriproxyfen for the protection of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Vet. Rec.*, 159 (7): 206-209.
- Moulaheem T., Fendri A.H., Z. Harrat Z., Benmezad A., K. Aissaoui K., Ahraou S et Addadi K. (1998)** - Contribution à l'étude des phlébotomes de Constantine : espèces capturées dans un appartement urbain. *Entomologie médicale*, 2.
- Moulinier C. (2002)** - *Parasitologie et mycologie médicale ; Eléments de morphologie et de biologie*. Ed. Médicales Internationales, Paris, 796 p.
- Murray H.W., Berman J.D., Davies C.R., Saravia N.G. (2005)**. Advances in leishmaniasis. *Lancet*, **366**: 1561-1577.
- Niang A-A., Geoffroy B., Angel G., Trouillet J., Killik-Kendrick R., Hervy J-P., Brunhes J. (2000)** – *Les phlébotomes de l'Afrique de l'Ouest*. Logiciel d'identification et d'enseignement, IRD éd.
- Nieves E. et Pimenta P.F.P. (2002)** - Influence of vertebrate blood meals on the development of *Leishmania (Viannia) Braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) Amazonensis* in the sand fly *Lutzomyia Migonei* (Diptera: Psychodidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **67**: 640–647.
- Nogueira Neto J.P., Basso G., Cipoli A.P. et El Kadre L. (1998)** - American cutaneous leishmaniasis in the state of são paulo, brazil- epidemiology in transformation. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 5 : 1-5.
- Osman O.F., Kager P.A. et Oskam L. (2000)** - Leishmaniasis in the Sudan: a literature review with emphasis on clinical aspects. *Trop. Med. Intern. Health*, **5** (8): 553-562.
- Otranto D., Paradies P., Lia R.P., Latrofa M.S, Testini G., Cantacessi C., Mencke N., Galli G., Capelli G. et Stanneck D. (2007)** - Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/ 50% permthrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Vet Parasitol.*, 144 (3-4) : 270-278.

- Ouellette M., Olivier M., Satos S. et Papadopoulou B.** (2003) - Le parasite *Leishmania* à l'ère de la post-génomique. *Medecine-Sciences*, 10 (19): 900 - 909.
- Pinto M.C., Campbell-Lendrum D.H., Lozovei A.L., Teodoro U et Davies C.R.** (2001) - Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. *Medical and Veterinary Entomology*; 15: 132-139.
- Ramade F.** (1984)-*Eléments d'écologie. Ecologie fondamentale.* Ed. Mc Graw-Hill. Paris, 397.
- Rioux J.-A., Houin R., Léger N., Croset H., Deniau M., Poinot S.** (1971) - Nouvelles stations de *Phlebotomus sergenti* (Parrot, 1917). XLVI. (3). *Ann, Para, Hum et camp.* Paris.
- Raynal J.-H.** (1954) – Les phlébotomes de France et leur distribution régionale. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 29 : 297-323.
- Rioux J.-A., Lanotte G., Retter F., Dereure J., Akalay O., Pratlong F., Velez J.-D., Fikri N.-B., Denial M., Jarry D.-M., Zahaf A., Ashford R.-W., Cadi-Soussi M., Killick-Kendrick R., Benmansour N., Moreno G., Perieres J., Guilvard E., Kennou M.-F., Rispel P. et Serres E.** (1986) - Les leishmanioses cutanées du bassin méditerranéen occidental et identification enzymatique à l'analyse éco-épidémiologique. L'exemple des trois foyers, Tunisien, Marocain et Français. *Coll. Int. CNRS/INSERM*, 365-395.
- Rispail P., Léger N.** (2000) - Numerical Taxonomy of old World Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). *Mem. Inst. Oswaldcruz*, 93 (6) : 787-793.
- Rodhain.F.** (2007) - Impacts potentiels du changement climatique sur la santé : l'exemple des maladies à vecteurs, *Institut Pasteur*, 65-71.
- Rodhain F. et Perez C.** (1985) - *Précis d'entomologie vétérinaire et médicale.* Ed. Maloine, Paris, 458 p.
- Roqueplo C.** (2003) - *Influence du port d'un collier antiparasitaire contenant de la deltaméthrine sur les performances olfactives du chien.* Thèse Doctorat vétér., Fac. Créteil, 183p.
- Sacks D. et Kamhawi S.** (2001) - Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in Leishmaniasis. *Annu. Rev. Microbiol.*, 55 : 453-483.
- Scopoli J.** (1783) - *Deliciae florae et faunae insubricae- Pavia*, 1 : 85.

- Seguy E.** (1951) - *Atlas des Diptères de France, Belgique-Suisse*. Ed. Boubée et C, Vol. I, Paris, pp. 25-35.
- Seltzer P.** (1946)-Le climat d'Algérie. *Trav. Ins. Met. et Phy. Du Globe*, Univ. d'Alger. 219.
- Sergent E.D., Sergent E.T., Lombard J. et Quilichini M.** (1912) - La leishmaniose à Alger. Infection simultanée d'un enfant, d'un chien et d'un chat dans la même habitation. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 5 : 93-98.
- Théodoridès J.** (1997) - Note historique sur la découverte de la transmission de la leishmaniose cutanée par les phlébotomes. 1-2 pp.
- Tran A., Biteau-Coroller F., Guis H. et Roger F.** (2005) - Modélisation des maladies vectorielles ; *Epidémiol. et santé anim* ; 47 : 35-51.
- Vannier-Santos.M.A, Martiny A. et Desouza W.** (2002). Cell biology of *Leishmania* spp: Invading and Evading. *Current pharmaceutical design*, 8: 297-318.
- Verani P., Ciufolini M.G. et Nicoletti L.** (1995)- Arbovirus surveillance in Italy. *Parassitologia*. 37: 105-108
- Verani P., Nicoletti L., Ciufolini M.G. et Baducci I.** (1991) - Viruses transmitted by sandflies in Italy. *Parassitologia*, 33: 513-518.
- Yaghoobi-Ershadi M.R., Javadian E. et Tahvildare-Bidruni G.H.** (1995)- *Leishmania major* MON-26 isolated from naturally infected *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in Isfahan Province, Iran. *Acta Trop.* 59: 279-282.
- Young D.G. et Young Perkins P.V.** (1994) - Phlebotomine sand flies of North America (*Diptera:psychodidae*). *Journ. Amer. Mosq. Cont. Assoc.*, 44: 263-304.
- W.H.O.** (2000) - Leishmaniose et les co-infections *Leishmania* / HIV. Aide mémoire, World Health Organization, n° 116.
- Werry M.** (1995). Protozoologie médicale. Edition De Boeck Université, 123-136.

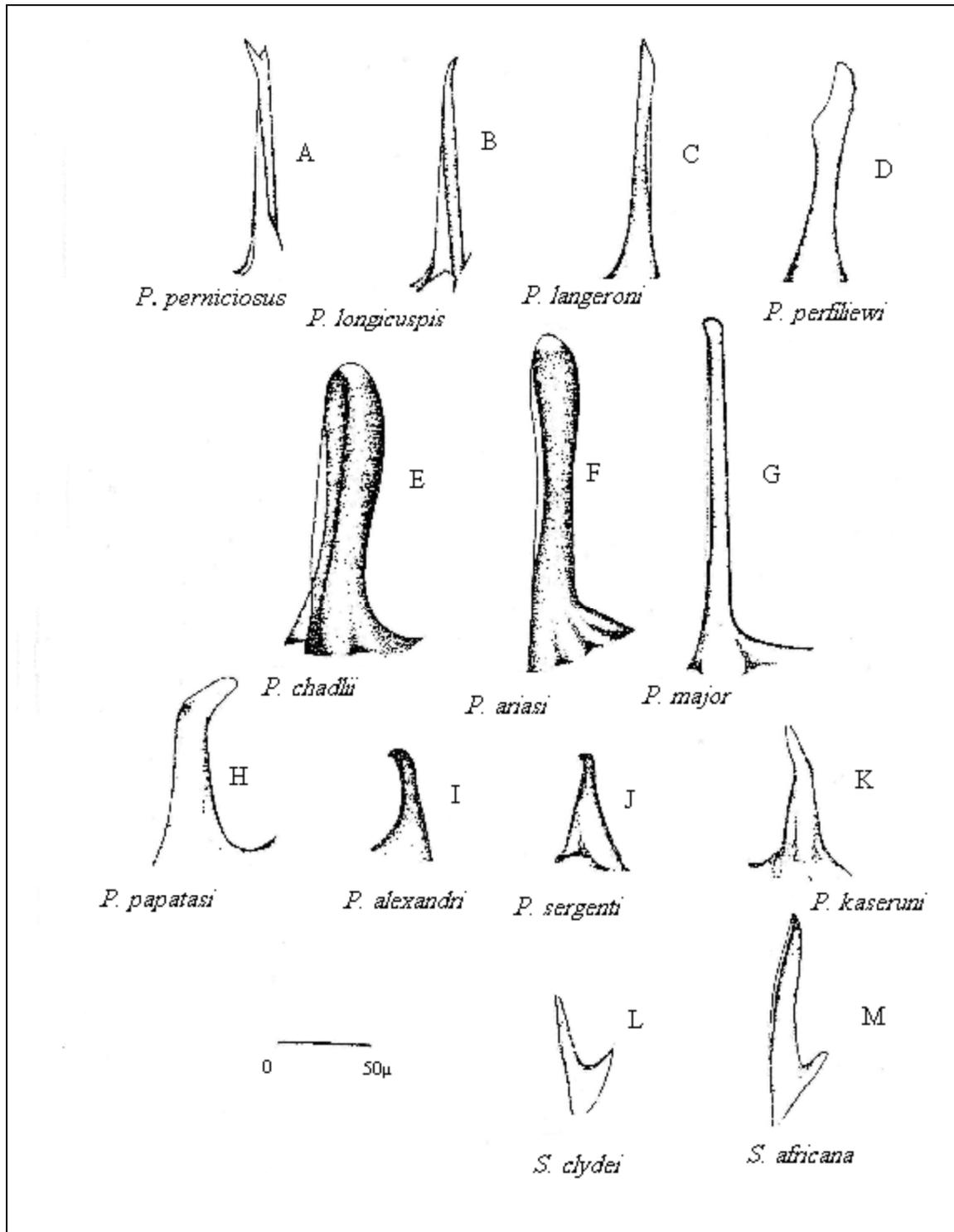
(www.dpd.cdc.gov/dpdx)

Annexes :

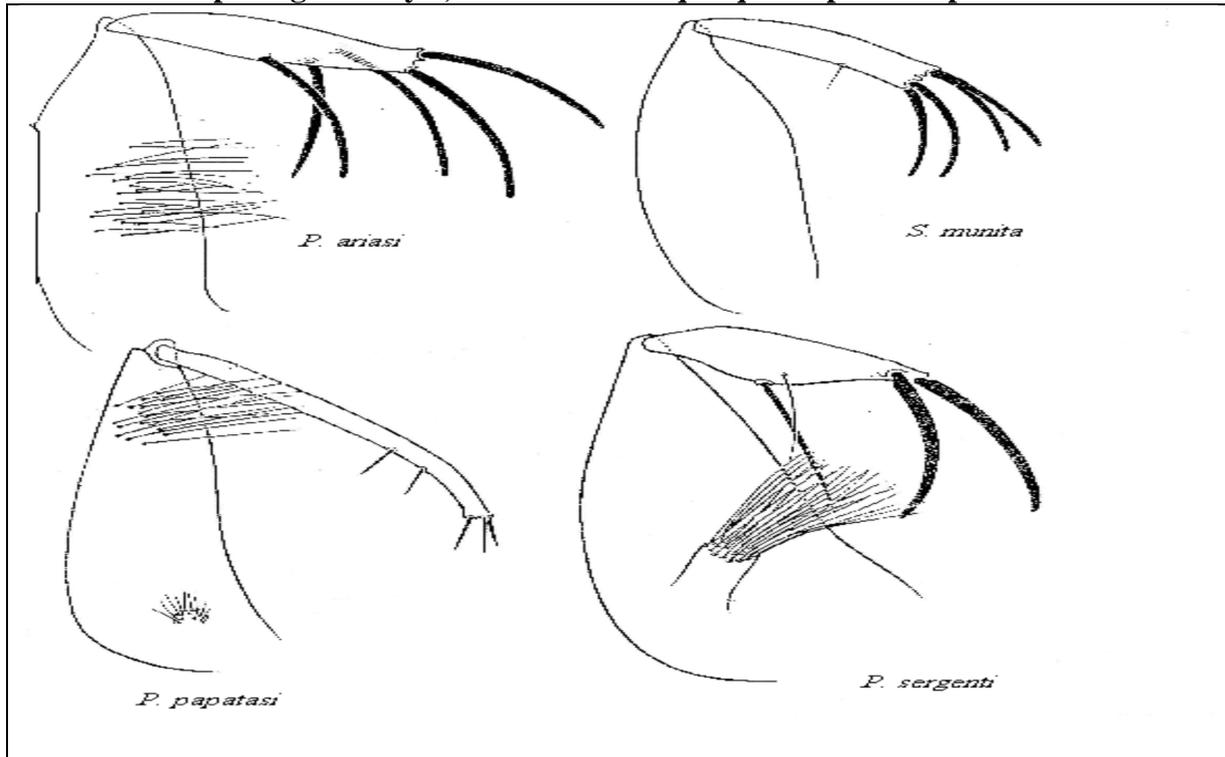
Annexe1. Clé d'identification des genres :

caractéristiques \ Genre	<i>Phlebotomus</i>	<i>Sergentomyia</i>
Cibarium	 <p>Inerme</p>	 <p>Arme de dent</p>
Pharynx		
Le mâle	 <p>Style à 4 ou 5 épines</p>	 <p>Style à 4 épines</p>

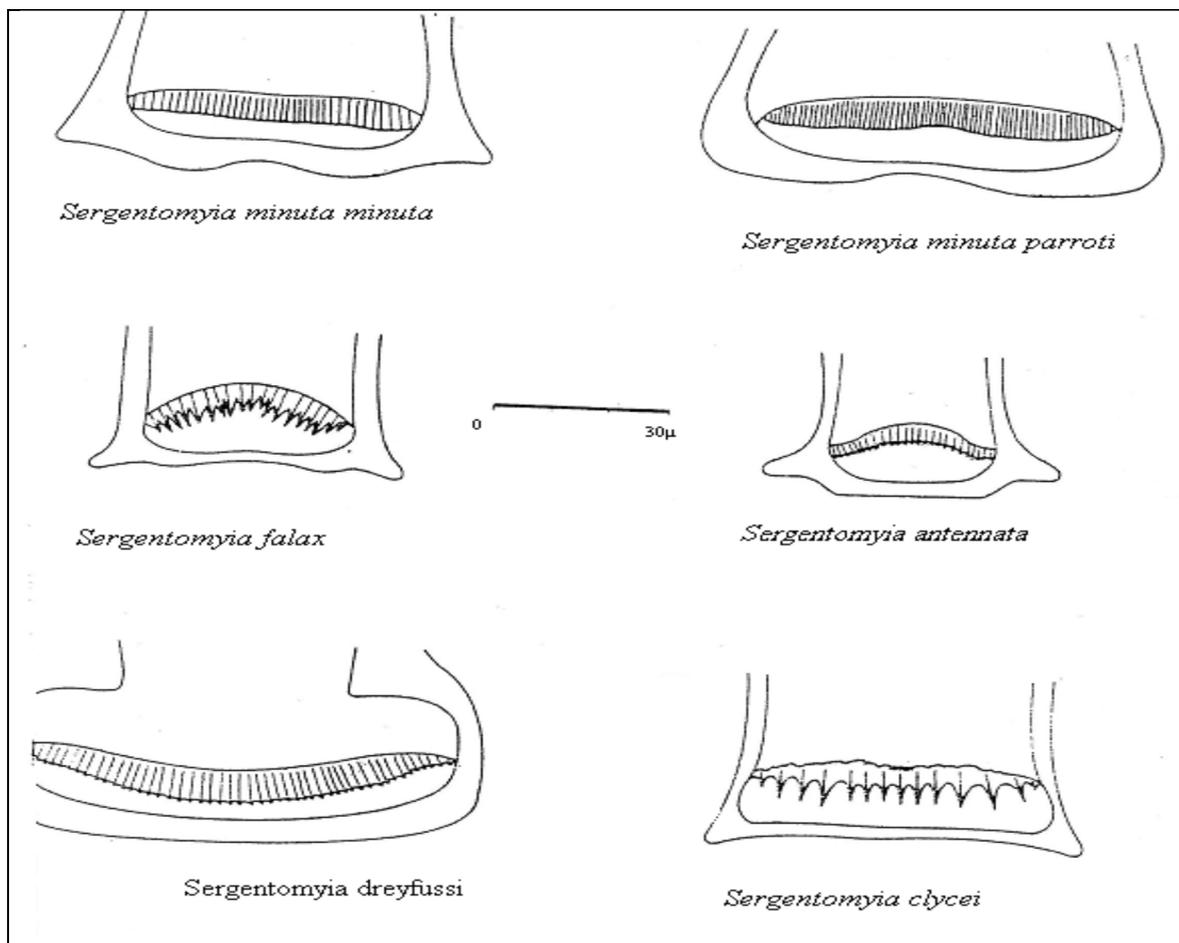
Annexe 2. Quelques exemples de valve pénienne



Annexe 3. Morphologie du style, du coxite chez quelques espèces de phlébotomes :



Annexe 4. Quelques exemples de cibarium



Annexe 5

Liste des Patients délivré par Dr BENDJABALLAH. A (Service de Parasitologie) / EPH de Hadjout.

Age	Période du Diagnostic
	Mai 2012
	Juin 2012
4 Ans	Juin 2012
	Aout 2012
	Nov 2012
	Dec 2012
3 Ans	
	Oct 2011
	Fev 2011
	Mars 2011
	Avr 2011
	Mai 2013
70 Ans	Mai2013
3 Ans	Mai 2013
9 mois	
11 mois	
11 mois	

Annexes 6 : Liste des espèces de leishmanies et des pathologies humaine associées dans l'Ancien Monde et le Nouveau Monde (D'après Shnur et Grcenblat,1995).

Espèce de leishmanie	Réservoir	Vecteur	Pathologies
Ancien Monde			
Sous genre Leishmania			
Complexe <i>L.donovani</i>			
<i>L.d.donovani</i>	Homme	<i>P.argentipes</i>	Viscérale
		<i>P.alexandri</i>	Post kala-azar
<i>L.d.infantum</i>	Chiens et canidés	<i>P.ariasii</i>	Viscérale
		<i>P.perniciousus</i>	Cutanée
		<i>P.longicuspis</i>	Asymptomatique
		<i>P.perfiliewi</i>	
<i>L.d.chagasi*</i>	Chiens et canidès	<i>Lu.longiptalpis</i>	Viscérale ; cutanée
			Asymptomatique
<i>L.d.archibaldi</i>	Rongeurs et carnivores	<i>P.orientalis</i>	Viscérale ; cutanée
		<i>P.martini</i>	oronasale
Complexe <i>L.Tropica</i>			

Annexes

<i>L.t.tropica</i>	Homme	<i>P.sergenti</i>	cutanée ; récidivante viscérale ; oronasale ; post-kala-azar
<i>L.t.killiki</i>	Homme	<i>P.sergenti</i>	cutanée
<i>L.aethiopica</i>	Hyraxes	<i>P.longipes</i> <i>p.pedifer</i>	cutanée ; c.diffuse cutanéomuqueuse
Complexe <i>L.major</i>			
<i>L.m.major</i>	Rongeurs du désert	<i>P.papatasi</i>	cutanée ; c.diffuse
<i>L.sp (Namibia)</i>		<i>p.duboscqui</i> <i>P.rossi</i>	viscérale cutanée
Nouveau Monde			
Sous genre Leishmania			
Complexe <i>L.mexicana</i>			
<i>L.m.mexicana</i>	Rongeurs	<i>Lu.olmeca</i>	cutanée ; c. diffuse
<i>L.m.amazoensis</i>	rongeurs	<i>Lu.flaviscutellata</i>	cutanée ; c.diffuse viscérale ; post kala - azar ; métastase
<i>L.m.ssp.Belize</i>			cutanée
<i>L.m.Prifanoi</i>			C.D
<i>L.m.Garnhami</i>			cutanée
<i>L.m.ssp.Trinidad</i>			cutanée
<i>L.m.ssp.Brazil</i>			
Sous genre de viannia			
Complexe <i>L.Braziliensis</i>			
<i>L.b.braziliensis</i>	Rongeurs	<i>Ps.carrerae</i> <i>Ps.wellcomee</i> <i>Ps.yucumensis</i> <i>Ps.llanosmortinsi</i> <i>Lu.anduzei</i>	cutanée cutanéomuqueuse
<i>L.b.guyanensis</i>	Rongeurs	<i>Lu.umbratilis</i>	cutanée
<i>L.b.panamensis</i>	Rongeurs	<i>Lu.trapidoi</i> <i>Lu.gomezi</i> <i>Lu.yelphiletor</i> <i>Ps.panamensis</i>	cutanée
<i>L.b.peruviana</i>			
<i>L.b.ssp.Central America</i>	Chiens		cutanée

Annexes

<i>L.b.ssp.Brazil</i>	Chiens		cutanée
<i>L.B.ainson</i>	Marsupiaux et		cutanée
<i>L.b.colombiensis</i>	rongeurs		cutanée

***généralement, *L.chagasi* est décrite comme provenant du Nouveau Monde mais probablement *L.infantum* a été exporté de l'Ancien Monde (Momen et al., 1993).**