

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Frères Mentouri - Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale



N° d'Ordre : 62/DS/2015
N° de Série : 01/Bio ANI/2015

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat en Sciences en Biologie Animale
Option : Entomologie

**DETECTION MOLECULAIRE DES LEISHMANIES A PARTIR DU GENRE
PHLEBOTOMUS (DIPTERA : PSYCHODIDAE) : TENDANCE
VERS LA REGRESSION DE LA LEISHMANIOSE A CONSTANTINE ?**

Présentée par :

FRAHTIA-BENOTMANE Khalida

Soutenue le : 16/06/2015

Devant le jury :

Président :	M ^r LOUADI K.	Prof. Université des Frères Mentouri - Constantine
Directeurs de thèse :	M ^{me} MIHOUBI I.	Prof. Université des Frères Mentouri - Constantine
	M ^r PICOT S.	Prof. Université Claude -Bernard, Lyon1
Examineurs :	M ^r MOULAHM T.	Prof. Université Rabeh Bitat - Constantine
	M ^r HARRAT Z.	Prof. Institut Pasteur Algérie

Année universitaire : 2014-2015

*A la mémoire de mes parents
A mon époux
A ma fille Mayar
A tous ceux qui me sont chers...*

Remerciements

Au terme de ce travail, je souhaite adresser mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à sa réalisation et ont permis, par leur soutien et leurs conseils, de le mener à bien.

*En premier lieu, je tiens à remercier ma directrice de thèse, Madame le Professeur **DJEZZAR-MIHOUBI Ilhem**, pour la confiance qu'elle m'a accordé en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'elle a consacré à diriger cette recherche.*

*Je remercie également, très chaleureusement, Monsieur le Professeur **PICOT Stéphane**, co-directeur de thèse, qui a permis la mise en œuvre de ce travail et a accepté de m'accueillir au sein de ses institutions à Lyon.*

*Je tiens aussi à remercier Monsieur le Professeur **LOUADI Kamel**, qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse et qui m'a permis de réaliser ce travail au sein du Laboratoire de Biosystématique et Ecologie des Arthropodes qu'il dirige.*

*Toute ma gratitude va vers Monsieur le Professeur **HARRAT Zoubir**, qui a aimablement accepté d'examiner ce travail de recherche.*

*Mes profonds remerciements vont aussi à Monsieur le Professeur **MOULAHM Tayeb**, qui a accepté de faire partie de mon jury de soutenance.*

*Ma gratitude va également à Monsieur le Docteur **BOUNAMOUS Azzedine** pour le temps qu'il a généreusement consacré à m'initier à l'identification des phlébotomes ainsi qu'à Mme la doctorante **RAMDANE Asma** pour toute l'aide qu'elle m'a prodiguée lors des sorties sur terrain.*

*Je remercie toutes les personnes formidables que j'ai rencontrées lors de mes stages au Laboratoire de Mycologie et Parasitologie de l'Hôpital de la Croix Rousse à Lyon : Madame **FERRANDIZ Josette**, Madame **DURAND-PEYRE Françoise** et Madame **CUILLERET ALCARAZ Catherine**. Sans oublier l'équipe du Laboratoire de Parasitologie à l'Université Claude Bernard à Lyon : **BONNOT Guillaume**, **LAVOIGNAT Adeline** et **DURAND Régine**.*

LISTE DES ABREVIATIONS

LC :	Leishmaniose cutanée.
LV :	Leishmaniose viscérale.
LCZ :	Leishmaniose cutanée zoonotique.
LCN :	Leishmaniose cutanée du Nord.
LCM :	Leishmaniose cutanéomuqueuse.
LCD :	Leishmaniose cutanée diffuse.
V.I.H. :	Virus de l'Immunodéficience Humaine.
I.N.S.P. :	Institut National de Santé Public.
R.E.M. :	Relevés Epidémiologiques Mensuels.
O.M.S. :	Organisation Mondiale de la Santé.
PCR :	Polymerase Chain Reaction.
RT-PCR :	Real Time PCR.
W.H.O. :	World Health Organisation.
U.M.V.F. :	Université Médicale Virtuelle Francophone.
C.N.E.V. :	Centre National d'Expertise sur les Vecteurs.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Espèces et sous-espèces de <i>Leishmania</i> (D'après Robert et Janovy, 2000 in Boussaa, 2008)	16
Tableau 2 :	Sous-genres et principales espèces de phlébotomes impliquées dans la transmission des diverses leishmanioses (D'après Léger et Depaquit, 2001).....	21
Tableau 3 :	Phlébotomes d'Algérie (D'après Bounamous, 2010).....	46
Tableau 4 :	Répartition des phlébotomes en Algérie en fonction des étages bioclimatiques (D'après Dedet <i>et al.</i> , 1984 ; Bellazoug, 1991).....	47
Tableau 5 :	Nombre de pièges adhésifs (PA) déposés par localité.....	64
Tableau 6 :	Nombre de phlébotomes capturés par année, par sexe (M,F) et par types de piègeage : CDC et pièges adhésifs (PA).....	70
Tableau 7 :	Genres, sous-genres et espèces identifiés.....	71
Tableau 8 :	Répartition géographique des cas suspectés.....	79
Tableau 9 :	Cas de leishmaniose cutanée par RT-PCR de 2011 à 2013 dans la Wilaya de Constantine et de ses environs.....	80

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Processus de différenciation au niveau du tube digestif chez le vecteur (D'après Schlein, 1993).....	19
Figure 2 :	Schéma représentant le cycle d'infection des <i>Leishmanioses</i> (www.actualité-pharmacie.com).....	20
Figure 3 :	Exemple de visualisation des leishmanies sur un prélèvement coloré au MGG (D'après <i>Quitterie et al., 2005</i>).....	22
Figure 4 :	Rosette de promastigotes procycliques en culture (observation au microscope à l'objectif x 1000) (D'après U.M.V.F., 2014).....	23
Figure 5 :	Dissection de phlébotome femelle pour la détection de promastigotes (D'après El-Hossary, 2006 in Armed Forces Pest Management Board, 2015). (Enlèvement des pattes (A) ; de la tête (B) ; insicion de l'abdomen (C)).....	27
Figure 6 :	Aspect général d'un phlébotome femelle gorgée de sang (D'après Bañuls <i>et al., 2013</i>).....	33
Figure 7 :	Tête d'un phlébotome adulte (vue ventrale) (D'après Bañuls <i>et al., 2013</i>).....	34
Figure 8 :	Aile de phlébotome (D'après Bañuls <i>et al., 2013</i>).....	35
Figure 9 :	Génitalia mâle (D'après Bañuls <i>et al., 2013</i>).....	36
Figure 10 :	Génitalia femelle (D'après Bañuls <i>et al., 2013</i>).....	37
Figure 11 :	Cycle de vie du phlébotome (D'après www.vet.nantes.fr).....	41
Figure 12 :	Localisation de la Wilaya de Constantine (D'après www.canalmonde.fr).....	51
Figure 13 :	Localisation des sites d'échantillonnage (D'après Benghodbane, 2001).....	55
Figure 14 :	Premier site d'échantillonnage au sein de la localité d'El-Khroub (Photo originale).....	56
Figure 15 :	Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité d'El-Khroub (Photo originale).....	56
Figure 16 :	Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Didouche Mourad (Photo originale)	57
Figure 17 :	Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Didouche Mourad (Photo originale).....	58
Figure 18 :	Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Hamma Bouziane (Photo originale).....	58

Figure 19 :	Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Hamma Bouziane (Photo originale).....	59
Figure 20 :	Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Beni Hamidène (Photo originale).....	60
Figure 21 :	Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Beni Hamidène (Photo originale).....	60
Figure 22 :	Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Zighoud Youcef (Photo originale).....	61
Figure 23 :	Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Zighoud Youcef (Photo originale).....	61
Figure 24 :	Piège lumineux (CDC).....	63
Figure 25 :	Pièges adhésifs (Photos originales).....	64
Figure 26 :	Pourcentage des six espèces identifiées.....	71
Figure 27 :	Courbe d'amplification et température de fusion de la PCR Genre positive à TM calling à 84,1°C.....	81
Figure 28 :	Courbe d'amplification et température de fusion de la PCR Genre positive à TM calling à 82,85°C.....	82
Figure 29 :	Courbe d'amplification et température de fusion de la PCR Genre positive à TM calling à 83,59°C.....	82
Figure 30 :	Évolution de la leishmaniose cutanée (LC) et viscérale (LV) dans la région de Constantine de 2005 à 2011 (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).....	88
Figure 31 :	Quantité de Glucantime administrée aux divers services du C.H.U. de Constantine entre 2006 et 2013 (Pharmacie Centrale du C.H.U. de Constantine, 2014).....	89
Figure 32 :	Évolution de la leishmaniose cutanée en Algérie de 2005 à 2011 (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).....	90
Figure 33 :	Évolution de la leishmaniose viscérale en Algérie de 2005 à 2011 (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).....	91

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
---------------------------	----

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les leishmanioses	04
1.1. Généralités	04
1.2. Historique	04
1.3. Epidémiologie des leishmanioses	06
1.3.1. Formes cliniques	06
1.3.1.1. Leishmaniose cutanée	06
1.3.1.1.1. Leishmaniose cutanée zoonotique	07
1.3.1.1.2. Leishmaniose cutanée du Nord	07
1.3.1.2. Leishmaniose viscérale	08
1.3.1.2.1. Leishmaniose viscérale infantile	08
1.3.1.2.2. Leishmaniose viscérale de l'adulte	09
1.3.1.3. Leishmaniose cutanéomuqueuse	09
1.3.1.4. Leishmaniose canine	09
1.3.1.5. Co-infection <i>Leishmania</i> /VIH	10
1.3.1.5.1. Leishmaniose cutanée et Sida	10
1.3.1.5.2. Leishmaniose viscérale et Sida	10
1.3.2. Répartition géographique	11
1.3.2.1. Leishmaniose cutanée	12
1.3.2.2. Leishmaniose viscérale	13
1.3.2.3. Leishmaniose cutanéomuqueuse	14
1.3.2.4. Leishmaniose canine	14
2. Les protagonistes des leishmanioses	15
2.1. Le parasite	15
2.1.1. Classification	15
2.1.2. Morphologie	16
2.1.3. Cycle de transmission	17
2.1.3.1. Phase extracellulaire : développement chez l'insecte	18

2.1.3.2. Phase intracellulaire : développement chez l'hôte mammifère	19
2.1.4. Techniques de détection et de mise en évidence des leishmanies	21
2.1.4.1. Méthodes directes	21
2.1.4.1.1. Examen direct	21
2.1.4.1.2. Mise en culture	22
2.1.4.1.3. PCR (Polymerase Chain Reaction)	23
2.1.4.1.3.1. PCR séquençage	24
2.1.4.1.3.2. PCR en Temps réel	24
2.1.4.1.4. Mise en évidence des leishmanies à partir du vecteur.....	26
2.1.4.1.5. Spectrométrie de masse de type MALDI-TOF	27
2.1.4.2. Méthodes indirectes	29
2.1.4.2.1. Méthodes sérologiques	29
2.1.4.2.2. Méthodes biochimiques des isoenzymes	29
2.2. Le vecteur	30
2.2.1. Caractères généraux	30
2.2.2. Systématique	30
2.2.3. Morphologie	32
2.2.4. Bio-écologie et Ethologie	37
2.2.4.1. Ecologie	37
2.2.4.2. Répartition	39
2.2.4.3. Cycle de vie	40
2.2.4.4. Rythme d'activité	42
2.2.4.5. Les phlébotomes et la transmission des maladies	42
2.2.4.5.1. Nuisance engendrée par les phlébotomes.....	42
2.2.4.5.2. Rôle dans la transmission des maladies	43
2.2.4.5.3. Transmission d'arbovirus	43
2.2.4.5.4. Transmission des bactéries : La Verruga Péruvienne ou Bartonellose	44
2.2.4.5.5. Transmission des protozoaires	44
2.2.5. Phlébotomes d'Algérie	45
2.3. Réservoirs	47

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Présentation de la région d'étude	51
1.1. Climat	52
1.1.1. Précipitations	52
1.1.2. Température	52
1.1.3. Vent	52
1.2. Relief.....	52
1.3. Hydrologie.....	53
1.4. Végétation.....	54
2. Enquête entomologique	55
2.1. Présentation des sites de capture des phlébotomes	55
2.2. Techniques d'échantillonnage	62
2.2.1. Pièges lumineux	62
2.2.2. Pièges adhésifs	63
2.3. Traitement des échantillons	65
2.3.1. Eclaircissement	65
2.3.2. Montage	65
2.4. Identification morphologique des spécimens	66
3. Analyse moléculaire	66
3.1. Détection moléculaire des leishmanies à partir des prélèvements cutanés	66
3.1.1. Prélèvements cutanés	66
3.1.2. Extraction d'ADN	67
3.1.3. PCR en temps réel	67
3.2. Détection par PCR des leishmanies à partir des phlébotomes femelles	68
3.2.1. Extraction d'ADN	68
3.2.2. PCR en Temps Réel	69
3.2.2.1. PCR en Temps réel Genre	69
3.2.2.2. PCR en Temps réel Espèce	69

CHAPITRE III : RESULTATS

1. Enquête entomologique	70
2. Inventaire faunistique	70
2.1. Description des espèces capturées	72
2.1.1. Espèces du genre <i>Phlebotomus</i>	72
2.1.1.1. <i>Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi</i> (Scopoli, 1786)	72
2.1.1.2. <i>Phlebotomus (Larroussius) perniciosus</i> (Newstead, 1911)	73
2.1.1.3. <i>Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi</i> (Parrot, 1930)	75
2.1.1.4. <i>Phlebotomus (Larroussius) longicuspis</i> (Nitzulescu, 1930)	76
2.1.2. Espèces du genre <i>Sergentomyia</i>	77
2.1.2.1. <i>Sergentomyia (Sergentomyia) minuta</i> (Adler et Theodor, 1927)	77
2.1.2.2. <i>Sergentomyia (Grassomyia) dreyfussi</i> (Parrot, 1933)	78
3. Détection moléculaire des leishmanies à partir des prélèvements cutanés.....	79
3.1. Patients.....	79
3.2. PCR en temps réel.....	80
4. Détection par PCR des leishmanies à partir des phlébotomes femelles.....	80

CHAPITRE VI : DISCUSSION

DISCUSSION	83
CONCLUSION GENERALE	95
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	97
ANNEXES	
RESUMES	

INTRODUCTION

Les leishmanioses sont des parasitoses très anciennes causées par des protozoaires flagellés appartenant au genre *Leishmania*, ayant un tropisme électif pour le système phagocytaire mononucléé macrophage, histiocyte, monocyte. Ces infections parasitaires communes à l'Homme et à certains animaux sont transmises à l'Homme par la piqûre d'un insecte vecteur, le phlébotome femelle (Dedet, 2009).

Les phlébotomes forment un groupe très homogène qui occupe une place importante, d'une part, dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique et d'autre part, dans la transmission de maladies dues à leur piqûre. Ces insectes, diptères psychodidés, appartiennent au genre *Phlebotomus* dans l'Ancien Monde et *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde (Dedet, 2009). Leur morphologie est en rapport directe avec leur mode de vie, les stades jeunes pré imaginaires sont terricoles alors que les adultes sont aériens. Parmi les 800 espèces répertoriées dans le monde, seules 94, pour le genre *Phlebotomus* et 379, pour le genre *Lutzomyia* sont des vecteurs prouvés des *Leishmania* (Munstermann, 2004). En effet, leur rôle en pathologie humaine et leur implication dans les transmissions de maladie humaines et vétérinaires a été prouvée à plusieurs reprises. Parmi ces maladies, la leishmaniose occupe la première place.

Endémique dans 88 pays de part le monde, elle menacerait 350 millions de personnes. Elle connaît une recrudescence importante, justifiée par son incidence annuelle estimée à plus de 1,3 million de nouveaux cas par an et entre 20 000 et 30 000 décès (O.M.S., 2014). Environ 20 espèces de *Leishmania* sont connus pour être pathogènes pour l'Homme, et l'espèce est le principal déterminant de l'évolution clinique (cutanée, cutanéomuqueuses et les formes viscérales) (Desjeux, 2001 ; Coi et Lerner, 2001).

Dans notre pays, les leishmanioses sont de deux types : la leishmaniose viscérale, due à *L. infantum*, qui a pour réservoir principal le chien ; et les leishmanioses cutanées qui sont dues à trois espèces de leishmanies : *L. infantum*, responsable de la leishmaniose cutanée du nord, ayant pour réservoir le chien (Benikhlef *et al.*, 2004), *L. major*, admettant comme réservoirs *Psammomys obesus* et *Meriones shawi* (rongeurs sauvages) (Belazzoug, 1983) et enfin, *L. killicki* (Harrat *et al.*, 2009) et *L. tropica* (Mihoubi *et al.*, 2008) agents de la leishmaniose cutanée anthroponotiques.

La mise en évidence et l'identification des espèces de *Leishmania* à partir des phlébotomes est importante pour l'évaluation du risque et de l'expansion de la maladie dans les régions endémiques et les zones environnantes. Au cours de ces dernières années, la détection des formes promastigotes des *Leishmania* à partir du vecteur, est réalisée par des techniques de PCR, après dissection des spécimens sous un microscope. Pour ce faire, les échantillons doivent être frais, et vu la taille de l'insecte, la technique nécessite un manipulateur minutieux et hautement qualifié. Par ailleurs, la procédure prend un temps relativement long, et, en outre, un grand nombre de spécimens doivent être disséqués et examinés pour pouvoir aboutir à des données exploitables vu que le taux d'infection des phlébotomes avec des *Leishmania* est généralement de l'ordre de 0,01 à 1% et ce, même dans les zones d'endémie (Hashiguchi et Gomez, 1999).

Pour palier à la contrainte de cette conventionnelle pratique, nous nous sommes fixés, comme objectif principal, la détection des leishmanies à partir des phlébotomes femelles sans avoir recours à la dissection préalable. Cette technique ayant déjà fait ses preuves dans la détection des larves L3 de *Wuchereria bancrofti*, en Polynésie Française, à partir des moustiques du genre *Culex* (Chanteau *et al.*, 1994).

Dans cette modeste étude, nous nous proposons de l'appliquer pour essayer de mettre en évidence des leishmanies à partir des phlébotomes de diverses localités de la Wilaya de Constantine où de nombreux cas de leishmanioses ont été signalés, à savoir, El Khroub, Didouche Mourad, Hamma Bouziane, Beni H'Midène et Zighoud Youcef.

Pour tendre vers cela, les étapes à mener seront les suivantes :

- Piégeage et inventaire faunistique de la population phlébotomienne, ce qui nous permettra de déterminer la répartition des espèces au niveau des localités visées.
- Détection de l'ADN leishmanien, par PCR en temps réel, chez les phlébotomes femelles, ce qui permettrait d'évaluer le niveau de parasitémie des vecteurs.
- Comme objectif secondaire, nous essayerons de comparer les résultats de la détection moléculaire des parasites, à partir des phlébotomes, aux résultats du diagnostic par RT-PCR des prélèvements cutanés durant la période de l'étude. Ce qui nous permettrait d'établir, dans la mesure du possible, une relation entre le niveau d'infection des vecteurs et la leishmaniose cutanée dans ces localités.

Il est à noter que seuls les échantillons cutanés ont été concernés par le présent travail car d'une part, la collecte des échantillons de moelle osseuse est très difficile à obtenir et d'autre part, le nombre de cas de leishmaniose viscérale dans la région d'étude est très faible (incidence annuelle estimée à 0,35) (Adel *et al.*, 2014) comparativement à la LC.

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

1. Les leishmanioses

1.1. Généralités

La leishmaniose est une réticulo-endothéliose parasitaire dont l'agent pathogène est un zooflagellé appartenant au genre *Leishmania*, transmis par la morsure d'un diptère : le phlébotome femelle (Dedet, 2001). La leishmaniose représente, chez l'Homme, un spectre clinique allant d'une simple lésion cutanée auto résolutive aux formes diffuses et viscérales mortelles en l'absence du traitement (Dedet, 2009). La leishmaniose touche la peau (leishmaniose cutanée), les muqueuses (leishmaniose cutanéomuqueuse), le foie et la rate (leishmaniose viscérale). D'après Marc et ses collaborateurs (2007), cette maladie est devenue dans certains pays un problème sanitaire d'urgence : c'est le cas notamment en Ethiopie, en Erythrée et au Soudan où la maladie est endémique depuis quelques années et constitue, de ce fait, l'une des six maladies tropicales majeures dans les pays en voie de développement. Elle est actuellement considérée comme une parasitose opportuniste à part entière vu sa fréquence et sa gravité chez les sidéens (Pratlong *et al.*, 1997).

1.2. Historique

Parmi toutes les parasitoses, les leishmanioses sont une des premières décrites au moins dans leur forme cutanées, comme en témoigne le nom sanscrit de Kala-azar (Fièvre Noire) qui désigne la leishmaniose viscérale indienne (Jarry, 1999). Selon la même auteure, la constatation des lésions cutanées bien évidente remonte à la plus haute antiquité aussi bien dans l'Ancien que dans le Nouveau Monde, alors que l'individualisation des formes viscérales et la mise en évidence des agents pathogènes n'ont pu se faire qu'au XIX^{ème} siècle. D'autre part, l'omniprésence de ces affections, en rapport avec des parasites, vecteurs, et réservoirs, a interpellé de nombreux observateurs, ce qui explique la fréquence des descriptions de cette parasitose. Ainsi, les leishmanioses tégumentaires de l'Ancien Monde, sont des affections dermatologiques connues depuis très longtemps. En effet, une tablette d'argile du palais de Ninive (700-600 av. J.-C.) transcription d'un écrit akkadien du deuxième ou troisième millénaire avant notre ère, étudiée par Boissier dès 1894 évoque une ulcération indolore de la face (Jarry, 1999). Et depuis, d'autres découvertes se sont succédé :

- Al Boukhari, médecin arabe du X^{ème} siècle, décrit incontestablement cette affection cutanée, et Avicenne (mort en 1034) l'attribuait à une piqûre de moustique.
- La première description clinique moderne est celle de McNaught 1882.
- C'est en 1885 en Inde, que Cunningham observe pour la première fois le parasite sur des coupes histologiques d'un « Bouton de Delhi ».
- Firth, en 1891, en observant des cellules renfermant de nombreuses leishmanies, propose le nom de *Sporozoa furconculosa* en les identifiant comme étant des « spores ».
- En 1898, en Ouzbékistan, le médecin militaire Borovsky mentionna un protozoaire dans des prélèvements d'ulcère, sans en déterminer le statut taxonomique (Jarry, 1999).
- Le parasite *Leishmania* fut découvert par Sir William Leishman en 1900 dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à Dum-Dum (l'un des anciens noms de la leishmaniose viscérale) en Inde.
- Alors qu'il publiait ses résultats en 1903, Charles Donovan identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Ce parasite fut nommé *Leishmania donovani* en leur honneur et la forme amastigote du parasite est communément appelée Corps de Leishman-Donovan.
- Ce même parasite fut étudié en 1903 par Wright chez un enfant arménien vivant à Boston développant une lésion cutanée. Il fut considéré comme une microsporidie et reçut le nom de *Helcosoma tropicum*.
- La même année, les leishmanies sont également mises en évidence par Marchand dans la rate d'un sujet mort de kala-azar.
- La première culture fut obtenue par Nicolle et Sicre en 1908 (Jarry, 1999), ils comparèrent les organismes de la peau avec ceux de la rate découverts en 1903, et conclurent : «La presque identité au point de vue morphologique du parasite de Leishman-Donovan est de celui de Wright n'est pas contestable».
- La même année, Nicolle et Comte découvrent les mêmes protozoaires chez le chien, puis chez le cheval et le chat. Ils font ainsi de cette affection une maladie commune à l'Homme et aux autres mammifères et ouvrent la voie aux recherches épidémiologiques (Jarry, 1999).
- En 1921, les frères Sergent, chercheurs français travaillant à l'Institut Pasteur d'Alger, et leurs collaborateurs établissent le rôle de vecteurs des phlébotomes en réussissant la transmission du « Bouton d'Orient » par application de broyats de ces insectes sur des scarifications cutanées (Dedet, 2006).
- En 1941, l'école soviétique avec Latyshev et Krjukova, attire l'attention sur le rôle des rongeurs en tant que réservoirs de virus sauvages des leishmanioses.

- A partir de 1970, la caractérisation isoenzymatique qui a permis l'identification des différentes espèces responsables des leishmanioses cutanées, est devenue courante après la publication de l'O.M.S. (1982) sur le sujet.
- Les premiers cas de co-infection V.I.H./leishmanies sont signalés à partir de 1985 (Jarry, 1999).

1.3. Epidémiologie des leishmanioses

1.3.1. Formes cliniques

Les leishmanioses représentent un groupe de maladies d'expression clinique variée ayant des caractéristiques symptomatologiques communes : fièvre, abdomen volumineux, apathie généralisée, maux de tête et vertiges, perte de poids, transpiration abondante et diarrhée (Jebbouri, 2013).

Deux groupes de manifestations symptomatiques peuvent être décrits, l'un présentant la leishmaniose viscérale et l'autre regroupant les formes tégumentaires dans lesquelles le parasite reste localisé au niveau de la peau et des muqueuses. Celui-ci comprend les formes de leishmaniose cutanée, cutanée diffuse et mucocutanée dépendant de l'espèce de leishmanie en question (Estevez, 2009).

1.3.1.1. Leishmaniose cutanée

Autrefois connu sous le nom de " Bouton d'Orient ". En général, les caractéristiques cliniques de la leishmaniose cutanée ne sont pas uniformes dans toutes les régions ni même à l'intérieur d'une région donnée, par suite de différences touchant à l'espèce parasitaire ou aux types zoonotiques en cause (Djezzar-Mihoubi, 2006). Cette pathologie débute par l'apparition d'une ou de plusieurs lésions cutanées sur des parties découvertes du corps (visage, cou, bras et jambes) présentant, sur le site de piqûre, une papule prurigineuse. S'en suit une réaction inflammatoire avec une hyperplasie de l'épithélium et une nécrose du derme qui conduit à une ulcération (Dedet, 1999). Ces ulcères sont généralement circulaires avec des bords bien délimités qui ont une couleur violacée. Ils se recouvrent d'une mince croûte et évoluent vers une forme dite "humide" et/ou "sèche". Ces lésions, causées par *Leishmania tropica*, *Leishmania mexicana* et *Leishmania major* (Marc *et al.*, 2007), sont généralement indolores mais laissent après cicatrisation, de profondes cicatrices non pigmentées (Estevez, 2009). La

maladie prend plusieurs formes cliniques : leishmaniose cutanée localisée, leishmaniose cutanée diffuse (LCD), la plus difficile à traiter, et la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM), la forme la plus grave car elle produit des lésions défigurantes et des mutilations du visage.

1.3.1.1.1. Leishmaniose cutanée zoonotique

Elle est dite leishmaniose cutanée humide des zones rurales. Après une incubation courte, apparaît la lésion caractéristique : ulcération cutanée, à bords surélevés, avec une croûte centrale adhérente, indolore, de taille variable (habituellement de 1 à 4 cm de diamètre), d'évolution chronique (O.M.S., 1990). A côté de cette forme, la plus fréquente, s'observent les formes ulcéro-végétantes, verruqueuses et plus rarement lupoides (O.M.S., 1990). Les lésions peuvent se rencontrer sur une quelconque partie de la surface du corps, mais siègent en général sur les parties découvertes exposées au site de piqûre du phlébotome. Les formes cliniques multiples diffèrent d'un sujet à l'autre, d'une lésion à l'autre chez un même individu, selon la localisation sur le corps, d'une espèce à l'autre, d'un biotope à l'autre. Les lésions évoluent spontanément vers la guérison en 3 à 5 mois au prix d'importantes cicatrices disgracieuses ou invalidantes. Différentes appellations classiques ont été utilisées telles que Bouton d'Orient (Bassin méditerranéen), Clou de Biskra (Algérie), Bouton d'Alep (Syrie). Ces appellations ne correspondent à aucune réalité anatomo-clinique ou épidémiologique. La durée d'évolution de la leishmaniose cutanée zoonotique est habituellement courte. A l'heure actuelle, les souches isolées des régions d'endémies en Algérie sont toutes identiques à *Leishmania major* MON-25. L'animal réservoir est « le Rat des Sables » ou *Psammomys obesus*. Le vecteur de la LCZ est *Phlebotomus papatasi*. On estime son incidence à plus de 2000 nouveaux cas par an. Le diagnostic qui repose surtout sur la clinique et la confirmation, est apportée par la mise en évidence du parasite par microscopie, culture et par PCR.

1.3.1.1.2. Leishmaniose cutanée du Nord

Elle s'oppose à la leishmaniose cutanée zoonotique par de nombreux points. Sur le plan clinique, elle se présente sous forme d'une petite lésion unique, siégeant au niveau de la face, très inflammatoire, sans ulcération et sans croûte épaisse. Sa durée d'incubation est longue tout comme sa durée d'évolution (Belazzoug *et al.*, 1985). La leishmaniose cutanée du Nord nécessite souvent un traitement afin d'accélérer le processus de cicatrisation qui ne se

fait spontanément qu'au-delà d'un an. Les zymodèmes responsables de cette forme sont Mon-1, Mon-24, Mon-80, se trouvent toujours dans le complexe *infantum* (Harrat *et al.*, 1996). Izri et ses collaborateurs ont isolé, pour la première fois en 1993, l'agent pathogène, *L. infantum* zymodème Mon-24 chez *Phlebotomus perfiliewi* (Izri et Belazzoug, 1993). Le chien, principal réservoir de *L. infantum*, a été identifié récemment comme réservoir du Zymodème Mon-24 (Benikhlef *et al.*, 2004).

1.3.1.2. Leishmaniose viscérale

Appelée également Kala-Azar ou " Fièvre Noire " ou " Fièvre Dum-Dum " (Hide, 2004 ; Estevez, 2009). Elle affecte les organes internes en particulier la rate, le foie et la moelle osseuse (Clem, 2010), provoquant ainsi une hépatosplénomégalie (augmentation du volume du foie et de la rate), une distension abdominale sévère, une perte de poids importante et une anémie (Estevez, 2009 ; Sakthianandeswaren *et al.*, 2009). Si elle n'est pas traitée, la LV est presque toujours mortelle (Sakthianandeswaren *et al.*, 2009). La mort survient en général au bout de 6 mois à quelques années suivant la progression de l'infection.

Les parasites responsables sont *Leishmania donovani* et *Leishmania infantum*. Quant au diagnostic, il se fait par la recherche du parasite dans les organes profonds (Moelle osseuse, rate) et dans le sang par examen direct culture et PCR (O.M.S., 2010). Si le patient a la possibilité d'accéder à un traitement et de guérir, il est fréquent qu'il développe une leishmaniose cutanée post Kala-azar (ou PKDL : Post Kala-Azar Dermal Leishmaniasis). Cela se produit dans 30 à 40% des cas. Elle apparaît habituellement dans les 2 ans qui suivent la guérison complète de la forme viscérale, et commence avec l'apparition de taches sur la peau, semblables à des taches de rousseur.

1.3.1.2.1. Leishmaniose viscérale infantile

C'est la forme la plus fréquente dans le pourtour du bassin méditerranéen. Ce sont les jeunes enfants qui sont le plus souvent atteints. 92 % des patients atteints de LV ont moins de 5 ans. Suite à une piqûre d'un phlébotome (*Phlebotomus perniciosus*), les parasites migrent via le système sanguin et lymphatique vers les organes lymphoïdes tels que le foie, la rate et la moelle osseuse. *Leishmania infantum* zymodème MON-1 est le principal agent isolé chez les enfants atteints de leishmaniose viscérale ; il a pour réservoir le chien (Belazzoug, 1992). La période d'incubation est d'une durée variable mais prend

habituellement 2 à 4 mois (Dedet, 2009). Elle se manifeste par une hépato-splénomégalie avec une fièvre, une pancytopénie et une altération de l'état général (Dedet, 2009).

1.3.1.2.2. Leishmaniose viscérale de l'adulte

La leishmaniose viscérale est relativement rare chez l'adulte (Safi *et al.*, 1996). Elle se distingue par un tableau clinique beaucoup moins typique que celui de l'enfant (Aoun *et al.*, 2009). La splénomégalie peut être absente ou constituer le seul élément clinique, de même que les adénopathies (Desjeux, 2004). Son évolution spontanée est mortelle mais son pronostic reste bon si une thérapeutique adéquate est démarrée à temps (Desjeux, 2004).

1.3.1.3. Leishmaniose cutanéomuqueuse

Causée par *Leishmania braziliensis* (Marc *et al.*, 2007), elle est particulière à l'Amérique du Sud et Centrale, où elle est connue sous le nom de « Espundia ». En général, l'affection évolue en deux temps : une apparition d'ulcères cutanés totalement identiques à ceux présentés lors d'une LC. Finissant par cicatriser entre 6 mois et 1 an, suivie ou concomitante d'une seconde infection de la muqueuse nasale. Celle-ci pourra conduire à une destruction partielle ou étendue des muqueuses du nez, de la bouche ou de la gorge (Estevez, 2009).

1.3.1.4. Leishmaniose canine

La leishmaniose canine se caractérise par : des lésions dermatologiques, une lymphadénopathie localisée ou généralisée, des lésions oculaires, une épistaxis, une anémie, une insuffisance rénale, de la diarrhée. D'après Tulasne (2009), toute combinaison de symptômes étant possible. Cependant, deux symptômes sont fréquents chez le chien : l'abattement et l'amaigrissement (Louis, 2009). Les lésions et les signes cliniques se développent sur une période variant de quelque mois à plusieurs années suivant l'infection (Djerbouh *et al.*, 2005).

1.3.1.5. Co-infection *Leishmania*/V.I.H.

La co-infection *Leishmania*/V.I.H. est un problème sérieux qui touche en particulier le Sud-Ouest de l'Europe et l'Amérique du Sud (Sakthianandeswaren *et al.*, 2009). Depuis 1993, les régions endémiques de *Leishmania* se sont étendues considérablement. Cela est dû à deux facteurs déterminants, qui sont : Le développement économique dans les zones à risque et surtout l'augmentation de l'incidence des co-infections entre V.I.H. (Virus de l'Immunodéficience Humaine) et les leishmanioses, principalement la leishmaniose viscérale. Selon l'O.M.S., 2000 cas de co-infection ont été rapportés durant la période 1985-2000 sur le bassin Méditerranéen dont 90% se retrouvent surtout en Espagne, en Italie, en France et au Portugal (Acebey Castellon, 2007 ; Dedet, 2009).

La co-infection leishmaniose / Sida est une maladie extrêmement grave et de plus en plus fréquente, avec toutes les conséquences que cela impliquent tant sur le plan clinique, au niveau diagnostique, en chimiothérapie et sur le plan épidémiologique et économique. En effet, la séropositivité au V.I.H. provoque une immunodépression permettant d'avoir un terrain plus propice au développement des leishmanioses (Estevez, 2009).

1.3.1.5.1. Leishmaniose cutanée et Sida

La co-infection leishmaniose cutanée / Sida est beaucoup moins fréquente que la co-infection leishmaniose viscérale / Sida. Le premier cas déclaré de co-infection leishmaniose / Sida en Algérie a été rapporté par Ammar-Khodja en 1985 (Harrat et Belkaid, 2002). Il s'agit d'une leishmaniose cutanée étendue associée au Sida diagnostiquée chez un patient originaire de Bou Saada. Quelques années plus tard, trois cas de LC chez 3 immunodéprimés, dont un associé au Sida, ont été rapportés (Ammar-Khodja *et al.*, 1990). Pour les deux autres, l'un était un greffé rénal sous immunosuppresseurs et le deuxième étant un enfant immunodéprimé. Les manifestations cliniques sont des lésions graves extensives pouvant toucher les muqueuses et dont l'évolution est lente avec possibilités de récurrences.

1.3.1.5.2. Leishmaniose viscérale et Sida

Dans le bassin méditerranéen, la co-infection LV/Sida se rencontre principalement dans la tranche d'âge 31-50 ans et dans le groupe à risque des patients drogués par voie intraveineuse (plus de 70 % des cas) (Desjeux et Alvar, 2003).

La LV apparaît de plus en plus chez des patients immunodéprimés pour transplantation d'organe (foie et rein principalement), au point qu'une sérologie leishmanienne devrait être incluse dans le bilan prégreffe des sujets en zone endémique (Desjeux, 1999).

La plupart des patients co-infectés présentent un tableau de LV classique, avec principalement fièvre, hépatomégalie et/ou splénomégalie, hyper-gammaglobulinémie et pancytopenie. Mais des symptômes atypiques sont occasionnellement observés : symptômes cutanés, pulmonaires ou digestifs inhabituels, voire exceptionnels au cours de la LV de l'immunocompétent, et qui peuvent constituer le signal d'appel, ou même l'unique symptôme, de l'infection leishmanienne (Desjeux, 1999). Enfin, la LV contribue à aggraver l'évolution du Sida, par l'immunodépression additionnelle qu'elle provoque.

1.3.2. Répartition géographique

Largement répandues à la surface de la Terre, les leishmanioses possèdent une aire de répartition qui s'étend sur les cinq continents dans les zones tropicales et subtropicales de 88 pays : 16 sont des pays industrialisés et 72 des pays en développement, dont 13 parmi les pays les moins développés (O.M.S., 2010).

Selon l'O.M.S., 12 millions d'individus sont actuellement atteints de leishmaniose (Clem, 2010) et 2 millions de nouveaux cas sont répertoriés chaque année (O.M.S., 2010), avec une incidence d'environ 1,5 million de cas par an pour la LC et de 0,5 million de cas par an de LV dans 88 pays (W.H.O., 2000 ; Dedet, 2001 ; Croft et Yardley, 2002).

Les différentes formes, viscérales, cutanées ou cutanéomuqueuses, ont des territoires dont la délimitation dépend de facteurs intrinsèques liés aux espèces de parasite, de phlébotomes vecteurs et de mammifères réservoirs, mais également de facteurs extrinsèques, environnementaux (Dedet, 2001).

La mortalité attribuable à la leishmaniose dans le monde ne peut être estimée car, dans beaucoup de pays, la maladie n'est pas soumise à déclaration obligatoire ou, bien souvent, n'est pas diagnostiquée, surtout dans les endroits où il n'y a pas de médicaments. Dans certains cas, pour des raisons culturelles et faute d'accès au traitement, le taux de létalité est trois fois plus élevé chez les femmes que chez les hommes (O.M.S., 2010).

Le nombre de cas augmente principalement à cause de l'accroissement progressif de la transmission dans les villes, du déplacement de populations, de l'exposition de sujets non immuns, de la détérioration des conditions socio-économiques à la périphérie des villes, de la malnutrition (qui affaiblit le système immunitaire) et de l'infection concomitante par le V.I.H.

(O.M.S., 2010). D'après la même source, on peut résumer la répartition géographique des leishmanioses comme suit :

- Leishmaniose viscérale : foyers indien, méditerranéen, chinois, américain, africain.
- Leishmaniose cutanée : foyers méditerranéen, américain, africain.
- Leishmaniose cutanéomuqueuse : foyer américain.

1.3.2.1. Leishmaniose cutanée

• **Dans le monde :** 1 million à 1,5 million de cas de leishmaniose cutanée sont répertoriés dans le monde dont 90% des cas se trouvent dans 8 pays, 6 de l'Ancien Monde (Afghanistan, Algérie, Arabie Saoudite, Iran, Iraq et la Syrie) et 2 du Nouveau Monde (Brésil et Pérou) (Alvar *et al.*, 2012). La forme rurale humide de la leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde est répandue dans les zones sèches d'Afrique, au Nord de l'Equateur, au Moyen-Orient, en Asie Centrale jusqu'à l'Inde. La forme sèche urbaine n'est signalée que dans la Méditerranée Orientale et l'Asie Centrale (Keita, 2005).

En Algérie : Il existe deux entités nosoépidémiologiques distinctes : la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) due à *L. major* et la leishmaniose cutanée du Nord (LCN) due à *L. infantum* variant enzymatique (Harrat *et al.*, 1995).

-La LCZ ou « Clou de Biskra » sévit à l'état endémo-épidémique à l'étage bioclimatique aride et semi aride. Les foyers anciennement connus étant Biskra à l'Est et Abadla à l'Ouest (Harrat *et al.*, 1995). Cette forme cutanée connaît une véritable extension vers les hauts plateaux avec une survenue d'épidémie, en 1982 à M'sila (Belazzoug, 1982a) suivie d'une autre en 1985 à Ksar chellal (Tiaret) (Belazzoug, 1986a). Cependant, d'autres foyers sont apparus, notamment, ceux d'El Oued, Ghardaia, Bechar et Laghouat (Sud) et Batna, Médéa, Tiaret Borj Bou Ariridj (Nord).

-La LCN ou « Clou de Mila », sévit à l'état endémique le long du littoral et du Tell algérien et sa répartition géographique se confond avec celle de la leishmaniose viscérale (Harrat *et al.*, 1995). Les foyers les plus touchés sont : Tizi Ouzou, Ténès, Bordj Menaiel, Bouira, Béjaia, Constantine, Jijel, Mila, Meftah, Larbaa et Alger (Harrat *et al.*, 1995).

Au Maghreb, ces deux formes de leishmaniose cutanée existent en Tunisie et au Maroc, mais ces deux pays se distinguent de l'Algérie par une troisième forme : la forme anthroponotique, due à *L. tropica* (Aoun et Bouratbine, 2014). Cette pathologie se caractérise essentiellement par des lésions sèches, végétantes, et non croûteuses siégeant aussi bien à la

face qu'aux membres. Elle est causée principalement par *L. tropica* zymodème MON-8 et transmise par *Phlebotomus sergenti* (Ben Ismail et Ben Rachid, 1989).

Outre les deux formes de leishmaniose cutanée précitées, la leishmaniose cutanée chronique est une forme récemment décrite à Ghardaia, elle sévit de façon endémique et coexiste avec la LCZ à *L. major* dans le même foyer. L'agent causal est *L. killicki* et le vecteur prouvé est *P. sergenti* (Harrat *et al.*, 2009, Boubidi *et al.*, 2011 ; Garni *et al.*, 2014), et le réservoir suspecté est *Masoutierra mzabi*, rongeur assez abondant dans les collines entourant la vallée du M'zab.

1.3.2.2. Leishmaniose viscérale

- **Dans le monde :** L'O.M.S. déplore 500 000 cas de leishmaniose viscérale sur quatre continents, à travers 61 pays, mais 90% des cas se trouvent confinés au Bangladesh, au Brésil, en Inde, au Népal et au Soudan (Estevez, 2009 ; Vilela, 2008). De grandes épidémies meurtrières sont survenues ces dernières années en Inde : 300 000 cas, entre 1977 et 1980, dans l'Etat du Bihar avec 2 % de mortalité ; et 100 000 morts au Soudan, entre 1989 et 1994. Dans les 3 pays du Maghreb (Maroc, Algérie, Tunisie), elle se développe dans 95 % des cas chez des enfants de moins de 5 ans. Depuis les années 1980, la LV est une maladie opportuniste émergente dans le Sud-Ouest de l'Europe (Portugal, Espagne, France, Italie) (Marty *et al.*, 2009). La forme viscérale de la maladie est causée par différents complexes dont *L. donovani* dans le sub-continent indien et en Afrique de l'Est et *L. infantum* dans le bassin méditerranée (*L. infantum*) et dans le Nouveau Monde (*L. chagasi*) (Guerin *et al.*, 2002).

- **En Algérie :** Elle s'étend sur toute la partie Nord au niveau des étages bioclimatiques humide et sub-humide. Par ailleurs, de nombreux cas ont été signalés dans les régions semi arides et arides connues pour être des foyers de LCZ. En effet, 21 cas de LV ont été signalés par Belazzoug en 1986 à Biskra, foyer de LC, et d'autres cas sont également apparus dans le Hoggar et Tassili N'ajjar (Belkaid et Harrat, 1997). A coté des anciens foyers (Tizi Ouzou, Boumerdès, Médéa et l'Est de Constantine), de nouveaux cas sont apparus à Annaba et Collo (Est), Mitidja, la Chiffa, Chlef (Centre) et Tlemcen, Oran (Ouest) (Harrat *et al.*, 1995). La LV humaine pose un réel problème de santé publique en Algérie puisqu'on dénombre environ 400 nouveaux cas par an. Dans le foyer de Tizi Ouzou qui reste le plus actif dans le Maghreb, la maladie est responsable de 6% des décès (Djebouh *et al.*, 2005).

1.3.2.3. Leishmaniose cutanéomuqueuse

La répartition de la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM), est concentrée sur les pays de l'Amérique du Sud : Bolivie, Brésil, Pérou, Argentine, Colombie, Equateur, Paraguay et Venezuela (Vilela, 2008 ; Estevez, 2009 ; Djeddar-Mihoubi, 2006). Elle est causée principalement par différentes espèces de *Leishmania* : *L. (V.) braziliensis* (Desjeux *et al.*, 1987) et plus rarement par *L. (V.) panamensis* et *L. (V.) guyanensis*. Les phlébotomes vecteurs sont du genre *Lutzomyia* et *Psychodopygus*. Dans les pays andins, 14 000 cas de LC ont été signalés annuellement entre 1996 et 1998, et on estime le nombre de LCM à un millier par an (soit environ 7%). En Bolivie, où approximativement 2500 cas de LC, dus en grande majorité à *L. (V.) braziliensis*, sont officiellement rapportés chaque année, on estime qu'environ 2 à 5% des cas évoluent vers la forme muqueuse (Marty et Rosenthal, 2002).

1.3.2.4. Leishmaniose canine

- **Dans le monde** : Elle est répandue dans de nombreux pays, notamment en Italie, Espagne et au Portugal, pays dans lesquels pratiquement toutes les régions sont fortement contaminées (Djeddar-Mihoubi, 2006). En France, le premier cas de leishmaniose canine fut signalé à Marseille en 1913 par Pringault à partir de 50 chiens (Louis, 2009).
- **En Algérie** : La première observation sur la leishmaniose canine a été rapportée par Sergent et Sergent en 1910. Pendant cette année, 7,2 % des chiens étaient atteints cliniquement de signes leishmaniens. En suite, la fréquence de chiens malades augmente progressivement (1 % en 1911 et 1912 ; 2,6 % en 1913 ; 4,8 % en 1948 et 10,5 % en 1949 et 1950). L'infection est très rare dans le grand Sud ; les foyers les plus actifs se trouvent au Nord, dans les montagnes de Petite et Grande Kabylie. En 1987, une fréquence séropositive "record" de 37 % fut atteinte sur 120 chiens de la Commune d'Azazga en Grande Kabylie (Harrat et Belkaid, 2003). Le chien est le principal réservoir de la leishmaniose viscérale méditerranéenne à *Leishmania infantum*, ce qui explique la séroprévalence de la leishmaniose canine en 1995 (36,5 %) (Harrat *et al.*, 1995). Les zymodèmes MON -1, MON -34 et MON-77 de *Leishmania infantum* s'avèrent être les plus fréquents (Oudhia *et al.*, 2009).

2. Les protagonistes des leishmanioses

2.1. Le parasite

2.1.1. Classification

Les leishmanies sont des protozoaires flagellés, parasites dihéteroxyènes à deux hôtes obligatoires (Peters et Killick-Kendrick, 1987 in Marignac *et al.*, 2003). Le cycle évolutif de ces parasites nécessite l'alternance entre un hôte invertébré (insecte telmophage : les phlébotomes) et un hôte vertébré dans lequel les parasites sont essentiellement dans les leucocytes de la lignée phagocytaire du compartiment extra cellulaire (macrophages, leucocytes dendritiques) (Marignac *et al.*, 2003).

Ce parasite appartient au règne des *Protista*, sous-règne des *Protozoa*, embranchement des *Sarcomastigophora*, classe des *Zoomastigophorea* (Bañuls *et al.*, 2007 ; Rioux et Lanotte, 1993), ordre des *Kinetoplastida* (Bañuls *et al.*, 2007 ; Rioux et Lanotte, 1993), sous-ordre des *Trypanosomatina* (Quitterie *et al.*, 2005), famille des *Trypanosomatidae* (Bañuls *et al.*, 2007 ; Rioux et Lanotte, 1993), genre *Leishmania* (Hide, 2004 ; Marty *et al.*, 2009).

Il existe environ 17 espèces de *Leishmania* vectrice de pathologies anthropiques (Marc *et al.*, 2007). Le genre *Leishmania* regroupe diverses espèces et sous-genres d'importance vétérinaire et médicale dont la classification est encore en évolution (Rioux *et al.*, 1986b).

Bien qu'il n'y ait qu'un genre appelé *Leishmania*, on différencie deux sous-genres, *Leishmania* et *Viannia*, selon que le parasite se développe dans la partie centrale ou postérieure de l'intestin du vecteur respectivement (Samake, 2006). D'après Rioux et ses collaborateurs (1990), on regroupe habituellement les espèces de *Leishmania* en complexe selon la similarité biochimique de leurs iso enzymes (**Tab.1**).

Tableau 1 : Espèces et sous-espèces de *Leishmania* (D'après Robert et Janovy, 2000 in Boussaa, 2008).

Sous-genre	Complexe	Espèce	Localité
<i>Leishmania</i> (Ross, 1903)	<i>L. donovani</i>	<i>L. donovani</i> (Laveran et Mesnil, 1903)	Inde, Chine, Bangladesh
		<i>L. archibaldi</i> (Castellani et Chalmers, 1919)	Soudan, Ethiopie Centre Nord de l'Asie Nord-Ouest de la Chine
	<i>L. infantum</i>	<i>L. infantum</i> (Nicolle, 1908)	Moyen-Orient, Sud de l'Europe Nord-Ouest de l'Afrique
		<i>L. chagasi</i> (Cunha et Chags, 1937)	Amérique du Sud et Centrale
	<i>L. tropica</i>	<i>L. tropica</i> (Wright, 1903)	Milieus urbains du Moyen-Orient et de l'Inde
		<i>L. killicki</i> (Rioux, Lanotte et Pratlong, 1986)	Tunisie
	<i>L. major</i>	<i>L. major</i>	Afrique, Moyen-Orient Asie soviétique
	<i>L. gerbilli</i>	<i>L. gerbilli</i> (Wang, Qu et Guan, 1973)	Chine, Mongolie
	<i>L. arabica</i>	<i>L. arabica</i> (Peters, Elbihari et Evans, 1986)	Arabie Saoudite
	<i>L. aethiopica</i>	<i>L. aethiopica</i> (Bray, Ashford et Bray, 1973)	Ethiopie, Kenya
	<i>L. mexicana</i>	<i>L. mexicana</i> (Biagi, 1953)	Mexique, Belize, Guatemala, Centre et Sud des Etats-Unies
		<i>L. amazonensis</i> (Lainson et Shaw, 1972)	Bassin Amazonien, Brésil
		<i>L. venezuelensis</i> (Bonfante-Garrido, 1980)	Venezuela
	<i>L. enrietti</i>	<i>L. enrietti</i> (Muniz et Medina, 1948)	Brésil
	<i>L. hertigi</i>	<i>L. hertigi</i> (Herrer, 1971)	Panama, Costa Rica
<i>L. deanei</i> (Lainson et Shaw, 1977)		Brésil	
<i>Viannia</i> (Lainson et Shaw, 1987)	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. braziliensis</i> (Viannia, 1911)	Brésil
		<i>L. peruviana</i> (Velez, 1913)	Ouest des Andes
	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. guyanensis</i> (Floch, 1954)	Guyane Française, Guyane Surinam
	<i>L. panamensis</i> (Lainson et Shaw, 1972)	Panama, Costa Rica	

2.1.2. Morphologie

Le parasite *Leishmania* à un cycle de vie dimorphique (du à la double localisation du parasite, chez le vertébré et chez l'arthropode) qui se manifeste sous deux formes différentes : une forme immobile intramacrophagique : amastigote chez les hôtes vertébrés dont l'Homme et la forme mobile : promastigote libre dans l'intestin du phlébotome (Killick-Kendrick, 1981).

- **Les promastigotes** sont des parasites extracellulaires mobiles vivant dans le tube digestif du phlébotome. Ils présentent un corps plus ou moins fuselé de 5 à 20µm de longueur et de 1 à 4 µm de largeur prolongée par un flagelle qui peut atteindre jusqu'à 20µm de longueur et qui émerge de leur pôle antérieur (Louis, 2009). D'après le même auteur, dans ces formes parasitaires, le kinétoplaste, une partie spécialisée du compartiment mitochondrial qui contient l'ADN de cet organite, est situé entre le noyau et la base du flagelle.

- **Les amastigotes** (étymologiquement = sans flagelle), nichent à l'intérieur des macrophages de mammifères, au sein de vacuoles dites parasitophores. A ce stade, les leishmanies deviennent ovoïdes ou sphériques et mesurent 2 à 3 μm de diamètre (Samake, 2006). Contrairement à ce que leur nom pourrait conduire à penser, les amastigotes sont également munis d'un flagelle mais celui-ci est très court et ne dépasse pas le corps cellulaire. Le kinétoplaste de ces formes est plus souvent juxtanucléaire (Mazelet, 2004).

Les leishmanies ont donc la propriété de résister et de se multiplier (par scissiparité) dans la vacuole parasitophore du macrophage qu'elles distendent. Les dernières finissent par éclater, libérant les parasites qui pénètrent aussitôt dans de nouvelles cellules (Marc *et al.*, 2007). Cette faculté fondamentale d'échapper au système de défense de l'organisme est liée aux composants antigéniques de surface et en particulier : le lipophosphoglycane (LPG) et la glycoprotéine 63 (GP63) (Malé, 2001). D'après le même auteur, une autre protéine exprimée par les leishmanies a été récemment mise en évidence : celle-ci dénommée LACK, induit la production en grande quantité d'anticorps qui sont inefficaces vis-à-vis des leishmanies et ceci aux dépens de l'activation des macrophages qui seule pourrait éliminer le parasite (Glaichenhauss et Julia, 1996 *in* Malé, 2001).

Un troisième type connu sous le terme de **paramastigote**, et dont la position dans le cycle biologique des *Leishmania* n'est pas encore claire, a été identifié principalement au niveau du pharynx, l'intestin postérieur et rarement dans l'intestin médian des phlébotomes infectés. Ces stades sont ramassés, munis d'un flagelle court et montrent un kinétoplaste juxtanucléaire (Killick-Kendrick, 1985).

La morphologie de ces parasites, notamment celle de leur stade promastigote, et leur métabolisme sont d'ailleurs très sensibles aux paramètres environnementaux et à leurs variations tel : la température, le pH, l'osmolarité du milieu, la pression en O_2 et en CO_2 dont l'influence sur la forme parasitaire a été prouvée (Dedet, 2009). Parmi ces paramètres, le pH et la température semblent plus particulièrement importants et pourraient commander la mise en route de programme de différenciation (Antoine *et al.*, 1999).

2.1.3. Cycle de transmission

Les espèces de leishmanie diffèrent selon la virulence, les symptômes cliniques qu'elles causent, l'espèce vectrice ainsi que la répartition géographique. Cependant, toutes ont un cycle de vie similaire, constitué de deux phases :

2.1.3.1. Phase extracellulaire : développement chez l'insecte

Au cours du repas sanguin sur un mammifère infecté, le phlébotome femelle ingère des macrophages contenant des amastigotes qui se différencieront en promastigotes au bout de 24 heures. Ceux-ci se divisent activement sous une forme dite procyclique non infectieuse (24-48 heures après l'infection) puis, ils deviennent très fuselés et sont alors connus sous le nom de nectomonades. Vers le 3^{ème} jour après l'infection, les nectomonades vont se fixer aux microvillosités de l'intestin médian abdominal avant de migrer vers l'intestin médian thoracique (4-5 jours) (Estevez, 2009). A ce stade, deux voies de différenciation semblent empruntées. Certains nectomonades deviennent haptomonades ovalaires lesquels donnent origine aux paramastigotes dont le rôle exact n'est pas encore connu. D'autres nectomonades se transforment en promastigotes métacycliques, très infectieux, de forme allongée, flagellée et très mobiles, qui ne sont plus capables de se diviser. Migrant vers l'œsophage, le pharynx et le proboscis. Ils vont être injectés par l'insecte lors de son prochain repas sanguin. La différenciation des formes non infectieuses (procyclique) du stade promastigote de leishmanie en formes hautement infectieuses (métacycliques) dure entre cinq et sept jours (Acebey Castellon, 2007) (**Fig.1**). Le parasite, pour survivre dans le tube digestif du phlébotome, est capable de surmonter certains obstacles :

D'après Killick-Kendrick, (1985), l'association vecteurs-parasites semble spécifique. La susceptibilité ou la résistance d'une espèce de phlébotome donnée au développement d'un parasite en particulier semble dépendre de la capacité de celui-ci à surmonter certains obstacles tels les enzymes digestives de l'intestin médian, la membrane péritrophique entourant le repas sanguin ainsi que l'excrétion du contenu de l'intestin médian suite à la digestion (Sacks et Kamhawi, 2001 ; Jebbouri, 2013). Pour résister aux enzymes digestives de l'intestin médian, on a démontré l'importance de protéines contenant des phosphoglycane sécrétées par le parasite (PPG et une phosphatase acide). Ces protéines formeraient une matrice qui diminuerait la quantité des enzymes digestives et leur charge négative protégerait le parasite de leur effet hydrolysant. Le LPG à la surface du parasite jouerait également ce rôle. Et pour s'échapper à la membrane péritrophique composée de chitine entourant le repas sanguin, la leishmanie semblerait utiliser une chitinase. Et enfin, la leishmanie doit pouvoir s'attacher aux cellules épithéliales de l'intestin pour éviter d'être emportée avec le reste du repas sanguin. Cet attachement serait médié par une interaction entre le LPG et les cellules épithéliales de l'intestin (Quitterie *et al.*, 2005).

La salive du vecteur contribue directement aux interactions entre la leishmanie et la réponse immunitaire de l'hôte. L'action de la piqûre des phlébotomes est liée à la vaste gamme de substances pharmacologiques présentes dans leur salive, qui perturbent l'hémostase et la réponse immunitaire de l'hôte (Tulasne, 2009). Plusieurs études ont démontré que des homogénats de glandes salivaires avaient un pouvoir immunomodulateur, lorsque injectés de façon concomitante avec *Leishmania*, et permettaient l'augmentation de la taille de la lésion et/ou de la charge parasitaire (Quitterie *et al.*, 2005 ; Samake, 2006). En effet, ces molécules aux propriétés anti-coagulantes, anti-plaquettaires, vasodilatatrices, anti-inflammatoires et immunosuppressives augmentent la probabilité de survie du pathogène (Tulasne, 2009).

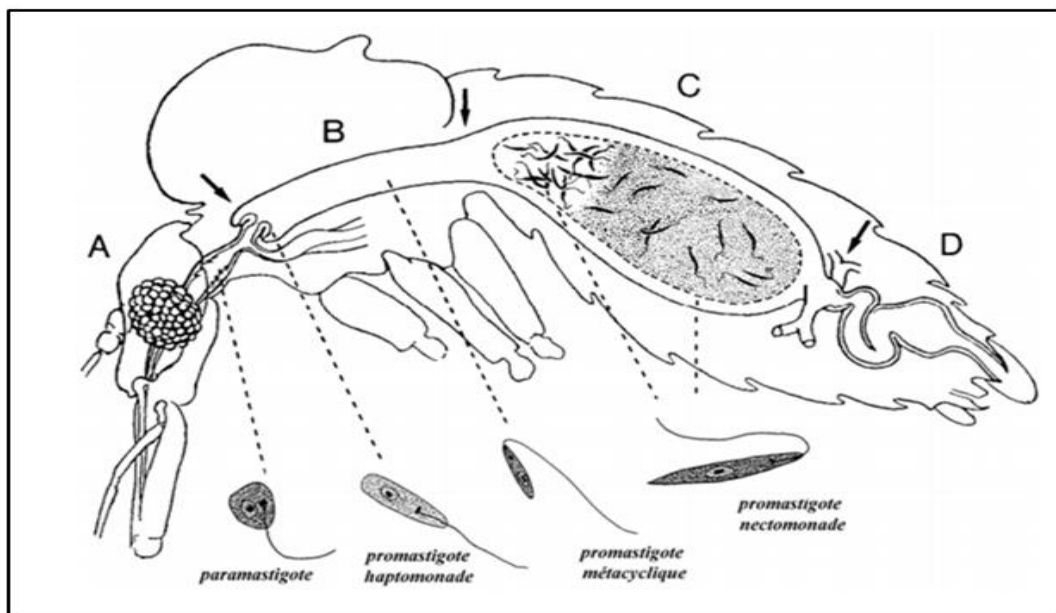


Figure 1: Processus de différenciation au niveau du tube digestif chez le vecteur
(D'après Schlein, 1993).

Tête et pharynx (A), intestin médian thoracique (B), intestin médian abdominal (C),
Intestin postérieur (D). Le sang (zone grise en C) est entouré par la membrane péritrophique.

2.1.3.2. Phase intracellulaire : développement chez l'hôte mammifère

Lorsqu'un phlébotome femelle infecté prend un repas sanguin chez un hôte mammifère, elle salive au site de piqûre et régurgite par la même occasion le parasite sous sa forme promastigote (Samake, 2006). Dans un premier temps, un signal émis par les promastigotes métacycliques permet aux macrophages dermiques de phagocyter les parasites.

Le compartiment abritant ces derniers va subir des modifications jusqu'à aboutir à la formation d'organites connus comme vacuoles parasitophores (VP) ou phagolysosome. A ce stade, les promastigotes vont se différencier en amastigotes adaptés à la vie intracellulaire. L'achèvement de ce processus requiert entre 3 à 7 jours (Acebey Castellon, 2007). D'après (Garlapati *et al.*, 1999), le changement de température (de 25°C à 37°C) et du pH (d'un pH physiologique à un pH aux environs de 5.0), induisent la différenciation en amastigotes. Les parasites, après différenciation, se divisent par fission binaire. Le cycle est complété lorsque l'insecte prend un repas sanguin au site d'infection et aspire des phagocytes contenant la leishmanie (**Fig.2**).

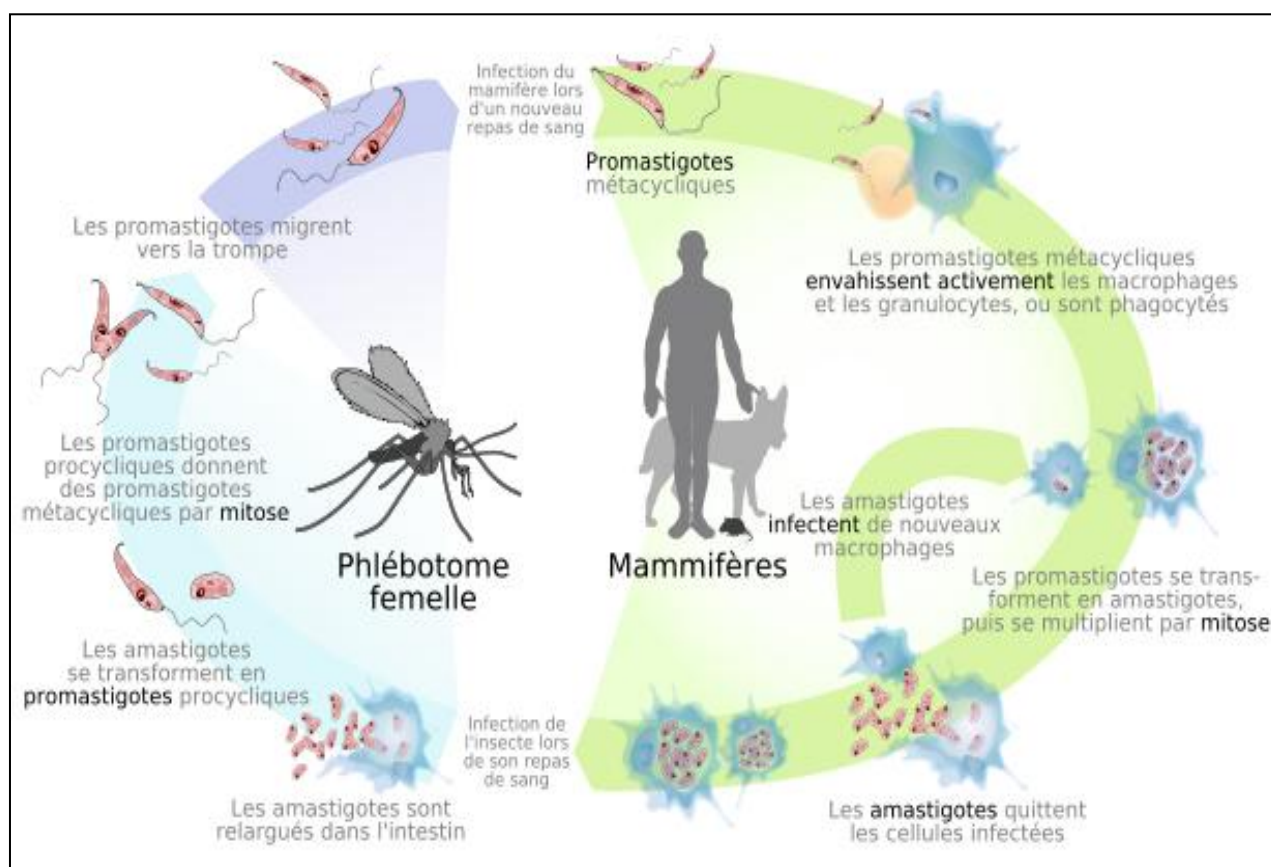


Figure 2: Schéma représentant le cycle d'infection des leishmanioses (www.actualité-pharmacie.com).

Il existe une spécification zoologique relativement étroite encore que non absolue, au niveau du couple leishmanie-phlébotome. Chaque espèce de leishmanie possède un spectre d'hôte relativement étroit de niveau générique, voir sub-générique (Léger et Depaquit, 2001) (**Tab.2**).

Tableau 2: Sous-genres et principales espèces de phlébotomes impliquées dans la transmission des diverses leishmanioses (D'après Léger et Depaquit, 2001).

Genre	Sous-genre	Espèces incriminées	Leishmanies
Phlebotomus (Ancien monde)	<i>Phlebotomus</i>	<i>papatasi</i> <i>dubosqi</i>	<i>L. major</i>
	<i>Paraphlebotomus</i>	<i>sergenti</i> <i>alexandri</i> <i>caucasicus (alexandri)</i>	<i>L. tropica</i> <i>L. donovani</i> <i>L. major</i>
	<i>Synphlebotomus</i>	<i>martini</i> <i>guggisbergi</i> <i>ansarii</i>	<i>L. donovani</i> <i>L. tropica</i> (<i>L. major</i>)
	<i>Larroussius</i>	<i>ariasi, langeroni,</i> <i>neglectus, perfiliewi,</i> <i>perniciosus, tobbi</i> <i>longipes, pedifer</i>	<i>L. infantum</i> <i>L. aethiopica</i>
	<i>Adlerius</i>	<i>Chinensis</i>	<i>L. infantum</i>
	<i>Euphlebotomus</i>	<i>zrgentipes</i>	<i>L. donovani</i>
	Lutzomyia (Nouveau monde)	<i>Lutzomyia</i>	<i>langipalpis</i> <i>diadolica</i>
<i>Nyssomyia</i>		<i>olmeca olmeca</i> <i>flaviscutrlata</i> <i>olmeca bicolor</i> <i>intermedia</i> <i>umbratilis, anduzei,</i> <i>whitmani</i> <i>trapidoi</i>	<i>L. mexicana</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. venezuelensis</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. uyanensis</i> <i>L. panamensis</i>
<i>Psychdopygus</i>		<i>wellcomei</i> <i>panamensis</i>	<i>L. braziliensis</i> (<i>L. panamensis</i>)
<i>Helcocyrtomyia</i>		<i>peruensis</i>	<i>L. peruviana</i>
<i>Pintomyia</i>		<i>pessoai</i>	<i>L. braziliensis</i>

Les voies de transmission secondaires, géographiquement limitées ou incertaines, sont entre parenthèses.

2.1.4. Techniques de détection et de mise en évidence des leishmanies

La mise en évidence des leishmanioses repose sur deux principales méthodes :

2.1.4.1. Méthodes directes

2.1.4.1.1. Examen direct

Consiste à identifier directement, à l'aide d'un microscope optique, le corps de la leishmanie sous la forme amastigote dans des prélèvements de macrophages sur frottis colorés au May-Grünwald-Giemsa (MGG) (Quitterie *et al.*, 2005). Le succès du test est observé dans

50 % des cas (Samake, 2006). Les formes amastigotes sont, soit contenues dans les cellules histiocytaires, soit extracellulaires. On y reconnaîtra le noyau de couleur pourpre et le kinétoplaste juxta nucléaire plus foncé (**Fig.3**). Il est parfois possible de trouver des amastigotes dans le sang (Djezzar-Mihoubi, 2006).

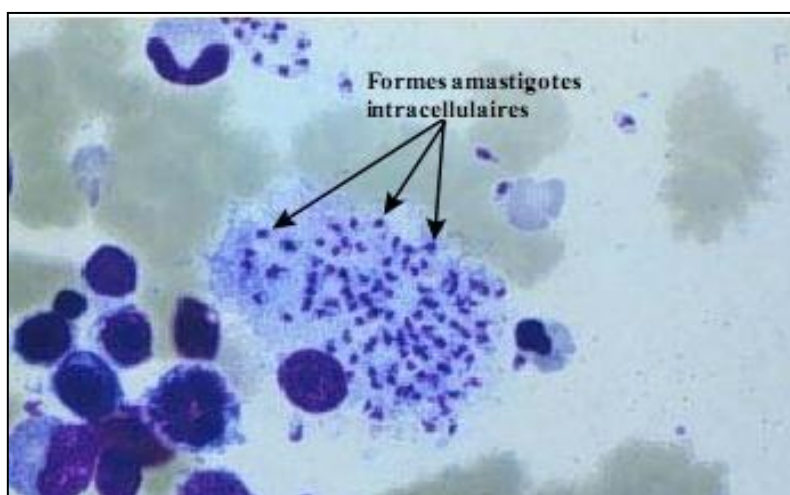


Figure 3: Exemple de visualisation des leishmanies sur un prélèvement coloré au MGG
(D'après Quitterie *et al.*, 2005).

L'identification repose sur des critères de taille et de forme (Quitterie *et al.*, 2005). Les parasites apparaissent sous forme amastigote, en général intracellulaires à l'intérieur de monocytes, mais de nombreux parasites extracellulaires sont vus sur les frottis, car les cellules sont souvent éclatées, en particulier de lésions cutanées (Dedet, 2009). Les leishmanies apparaissent comme des cellules ovoïdes ou ellipsoïdes de taille variable (2 à 6 μm), avec un cytoplasme bleu pâle, un noyau arrondi de couleur rouge pourpre et un kinétoplaste en forme de bâtonnet de couleur violette (Quitterie *et al.*, 2005).

2.1.4.1.2. Mise en culture

Elle a pour but de révéler la présence des parasites et augmenter leur nombre, car l'identification des amastigotes au microscope n'est pas toujours possible. Le prélèvement peut être ensemencé en culture, sur gélose au sang (milieu Novy-MacNeal-Nicolle [NNN]), gélose au sang de lapin, dans lequel se développent les formes promastigotes (**Fig.4**) (Quitterie *et al.*, 2005). D'autres milieux peuvent être utilisés tels que les milieux d'Evans, de Tobie, de Schneider et le RPMI qui donne d'excellents résultats avec un minimum de

risque de contamination (Djezzar-Mihoubi, 2006). Pour les isolats de *L. infantum*, le milieu de sérum de lapin, facile à préparer, donne de bons résultats (Belkaid *et al.*, 1996). Tous ces milieux sont additionnés d'antibiotiques : pénicilline streptomycine ou pénicilline-gentamycine et exceptionnellement d'antifongiques, la 5-fluorocytosine (Bachi, 2001). L'incubation se fait à 24-26 °C. La culture est lente et nécessite cinq repiquages à une semaine d'intervalle avant de conclure à une négativité. Le parasite est, en culture, sous forme promastigote flagellée et mobile (Dedet, 2009).

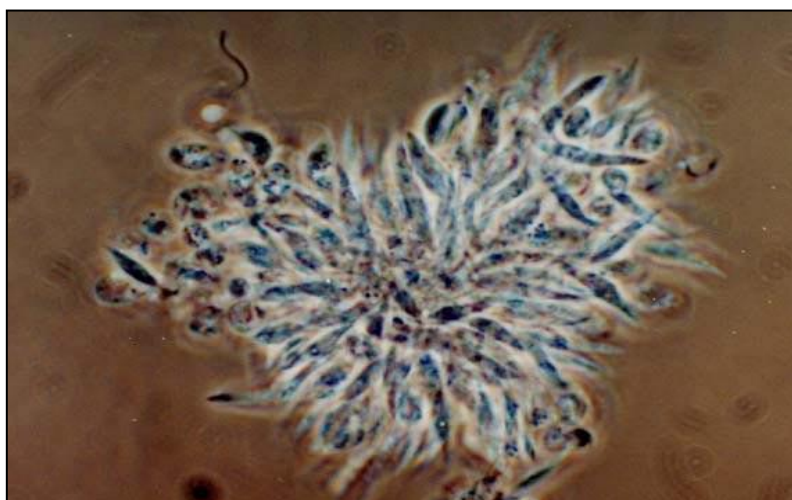


Figure 4: Rosette de promastigotes procycliques en culture
(Observation au microscope à l'objectif x 1000) (D'après U.M.V.F., 2014).

2.1.4.1.3. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Devenue un outil quasi universel dans le domaine de la biologie, la PCR est une technique rapide de biologie moléculaire permettant d'obtenir d'un échantillon complexe et peu abondant, de l'ADN en quantité suffisante (Cortes *et al.*, 2004). Cette méthode utilise le principe de l'amplification in vitro de séquences d'ADN définies. En quelques heures, on peut obtenir jusqu'à un million de copies d'une séquence d'ADN spécifique. En 1985, Kary Mullis mit au point la technique de la PCR et pût la commercialiser grâce à la découverte d'une enzyme thermostable appelée « Taq polymérase ». Le rôle de l'enzyme est d'obtenir un brin complémentaire d'ADN grâce à sa capacité de ne pas se dénaturer lorsque les températures sont élevées (Bisco, 2011). Cette méthode est généralement plus sensible que les méthodes sérologiques, pouvant détecter la présence d'un seul parasite (Acebey Castellon, 2007). Cette

méthode est la plus courante pour le diagnostic spécifique de l'espèce de la leishmaniose, facilitant ainsi le choix du traitement approprié.

2.1.4.1.3.1. PCR séquençage

L'intérêt de cette approche, utilisée pour la première fois par Croan et ses collaborateurs (1997), est d'utiliser des amorces « universelles », valables pour toutes les espèces du genre *Leishmania*. Elle fait appel aux techniques d'amplification génétique et de séquençage basés sur l'analyse du polymorphisme nucléotidique d'une région de 1265 pb du gène de la RNA polymérase II.

2.1.4.1.3.2. PCR en Temps Réel

La technologie de PCR en temps réel est basée sur la détection et la quantification d'un reporter fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction de PCR. Étant donné qu'elle utilise généralement des systèmes en tubes fermés et que la quantification ne requiert aucune manipulation post amplification, les problèmes de contamination post-PCR par les amplicons sont significativement réduits. Le processus complet est automatisé du début à la fin rendant cette technologie très performante pour des applications d'analyses à grande échelle (Poitras et Houde, 2002). La PCR consiste en une succession cyclique de 3 étapes :

- 1ère étape : dénaturation thermique de l'ADN $\approx 94^{\circ}\text{C}$ ($>T_m$ de l'ADN). On sépare par la chaleur les 2 brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogène. L'ADN passe sous forme de simple brin et les 2 brins peuvent alors servir de matrice.
- 2ème étape : hybridation des amorces ≈ 45 à 65°C ($<T_m$ des amorces). Les amorces, en large excès, s'hybrident à tout ADN comportant la séquence complémentaire.
- 3ème étape : élongation (ou extension) des amorces $\approx 72^{\circ}\text{C}$. L'ADN polymérase (Taq polymérase) allonge les amorces en incorporant des dNTP complémentaires de la séquence de la matrice à laquelle elle est hybridée. La synthèse se fait dans le sens 5' 3'.

Le développement de la PCR quantitative en temps réel a éliminé les variabilités traditionnelles associées à la PCR quantitative et permet la quantification du produit de la PCR de façon fiable et routinière.

Plusieurs instruments de PCR en temps réel sont présents sur le marché. Ces appareils utilisent généralement un système en tubes fermés et la quantification ne requiert aucune

manipulation post amplification, ce qui minimise ou élimine les problèmes de contamination par les amplicons suite à la réaction de PCR et réduit le temps d'analyse. Le processus complet est donc automatisé du début à la fin rendant ainsi cette technologie intéressante pour des applications d'analyses à grande échelle. Tous les systèmes de PCR en temps réel reposent donc sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification et l'augmentation du signal d'émission fluorescente est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits durant la réaction. Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à l'ADN double brin (ex. SYBR Green I) et les sondes fluorescentes. Les molécules qui se lient à l'ADN double brin peuvent être divisées en deux classes: les agents intercalants comme le SYBR Green I et les agents se fixant au sillon mineur comme le Hoeschst 33258. Leur émission fluorescente augmente lorsqu'ils sont liés à l'ADN double brin. Pour être utilisés dans une réaction de PCR en temps réel, ces agents doivent rencontrer deux exigences : augmenter en fluorescence une fois liés à l'ADN double brin et ne pas inhiber la réaction de PCR. Le SYBR Green I, est l'agent le plus fréquemment utilisé. Ses avantages sont qu'il est économique, facile à utiliser et possède plus de sensibilité que d'autres agents sans inhiber la réaction d'amplification. Durant l'étape d'élongation, une augmentation de la fluorescence est associée à la quantité de colorant se fixant à l'ADN double brin naissant. Lorsque suivi en temps réel, l'augmentation du signal de fluorescence est observée pendant l'étape de polymérisation et l'émission fluorescente décroît complètement lorsque l'ADN est dénaturé à l'étape suivante. Conséquemment, l'émission de fluorescence est mesurée à la fin de chaque étape d'élongation pour chacun des cycles par un système de lecture intégré à l'appareil de PCR en temps réel qui permet de suivre l'augmentation de la quantité d'ADN amplifié durant la réaction. La technologie basée sur le SYBR Green I ne nécessite aucune sonde fluorescente mais sa spécificité repose entièrement sur ses amorces. Étant donné que le SYBR Green I se fixe à n'importe quelle molécule d'ADN double brin, cette technologie présente une certaine versatilité puisque le même agent peut être utilisé pour détecter plus d'un produit d'amplification dans la même séquence réactionnelle (Poitras et Houde, 2002).

L'intensité de la fluorescence à chaque cycle est proportionnelle à la concentration d'amplicons, le cycle seuil (Ct) représente le nombre de cycle requis où le signal d'émission de fluorescence est statistiquement et significativement plus élevé que la ligne de base (Poitras et Houde, 2002). Les avantages de la PCR en temps réel se résument comme suit:

- Elle évite la phase post-PCR, c'est-à-dire la migration sur gel d'agarose, donc elle est plus rapide.

- La technique est automatisée : la plupart des calculs sont rendus par l'ordinateur après traitement informatique des données sous forme de courbe.
- Elle limite les risques de dissémination de l'ADN et des contaminations.
- Elle permet une évaluation quantitative de l'ADN contenu dans les prélèvements qui a un intérêt pour le suivi de la maladie.
- Le rendement de la PCR en comparaison à celui de l'examen direct, de la myéloculture et de la sérologie a été comparé par Piarroux *et al.*, (1994) pour le diagnostic de la *leishmaniose viscérale chez les immunodéprimés. Il en résulte que le pourcentage de sensibilité de la PCR est de 80% par rapport à celui du myélogramme et de la myéloculture (55% respectivement).

2.1.4.1.4. Mise en évidence des leishmanies à partir du vecteur

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 parasitologiques est empirique et est souvent remise en cause face à la complexité des cycles évolutifs des parasites (Boussaa, 2008). La dissection des phlébotomes femelles et l'examen microscopique des organes susceptibles d'héberger des leishmanies restent la méthode classique de référence. Le diagnostic s'effectue alors qu'après la localisation des parasites chez le vecteur. Il permet uniquement de reconnaître différents sous-genres et les infections intestinales ne peuvent être identifiées. Ceci constitue une limite considérable pour les recherches sur l'épidémiologie des leishmanioses (Bencherif, 2010).

Cette technique, qui s'applique obligatoirement sur des phlébotomes vivants, s'effectue généralement sur le terrain. Pour cela, un bec Bunsen est utilisé afin d'assurer une sphère stérile dans laquelle les travaux peuvent être réalisés (Niang, 1992). L'agitation du tube contenant le phlébotome vivant et quelques centimètres cubes d'eau physiologique permet de débarrasser l'insecte d'une grande partie de ses soies. Le phlébotome est ensuite placé sur une lame dans une goutte d'eau physiologique ou de solution de Ringer (Vattier-Bernard, 1970, Niang, 1992). Pattes et tête sont enlevées avec deux aiguilles très fines, utilisées également pour le maintien du thorax et l'incision de l'abdomen entre le 7^{ème} et le 8^{ème} segment (**Fig.5**) (Lawyer *et al.*, 2011 in Armed Forces Pest Management Board, 2015). Estomac, intestin postérieur et tout l'appareil génital sont ainsi dégagés. Les ovaires sont ensuite dilacérés, couverts d'une lamelle, puis examinés au microscope. Afin de déterminer

les flagellés parasites contenus dans l'intestin postérieur et notamment dans l'ampoule rectale, une série d'étalements s'impose : l'ampoule rectale est isolée sur une lame, dans une goutte d'eau physiologique ou de solution de Ringer. Elle est ensuite ouverte avec des aiguilles très fines et dilacérée afin de permettre l'éparpillement des parasites. Une fois séchée, les frottis sont fixés avec de l'alcool méthylique absolu pendant une minute. Après fixation, les lames s'imprègnent pendant 45 minutes dans le colorant de Romanowski. Après lavage à l'eau ordinaire, les lames sont séchées à l'air avant l'examen microscopique (Vattier-Bernard, 1970).

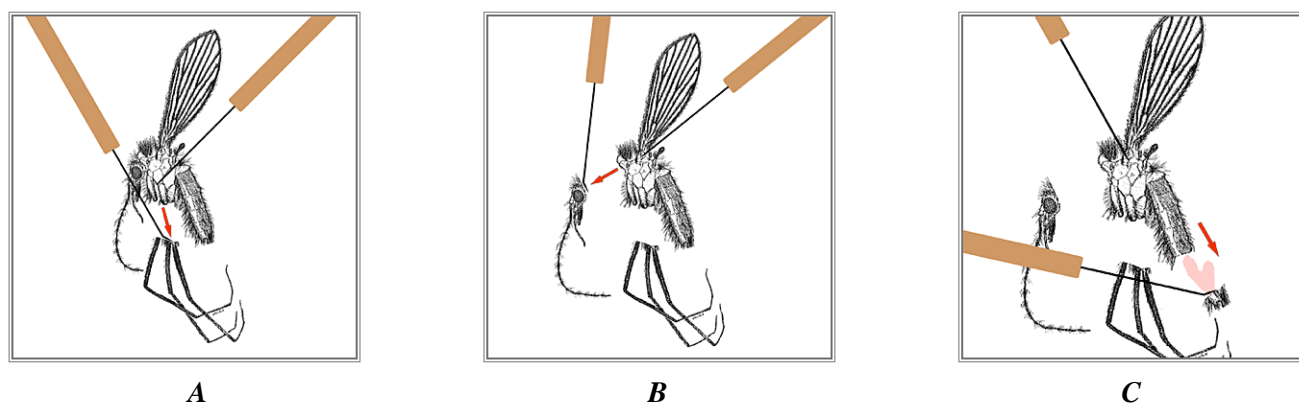


Figure 5 : Dissection de phlébotome femelle pour la détection de promastigotes (D'après El-Hossary, 2006 in Armed Forces Pest Management Board, 2015). (Enlèvement des pattes (A) ; de la tête (B) ; inscision de l'abdomen (C)).

2.1.4.1.5. Spectrométrie de masse de type MALDI-TOF

Depuis le développement de la spectrométrie de masse (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS) en 1988, celle-ci a connu un essor considérable dans le domaine de la biologie et elle tente d'émerger pour l'identification des microorganismes en s'appliquant aux bactéries, aux champignons unicellulaires (Jiang Qian *et al.*, 2008 in Moussaoui *et al.*, 2009) et filamenteux (Kallow *et al.*, 2006 in Moussaoui *et al.*, 2009). Les applications de cette technique sont très vastes et concernent principalement l'identification de peptides ou de protéines, l'analyse de leur séquence en acides aminés ou encore la mise en évidence de modifications post-traductionnelles (Carbonnelle et Nassif, 2012). Récemment, l'efficacité de cette technique pour l'identification « rapide » des espèces de leishmanies a été prouvée par Mouri, Cassagne et leurs collaborateurs (2014).

Le principe général de la spectrométrie de masse repose sur la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). Ceci donne lieu à la caractérisation sous forme d'un « spectre » des masses moléculaires des différents composés présents dans un échantillon. Pour aboutir à ce spectre, la transformation de molécules (de l'état naturel à celui d'ions au cours d'un processus de désorption-ionisation) est nécessaire.

Une fois l'échantillon séché sur la plaque cible, il est recouvert par la matrice (adaptée au type d'analyse), grâce à laquelle l'ensemble cristallise à température ambiante lors de l'évaporation des solvants contenus dans le mélange (processus de co-cristallisation). La matrice, qui est choisie pour absorber à la longueur d'onde du laser (λ : 337 nm), absorbe l'énergie photonique de celui-ci. L'étape suivante, appelée désorption, correspond à l'expansion en phase gazeuse du mélange matrice-échantillon et s'explique par le fait que l'énergie absorbée par la matrice provoque la rupture des liaisons intermoléculaires à l'origine de la cohésion du cristal. Les molécules présentes dans l'échantillon sont ensuite transformées en ions au cours du processus d'ionisation, qui se fait par transfert de protons H^+ (formation d'ions positifs) ou d'électrons (formation d'ions négatifs) provenant de la matrice ionisée vers les molécules de l'échantillon. Une fois formés, ces ions de masse et de charges différentes soumis à un champ électrique, « volent » ensuite jusqu'à un détecteur situé à l'extrémité du tube de vol et la distance parcourue en un temps donné (« Time-Of-Flight ») est fonction du rapport de leur masse sur la charge (m/z). Le temps de vol des ions est inversement proportionnel à leur masse. Ainsi les ions ayant une masse élevée atteindront le détecteur moins rapidement que les ions ayant une masse plus faible. Leur arrivée au bout du tube de vol est détectée et enregistrée par un multiplicateur d'électrons et le signal obtenu est traité informatiquement.

Chaque molécule détectée est caractérisée par : la masse moléculaire (m), la charge (z), le rapport masse/charge (m/z) et l'intensité relative du signal. Les informations essentielles utilisées pour l'identification sont donc contenues dans une liste de pics contenant les rapports (m/z) et les intensités relatives de chaque pic, l'ensemble de ces données caractérisant l'empreinte spectrale de l'échantillon.

2.1.4.2. Méthodes indirectes

2.1.4.2.1. Méthodes sérologiques

Elles sont basées sur l'identification des anticorps sériques. On utilise principalement trois tests : Le test Elisa (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) et le test d'Immunofluorescence (IFAT), sont les plus sensibles et spécifiques surtout en ce qui concerne la leishmaniose viscérale. Quant au test d'Agglutination Directe (DAT) (Acebey Castellon, 2007), il est recommandé pour un usage dans le diagnostic de la LV dans les centres de santé primaire en Inde (Dedet, 2009).

2.1.4.2.2. Méthodes biochimiques des isoenzymes

Impossible à distinguer morphologiquement, les leishmanies sont identifiées depuis une quinzaine d'années par l'analyse biochimique des isoenzymes. En dépit de son ancienneté, cette technique reste une référence reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé, surtout qu'elle permet à la fois des synthèses taxonomiques et l'étude des foyers naturels d'infection. Elle fait appel à deux techniques : l'électrophorèse en gel épais d'amidon utilisant 15 systèmes enzymatiques et l'isoélectrofocalisation (Rioux *et al.*, 1990). Cette technique malgré son ancienneté (24 années de pratique, plus de 4 600 souches identifiées), reste une technique de référence reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé.

En pratique, les protéines extraites sont préparées à partir de cultures en masse de promastigotes. Les isoenzymes sont séparées sous forme d'électromorphes après électrophorèse sur gel d'amidon avec les quinze systèmes enzymatiques. Les enzymes utilisées sont les suivantes : malate déshydrogénase : MDH, EC 1.1.1.37 ; enzyme malique : ME, EC 1.1.1.40 ; isocitrate déshydrogénase : ICD, EC 1.1.1.42 ; 6-phosphogluconate déshydrogénase : PGD, EC 1.1.1.44 ; glucose-6-phosphate déshydrogénase : G6PD, EC 1.1.1.49 ; glutamate déshydrogénase : GLUD, EC 1.4.1.3. ; NADH diaphorase : DIA, EC 1.6.2.2. ; purine nucléoside phosphorylase : NP 1, EC 2.4.2.1. ; purine nucléoside phosphorylase : NP 2, EC 2.4.2.* ; glutamate-oxaloacétate transaminase : GOT 1, EC 2.6.1.1. ; glutamate-oxaloacétate transaminase : GOT 2, EC 2.6.1.1. ; phosphoglucomutase : PGM EC 5.4.2.2. ; fumarate hydratase : FH, EC 4.2.1.2. ; mannose phosphate isomérase : MPI, EC 5.3.1.8. ; glucose phosphate isomérase : GPI, EC 5.3.1.9.

Après électrophorèse, les enzymes contenues dans les extraits protéiniques sont révélées par une « tâche colorée » appelée électromorphe. Celui-ci correspond à la distance parcourue par

l'enzyme dans un gel d'amidon à un pH déterminé. Dans le cas des déshydrogénases, le produit de la réaction colorée est un précipité bleu de formazan. Le zymodème est établi après obtention de 15 électromorphes correspondant aux 15 isoenzymes utilisées. On définit par zymodème, l'ensemble des souches présentant le même profil enzymatique.

2.2. Le vecteur

2.2.1. Caractères généraux

Les phlébotomes sont des diptères, hématophages et nématocères (antennes composées de 16 articles), reconnus comme étant les seuls vecteurs capables d'assurer l'évolution normale des leishmanies. Aucun autre arthropode hématophage ne peut se prévaloir de cette aptitude. Ce sont le seul agent inoculateur de la maladie, puisque la focalisation de ces infections dépend étroitement de la distribution de ces insectes (Boussaa, 2008). En plus des leishmanioses, les phlébotomes transmettent également la bartonellose et plusieurs arboviroses (Boulouis *et al.*, 2008).

Rencontrés sur tous les continents, ces insectes ne dépassent pas certaines latitudes. D'après Depaquit et ses collaborateurs (2002), les phlébotomes n'ont pas été signalés dans les pays Nordiques, très rares en Amérique du Nord, peu abondants en Australie, abondants dans les zones tropicales et équatoriales de l'Afrique, de l'Amérique orientale et de la Province Malaise. Ils sont également fréquents dans le bassin méditerranéen et en Afrique du Nord (Louis, 2009).

2.2.2. Systématique

Les phlébotomes sont des Eucaryotes Métazoaires, appartenant à l'embranchement des Arthropodes, classe des Insectes, ordre des Diptères, sous-ordre des Nématocères (Mazelet, 2004). Près de 800 espèces sont actuellement décrites, retraçant de nombreux travaux d'alpha taxinomie qui ont débuté au 18^{ème} siècle par la description de *Phlebotomus papatasi* Scopoli 1786 (Bounamous, 2010).

- En 1943, Rondani établit une liste dont laquelle Walker (1851) a groupé les espèces de phlébotomes dans la famille des *Phlebotomidae* (Bounamous, 2010).
- Plus tard, Kertész (1903) distingue et classe les sous-familles : *Psychodinae* et *Phlebotominae*, qu'il groupe dans la famille des *Psychodidae* (Bounamous, 2010).

- Franca et Parrot (1920) ont ensuite subdivisés le genre *Phlebotomus* en cinq sous-genres: *Phlebotomus*, *Paraphlebotomus*, *Brumptomyia*, *Lutzia* (= *Lutzomyia*) et *Sergentomyia*.
- En se basant sur la variabilité morphologique de l'armature buccale (cibarium), du pharynx et des spermathèques des femelles, Theodor (1948) a divisé la sous-famille des *Phlebotominae* en quatre genres, *Phlebotomus*, et *Sergentomyia* dans l'Ancien Monde ; *Lutzomyia*, *Brumptomyia* et *Warileya* dans le Nouveau Monde.
- En 1966, Perfiliew regroupe tous les phlébotomes dans la famille des *Phlebotomidae* et crée la super-famille des *Psychodidae*.
- Quelques années plus tard (1973), Lewis reconnaît la famille des *Phlebotomidae*.
- Abonnenc et Léger (1976) proposent ensuite une nouvelle classification dans laquelle la famille des *Phlebotomidae* (Walker, 1848) est divisée en trois sous-familles et 10 genres :
 - * la sous-famille des *Neophlebotominae* qui compte 4 genres : *Grassomyia* (Theodor, 1958), *Parvidens* (Theodor et Mesghali, 1964), *Brumptomyia* (Franca et Parrot, 1921) et *Lutzomyia* (Franca, 1921) (Bounamous, 2010).
 - * la sous-famille des *Disphlebotominae* avec deux genres: *Warileya* (Hertig, 1948) et *Hertigia* (Fairchild, 1949) (Bounamous, 2010).
 - * la sous-famille des *Euphlebotominae* qui comprend 4 genres : *Spelaeophlebotomus* (Theodor, 1948), *Idiophlebotomus* (Quate et Fairchild, 1961), *Phlebotomus* (Rondani, 1843) et *Sergentomyia* (Franca et Parrot, 1921) (Bounamous, 2010).

Parmi ces derniers, seuls les genres *Phlebotomus* et *Sergentomyia* sont présents dans la région méditerranéenne. Ils comportent chacun quatre sous-genres (Bounamous, 2010).

Le genre *Phlebotomus*, qui prédomine dans l'Ancien Monde (Sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie) (Quitterie *et al.*, 2005 ; Samake, 2006 ; Dedet, 2009 ; Estevez, 2009), se distingue par les caractéristiques morphologiques suivantes : soies des tergites abdominaux toutes dressées, armature cibariale absente ou rudimentaire, spermathèques complètement ou incomplètement segmentées et style des génitalia comportant 4 à 5 épines (Rondani, 1843 *in* Abonnenc, 1972).

Quant au genre *Sergentomyia*, qui prédomine dans le Nouveau Monde (Amérique du Nord, du Sud et Centrale) (Quitterie *et al.*, 2005 ; Samake, 2006 ; Dedet, 2009 ; Estevez, 2009), se caractérise par des soies abdominales couchées dans la plupart des espèces (quelques unes sont dressées dans un sous-genre), armature cibariale bien développée, spermathèques tubulaires, capsuliformes ou segmentées, style des génitalia des mâles à quatre longues épines et une petite soie sur le côté interne (França et Parrot, 1921 *in* Abonnenc, 1972).

Comme pour beaucoup de groupes, la systématique des phlébotomes est typologique, sans argumentation phylogénétique jusqu'à la publication de nouvelles approches phylogénétiques qui ont complété les travaux de Rispaïl et Léger (1998a, 1998b), de Galati (1990), de Depaquit *et al.*, (1998) et de Aransay *et al.*, (2000). Il faut noter que les caractères habituellement utilisés pour les identifications (appareil génital, soies thoraciques, dents cibariales, dents du pharynx, nervation alaire, soies antennaires) sont d'utilisation difficile. Approche pour laquelle d'autres caractères doivent être privilégiés (thoraciques, céphaliques, abdominaux) ainsi que des caractères moléculaires dont le rythme de mutation est lent (Bounamous, 2010).

Outre l'approche morphologique et moléculaire, de nouveaux outils d'identification sont désormais utilisés telle la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF. Des travaux récents ont montré que cet outil, qui permet de caractériser un échantillon à partir du spectre de masse moléculaire des différentes protéines présentes, pouvait permettre d'identifier des spécimens d'arthropodes vecteurs au niveau de l'espèce voire infra-spécifique (C.N.E.V., 2014). Cet outil, présentant de nombreux avantages en termes de coût, de rapidité d'analyse, et ne nécessitant pas de compétences particulières en taxonomie. Il est cependant nécessaire de disposer d'une banque de spectres des espèces qui pourront ainsi être identifiées. A l'instar des tiques (Karger *et al.*, 2012 ; Yssouf *et al.*, 2013b in C.N.E.V., 2014), des cératopogonidés (Kaufmann *et al.*, 2011, 2012a, 2012b ; Steinmann *et al.*, 2013 in C.N.E.V., 2014), des glossines (Hoppenheit *et al.*, 2013 in C.N.E.V., 2014) et des moustiques (Steinmann *et al.*, 2013 ; Müller *et al.*, 2013 ; Yssouf *et al.*, 2013a in C.N.E.V., 2014), l'efficacité du MALDI-TOF a pu être prouvée récemment sur les phlébotomes dont le profilage de protéine représente un premier pas vers l'établissement d'une base de données de spectres de protéines qui permettrait l'identification rapide et fiable des espèces de phlébotomes (Dvorak *et al.*, 2014).

2.2.3. Morphologie

Ces insectes présentent un corps grêle et allongé de petite taille, de 1 à 3 mm de long (Lewis, 1973), couvert d'une vestiture épaisse qui lui permet un vol silencieux (Léger et Depaquit, 2001). Ils sont de couleur claire, jaune pâle à brune, à peine visible à l'œil nu. La tête forme un angle de 45° avec le corps, donnant à l'insecte une allure bossue (Léger et Depaquit 2002) (**Fig.6**).



Figure 6 : Aspect général d'un phlébotome femelle gorgée de sang (D'après Bañuls et al., 2013).

La tête est formée en grande partie par une capsule chitineuse (épicrane), limitée de chaque côté par un grand œil composé (**Fig.7**). Sur la région frontale s'insère deux antennes formées chacune de seize segments : deux segments basaux, et quatorze segments beaucoup plus longs et minces, constituant le flagellum (Lewis, 1982).

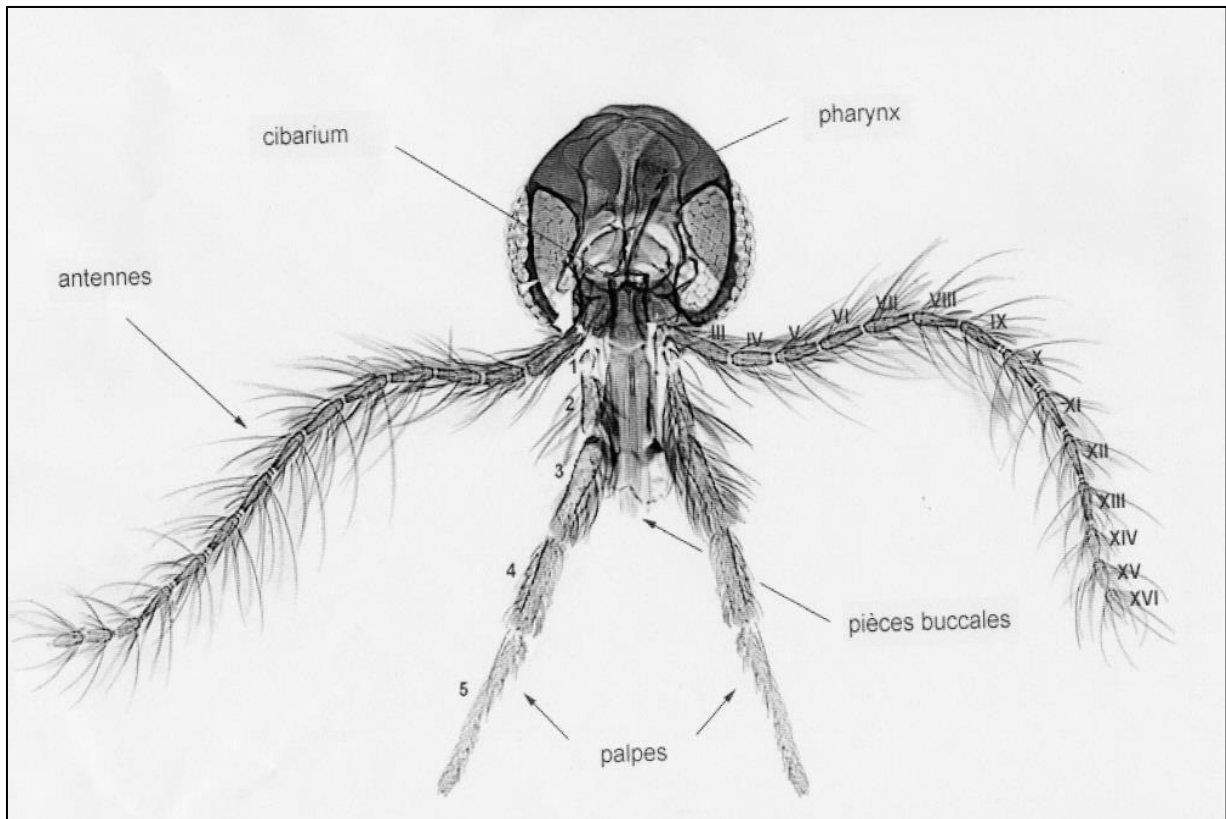


Figure 7 : Tête d'un phlébotome adulte (vue ventrale) (D'après Bañuls et al., 2013).

L'ensemble des pièces buccales forme une trompe courte. En plus de ces organes, la tête comporte également le clypeus, les fosses tentoriales, le front et l'occiput (Killick-Kendrick, 1990). Les pièces buccales de la femelle sont de type « piqueur », elles comportent : un labium, deux maxilles, un labre épipharynx (Killick-Kendrick, 1990). Seules les femelles portent des mandibules dentelées (Léger et Depaquit, 2001). Le nombre et la longueur de ces épines géniculées sont utilisés en systématique (Léger et Depaquit, 2001). Une formule antennaire a pu être établie à partir de ces deux caractères. Elle s'exprime sous forme d'une fraction dont le numérateur porte le nombre d'épine (1 ou 2 par article) et le dénominateur porte la succession des articles sur lesquels ces épines sont présentes (Léger et Depaquit, 2001) :

Exemple : $\frac{2}{\text{III-XV}}$ (Formule antennaire habituelle des femelles)

III-XV

$\frac{1}{\text{III-VI}}$ (Formule qu'on peut rencontrer chez certains mâles)

III-VI

Pour l'identification spécifique, on tient compte aussi de la longueur relative des différents articles, et on écrira par exemple: III > IV+V c'est-à-dire que le troisième article est plus grand que le quatrième et cinquième article réunis (Bounamous, 2010).

Le thorax est convexe et bien développé comme chez tous les diptères (Léger et Depaquit, 2001). Il est constitué de prothorax, mésothorax et métathorax. Il comporte également une paire d'ailes et des balanciers qui assurent l'équilibration de l'insecte pendant le vol. Les ailes sont lancéolées et comprennent neuf nervures longitudinales et des nervures transversales (Léger et Depaquit, 2001) (**Fig.8**). Sur chacun des trois segments thoraciques fusionnés est insérée une paire de pattes articulées, longues, fines et couvertes de soies (Léger et Depaquit, 2001).

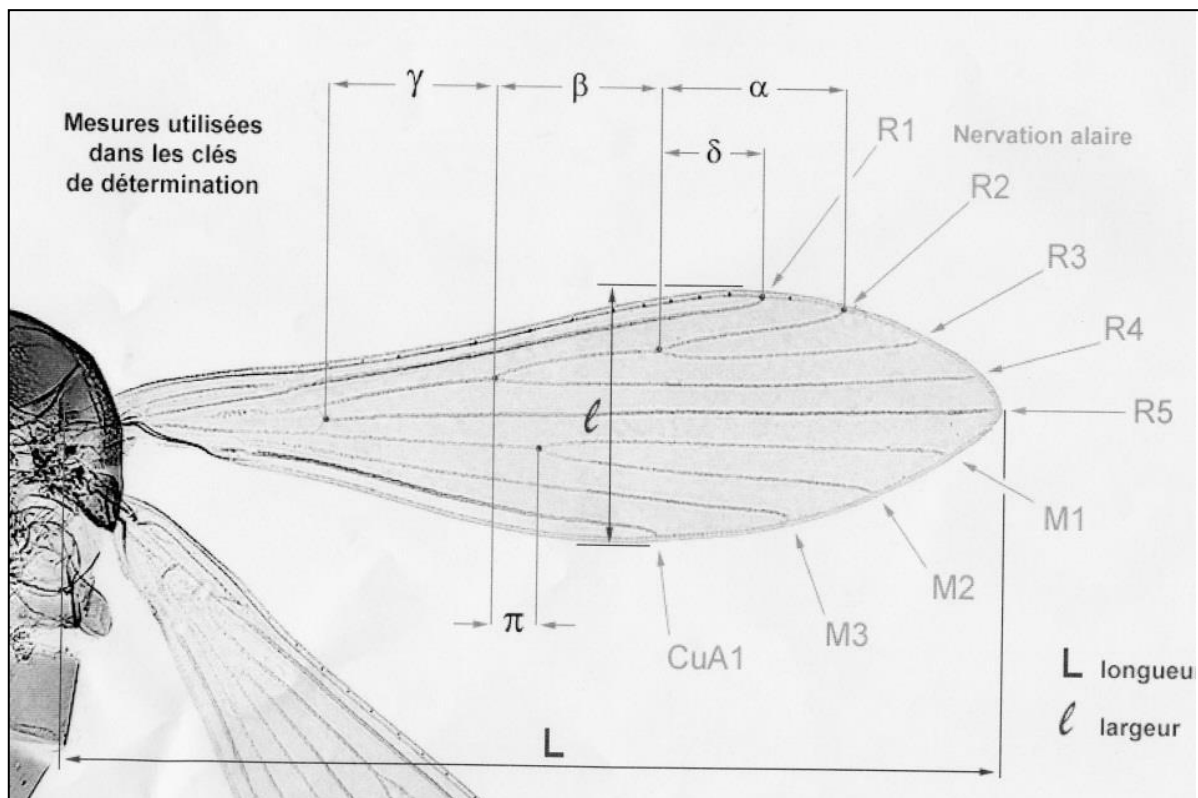


Figure 8 : Aile de phlébotome (D'après Bañuls et al., 2013).

L'abdomen est cylindrique et composé de dix segments. Le premier est rattaché au thorax. Les sept premiers non modifiés, porte chacun une paire de stigmates respiratoires. Quant aux trois derniers, ils sont modifiés pour constituer le génitalia (Abonnenc, 1972). Chez le mâle, l'armature génitale très développée (**Fig.9**), 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.

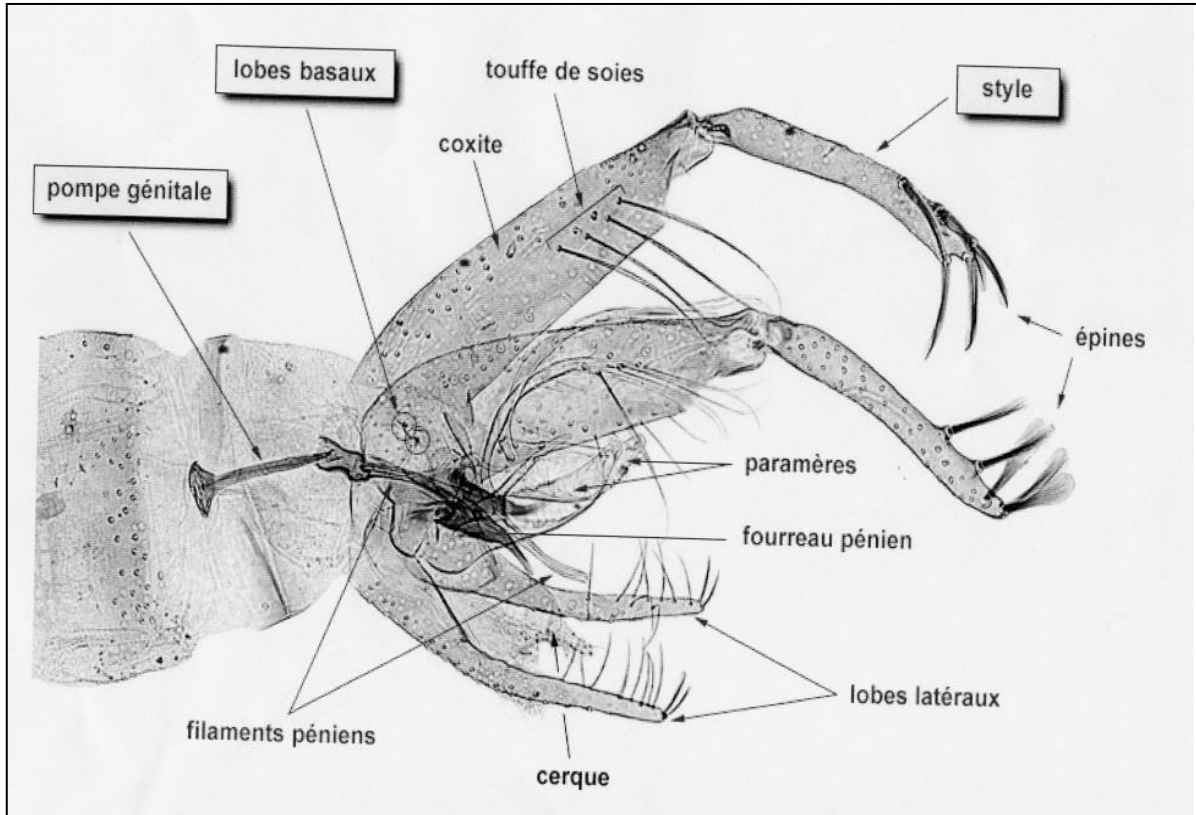


Figure 9: Génitalia mâle (D'après Bañuls et al., 2013).

Chez la femelle, l'appareil génital interne se compose de trois organes pairs : deux ovaires, deux glandes annexes et deux spermathèques (**Fig.10**). 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. L'armature génitale du mâle, les spermathèques et l'armature buccale de la femelle varient dans leur morphologie et sont utilisés dans l'identification et la classification des espèces (Boussaa, 2008).

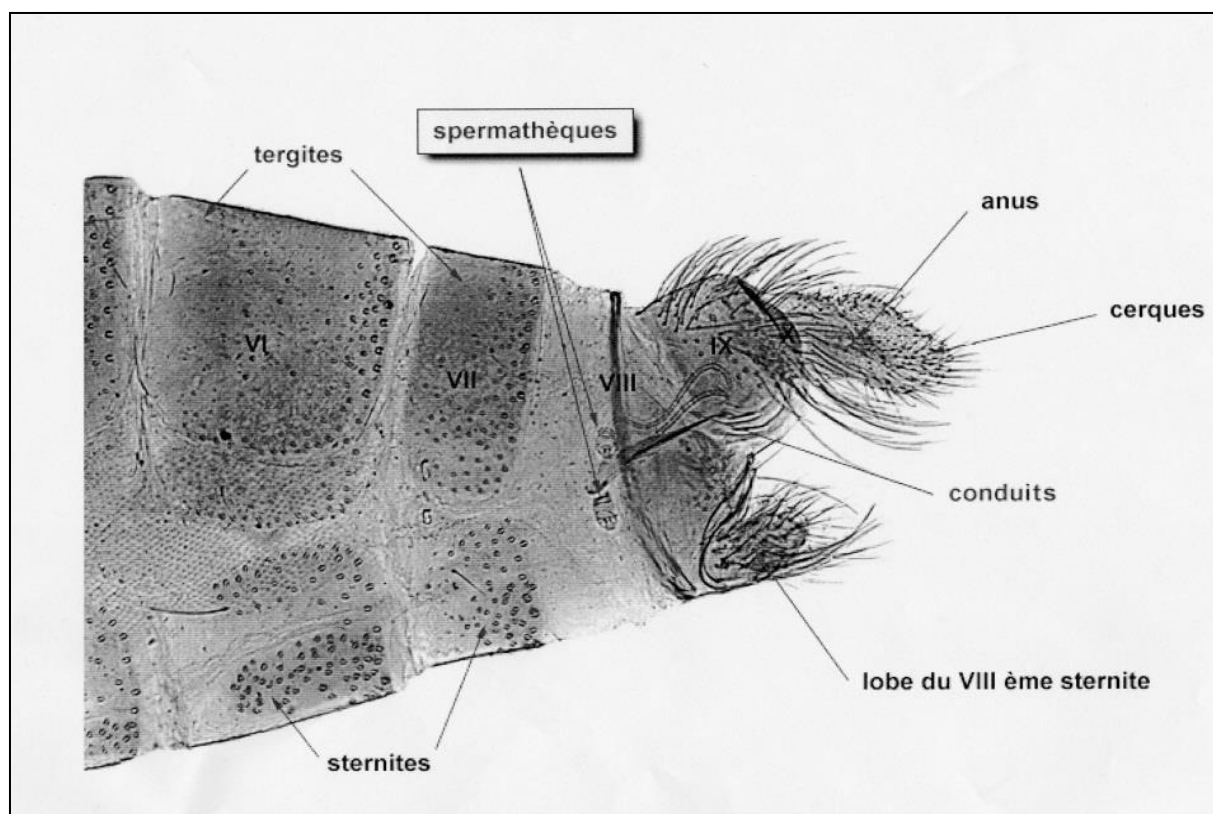


Figure 10 : Génitalia femelle (D'après Bañuls et al., 2013).

2.2.4. Bio-écologie et Ethologie

2.2.4.1. Ecologie

Les préférences trophiques des femelles, qui sont rarement strictes, conditionnent l'habitat de chaque espèce. Certaines sont très éclectiques, d'autres plus ou moins spécialisées dans l'exploitation d'un ou de plusieurs hôtes. Selon le caractère plus ou moins strict de ces préférences, on est amené à distinguer des espèces herpitoiphiles, ornitophiles, simiophiles et/ou antropophiles. Parmi les espèces antropophiles on distingue :

- Les phlébotomes endophages piquant à l'intérieur des maisons.
- Les exophages piquant à l'extérieur.
- Des phlébotomes intermédiaires attaquant l'Homme aussi bien à l'intérieur des maisons qu'à l'extérieur.

On désigne par endophiles ou domestiques ceux qui, une fois gorgés, demeurent quelque temps dans les habitations, et par exophiles ou sauvages, ceux qui ne se rencontrent que dans

la nature ou qui s'échappent aussitôt gorgés, comme par exemple *Phlebotomus perniciosus*, qui s'avère volontiers endophile en Afrique du Nord (Abonnenc, 1972).

Il est à noter que les contacts écologiques avec les hôtes potentiels jouent un rôle important dans la transmission des parasites. En effet, lorsque des espèces habituellement zoophiles ont des contacts avec l'Homme, les organismes transmis peuvent engendrer des anthroponoses voir des affections urbaines purement humaines (Rodhain et Perez, 1985 in Boulkenafet, 2006).

Dès leur émergence, les phlébotomes cherchent à se nourrir. Alors que l'insecte mâle se contente de sucs de plantes et de miellat de pucerons, la femelle a besoin de sang pour le développement de ses œufs. Elle se nourrit en piquant aussi bien l'Homme que les animaux (mammifères, oiseaux, reptiles ou batraciens) (Boussaa, 2008 ; Sangare, 2009). Chez l'Homme, ce sont les parties découvertes qui sont exposées aux piqûres (visage, cou, mains, pieds). Chez les animaux, ce sont les zones glabres les moins velues (museau, oreilles) qui sont les plus exposées aux piqûres douloureuses (Moussaoui et Meknachi, 2008). Quant à l'intensité des réactions de l'hôte, elle varie selon l'espèce de phlébotome en cause (douleur, apparition d'une papule ou d'une tache hémorragique).

Telmophage, le phlébotome prélève le sang en dilacérant avec sa trompe les tissus superficiels de ses hôtes (Quitterie *et al.*, 2005), provoquant un petit hématome qu'il aspire (phlébotome signifie littéralement «coupeurs de veines»). La piqûre peut passer inaperçue en raison de la petitesse de l'insecte ou du sommeil de l'hôte (Izri *et al.*, 2006).

Seule la femelle transmet la maladie en prenant un repas sanguin chez l'hôte qui servira à la maturation des œufs (Marty *et al.*, 2009 ; Hide, 2004). Les mâles sont par contre attirés vers l'hôte puisqu'ils recherchent des femelles pour la reproduction. Cette attraction des phlébotomes vers l'humain semble dépendre de la production de CO₂ par ces derniers mais également de leur odeur (Pinto *et al.*, 2001).

Après un repas sanguin qui dure 30 secondes à 5 minutes, la femelle prend une brève période de repos sur un mur ou un support proche avant de rejoindre un abri où elle digère son repas. Lorsqu'un phlébotome est dérangé au cours de son repas, il peut le compléter soit en piquant aussitôt le même hôte (ce qui explique certaines lésions multiples de leishmanioses cutanées), soit en piquant un autre hôte (Louis, 2009). La digestion s'effectue en 3 à 10 jours et permet la maturation de 50 à 200 œufs qui sont pondus à même niveau du sol (Dolmatova et Demina, 1971 ; Abonnenc, 1972). Après la ponte, la femelle cherche un hôte pour un nouveau repas de sang qui sera suivi d'une nouvelle ponte et ainsi de suite selon un cycle gonotrophique qui se répète tous les 3 à 10 jours (Abonnenc, 1972). C'est ainsi que la femelle

qui vit 1 à 3 mois peut se nourrir sur plusieurs hôtes, s'infecter sur l'un d'eux et assurer la diffusion d'agents pathogènes. Le premier repas de la femelle est précédé ou suivi d'un accouplement avec le mâle, qui intervient dans les 48 heures qui suivent l'émergence des insectes adultes et s'effectue sans vol nuptial à proximité du gîte de repos.

La femelle fécondée stocke les spermatozoïdes dans deux spermathèques dont la morphologie est propre à l'espèce et donc essentielle à la diagnose. Les spermatozoïdes sont ensuite restitués progressivement au moment de la ponte pour la fécondation des œufs qui sont pondus un par un dans un endroit calme, abrité du vent, humide et sombre.

2.2.4.2. Répartition

La répartition des phlébotomes semble régit par plusieurs paramètres écologiques. Une température optimale voisine de 30°C et un degré d'humidité relativement élevé favorisent la pullulation des phlébotomes toute l'année dans les régions tropicales. Dans les régions tempérées, des conditions climatiques plus variables limitent leur pullulation à la saison estivale et expliquent leur absence à une altitude supérieure ou égale à 1000-1500 m. Par ailleurs, en région méditerranéenne et sous l'effet du climat, on passe du Nord au d'une végétation riche en plantes hydrophiles à une végétation constituée de plantes xérophiles (Izri *et al.*, 2006).

La répartition des espèces animales suit ces changements. Ainsi, *P. obesus*, adapté aux plantes xérophiles, ne se retrouve que dans les régions steppiques du Sud. Il en est de même pour *P. papatasi*, insectes des régions arides, bien adapté aux terriers de *P. obesus* et qui est plus abondant au Sud qu'au Nord. A l'inverse, *P. ariasi*, insecte des régions humides, est plus abondants au Nord de la Méditerranée qu'au Sud de celle-ci (Mazelet, 2004).

Au sein de la même région, la répartition des espèces n'est pas uniforme et dépend de la géographie et du milieu. En effet, l'existence de niches écologiques sauvages est conditionnée par la nature même du sol, de la flore, de la faune et du climat. Ainsi, en région steppique, les terriers de *P. obesus* ne se retrouvent qu'en terrain sableux où poussent quelques chénopodiacées qui constituent l'alimentation de base du rongeur. La présence de nappes phréatiques ou de points d'eau favorise celle de ces plantes et donc celle des rongeurs et des phlébotomes (Mazelet, 2004).

D'une région à l'autre, ces conditions géographiques et climatiques peuvent changer considérablement et les populations animales peuvent être totalement différentes. Ainsi, si *P. papatasi*, *P. alexandri* et *P. sergenti* se retrouvent aussi bien à l'Ouest qu'à l'Est du bassin

méditerranéen, il en est différemment des autres espèces dont les distributions sont plus restreintes. Par exemple, *P. ariasi* ou *P. perniciosus* n'existent que dans la partie méditerranéenne occidentale tandis que *P. neglectus* ou *P. tobbi* sont des espèces plus orientales (Mazelet, 2004).

A ces facteurs géographiques peuvent s'ajouter des facteurs météorologiques qui peuvent d'une année sur l'autre, en modifiant les conditions locales, favoriser ou limiter la pullulation des insectes. Ainsi, une sécheresse prolongée limite la prolifération des rongeurs et par conséquent celle des insectes inféodés à leurs terriers. A l'inverse, des pluies abondantes favorisent la végétation et les populations animales et donc le développement des insectes. Enfin, le réchauffement climatique en cours pourrait modifier la répartition géographique de la flore et la faune, y compris des phlébotomes et des maladies qu'ils transmettent (Mazelet, 2004).

Dans une même région, sous un même climat, l'existence de plusieurs espèces dont le développement exige des facteurs physiques du milieu tout à fait différents, s'avère possible du moment que chacune d'entre elles choisit le refuge ayant un microclimat auquel elle puisse s'adapter. Ainsi, une même espèce peut habiter dans des biotopes très différents dans les régions qui se distinguent par leurs conditions physico-géographiques (Dolmatova et Demina, 1971).

2.2.4.3. Cycle de vie

Les phlébotomes sont des insectes holométaboles. Le cycle des phlébotomes de l'éclosion de l'œuf à l'émergence de l'adulte varie de 20 à 75 jours (Berthet-Beaufils, 2010) et comporte trois phases pré-imaginale : œuf, larve, nymphe et une phase imaginaire (**Fig.11**). La femelle produit une cinquantaine d'œufs par ponte, déposés un par un dans les futurs gîtes larvaires (Berthet-Beaufils, 2010). À la forme d'une ellipse allongée incurvée de 300 à 400 μ de longueur et de 9 à 13 μ de largeur. La face dorsale est sensiblement convexe et la face ventrale concave. Ses dimensions varient suivant les espèces (Abonnenc, 1972). Les œufs fraîchement pondus de couleur blanchâtre prennent cinq à six jours après la ponte, une teinte brunâtre. La surface est ornée d'un réseau de granulations déterminant des cellules polygonales (Dolmatova et Demina, 1971).

Chaque œuf donne, en 4 à 17 jours (Berthet-Beaufils, 2010), naissance à **une larve** terricole, vermiforme, sédentaire, saprophage, phytophage et longue de 0,5 à 4 mm et dont l'extrémité caudale se termine généralement par deux paires de longues soies (Dolmatova et

Demina, 1971 ; Abonnenc, 1972). Elle gîte dans des terriers de micromammifères, nids d'oiseaux, creux d'arbres, anfractuosités du sol ou de murs...etc (Parrot et Picheyre, 1941a). La phase larvaire comporte 4 stades et dure 21 à 60 jours selon l'espèce, la température et la quantité de nourriture disponible.

La nymphe est fixée en position verticale par son extrémité postérieure et se rencontre au niveau des mêmes gîtes que ceux de la larve (Dolmatova et Demina, 1971). Elle ne se nourrit pas et la durée du seul stade nymphal serait de six à quinze jours. Elle est plus grande que la larve et adaptée à un milieu aérien sec. Tout comme les œufs, elle a besoin de protection contre l'insolation et d'autres facteurs météorologiques agissant de manière brutale (Boulkenafet, 2006).

Chez l'**imago**, la longévité varie avec l'espèce mais aussi avec la température et l'humidité. Le seuil thermique inférieur varie suivant les espèces. L'élévation de température accélère le développement mais diminue la vitalité, par contre son abaissement ralentie le développement et affaiblit également la vitalité. La cause de mortalité des phlébotomes peut aussi être engendrée par l'épuisement des femelles lors de la ponte des œufs, par les conditions défavorables du microclimat des refuges diurnes, la faim, les attaques d'ennemis et parasites...etc (Boulkenafet, 2006).

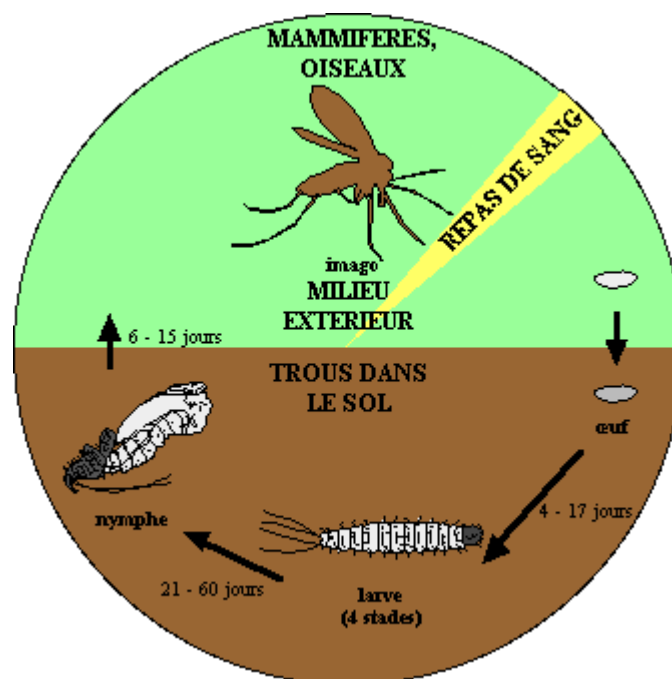


Figure 11 : Cycle de vie du phlébotome (D'après www.vet-nantes.fr).

2.2.4.4. Rythme d'activité

De mœurs nocturnes, les phlébotomes adultes gîtent durant la journée dans des endroits retirés, sombres et relativement humides (humus, souches d'arbres, terriers, étables, clapiers, niches, anfractuosités des murs, abris d'animaux sauvages ou domestiques) où ils se mettent à l'abri de la lumière et du vent (Lightburn *et al.*, 2002 ; Izri *et al.*, 2006). La nuit, ils deviennent actifs et se mettent en quête de nourriture et/ou de partenaire. Ils se déplacent en volant silencieusement par petits bonds autour de leurs gîtes (Izri *et al.*, 2006). Selon Lightburn *et al.*, (2002), plusieurs espèces piquent également le jour lorsqu'elles sont dérangées par l'intrusion de l'Homme dans leur environnement. Comparés aux moustiques, les phlébotomes sont de mauvais voiliers. Leur vol est silencieux, sautillant, saccadé, de courte durée et de faible portée. Leur rayon maximum de déplacement est variable selon les espèces (souvent moins de 200 m, très rarement plus de 1 km) (Sangare, 2009 ; Berthet-Beaufils, 2010). Ils ne commencent à s'agiter qu'à la tombée du jour si la température est suffisamment élevée (19-20°C), s'il n'y a pas de vent (limite : 1m/sec.) et si le degré hygrométrique est élevé (Mazelet, 2004). Selon le même auteur, certaines espèces sont attirées par la lumière, le plus souvent de faible intensité, d'autres ne manifestent que peu ou pas de phototropisme.

En zone tempérée, l'été est la période d'activité. Les adultes n'apparaissent que vers le mois de mai puis disparaissent à l'automne. Les soirées orageuses du printemps et de l'été dans le bassin méditerranéen, sont des conditions favorables aux sorties massives des phlébotomes (Léger et Depaquit, 2001).

2.2.4.5. Les phlébotomes et la transmission des maladies

En plus de la transmission biologique du virus de la stomatite vésiculeuse affectant les équidés, les bovins et les porcins, les phlébotomes sont également vecteurs de maladies étiologiquement différentes.

2.2.4.5.1. Nuisance engendrée par les phlébotomes

Chez l'Homme, ils piquent les parties découvertes du corps, notamment le visage, les mains, la région malléolaire. La pique douloureuse, occasionne des démangeaisons vives et persistantes qui se manifestent principalement le soir et provoquent, chez les individus des accidents locaux souvent très intenses qui constituent une éruption, dont les éléments parfois

très nombreux, peuvent être confluents (Bounamous, 2010). Ces derniers sont des papules roses (le grattage peut provoquer l'excoriation d'où infection de celle-ci et donne de petites pustules) surélevées, larges de quelques millimètres et restant saillantes durant une période d'environ 15 jours. Ces accidents s'observent à l'état aigu pendant environ un mois, puis disparaissent. Bien que les phlébotomes soient encore abondants, les individus non acclimatés ne présentent plus que des petites lésions discrètes. Ces individus acquièrent une certaine immunité. Cependant, cette dernière n'est pas de longue durée puisque les accidents de pique peuvent se reproduire l'année suivante (Abonnenc, 1972). Chez les indigènes des régions à phlébotomes, de même que chez un certain nombre d'individus non acclimatés, la pique ne détermine que l'apparition de petites papules roses à peine prurigineuses, qui disparaissent en quelques heures (Abonnenc, 1972). Cette réaction cutanée est connue en Palestine sous le nom de « Harara » (Neveu-Lemaire, 1938 ; Adler et Theodor, 1957 ; Abonnenc., 1972).

2.2.4.5.2. Rôle dans la transmission des maladies

Ils sont connus comme vecteurs de nombreux agents de diverses maladies humaines, animales et même végétales. Le mâle, depuis longtemps considéré comme ne jouant aucun rôle vecteur en raison de sa non-hématophagie, peut transmettre des agents parasitaires à certaines plantes (Bounamous, 2010). En effet, en 1969, Macfarlane et ses collaborateurs, ont pu capturer un mâle de *Phlebotomus langeroni*, une femelle de *Sergentomyia minuta* Parroti porteur cinq parasites des plantes à savoir *Brevipalpus phoenicis* dont la taille est de 170 μ à 300 μ . Le parasite des plantes du genre *Citrus*, *Thea*, *Coffea* cause plusieurs dégâts. Les auteurs supposent que le phlébotome joue le rôle d'un vecteur mécanique dans la transmission de *Brevipalpus phoenicis* (Abonnenc, 1972). En plus de la transmission de certains agents parasitaires à certaines plantes (*Brevipalpus phoenicis*), la femelle en particulier celle du genre *Phlebotomus* joue un rôle très important dans le transport des protozoaires, des bactéries et des virus qui sont des agents de plusieurs maladies humaines et animales (Macfarlane *et al.*, 1969).

2.2.4.5.3. Transmission d'arbovirus

Les phlébotomes, comme les moustiques ou les culicoides, sont incriminés dans la transmission de divers arbovirus parmi lesquels Toscana, Naples, Sicile, Massilia, Arbia, ou encore le virus de la stomatite vésiculeuse, qui affecte exclusivement les bovins

et les porcins parmi lesquels certains sont responsables d'une affection humaine bénigne appelée fièvre de phlébotomes ou fièvre à *papatasi* (car transmise par *Phlebotomus papatasi*) ou encore fièvre de 3 jours (Neveu-Lemaire, 1938 ; Abonnenc, 1972 ; Rodhain et Perez, 1985). Un nouveau virus a été isolé à partir de *Phlebotomus perniciosus*, les analyses microscopiques, antigéniques et génétiques indiquent que ce nouveau virus appartient au genre *Phlebovirus* de la nouvelle famille *Bunyaviridae*, est appelé Massilia virus obtenu à partir des phlébotomes capturés dans la banlieue de Marseille (Charrel *et al.*, 2008).

La présence éventuelle de *flavivirus* a été étudiée chez les phlébotomes de la Méditerranée (France et Algérie). Une PCR conçue pour l'amplification du genre *Flavivirus* a démontré que 2 phlébotomes mâles de *P. perniciosus*, sur les 67 piégés en Algérie, ont été positifs (Izri *et al.*, 2008). La fièvre de phlébotome (Sicile, Naples) et la fièvre de phlébotome (Harara), peut provoquer des maladies humaines et circuler à des taux élevés dans les pays méditerranéens (Moureau *et al.*, 2009).

2.2.4.5.4. Transmission des bactéries : La Verruga Péruvienne ou Bartonellose

La bartonellose humaine est dû à *Bartonella bacilliformis*, elle se caractérise 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. Les vecteurs sont des *Lutzomyia sp.*, avec pour principal représentant *L. verrucarum* (Boulouis *et al.*, 2008). La maladie sévit sous deux formes, la Verruga Péruvienne et la Fièvre d'Oroya ou Maladie de Carrion, dont le réservoir animal est suspecté.

2.2.4.5.5. Transmission des protozoaires

Seule la femelle du genre *Phlebotomus* est incriminée dans la transmission de la leishmaniose. Elle est capable d'assurer aussi bien la conservation de la leishmanie que la multiplication et l'incubation. Les leishmanioses sont provoquées par des protozoaires du genre *Leishmania*. D'après Killick-kendrick (1990 ; 1999), il existe trois mécanismes de transmission indirecte de leishmaniose par un phlébotome infecté :

- La régurgitation de promastigote métacyclique à partir du tube digestif de l'insecte lors du repas sanguin.
- Le dépôt de promastigote métacyclique par la trompe.

- L'inoculation de promastigote métacyclique à partir des glandes salivaires avec la salive du phlébotome.

Si la contamination se fait d'Homme à Homme par l'intermédiaire du vecteur, on parle de cycle anthroponotique. Si le cycle de transmission inclut au moins un réservoir animal, principale source d'infection pour le vecteur, on parle de cycle zoonotique.

Quant à la contamination directe, que ce soit par voie vénérienne ou bien par voie sanguine, elle reste extrêmement rare, puisque ça nécessite un contact entre une plaie avec un exsudat riche en leishmanies et une autre zone lésée. Il est à noter que la transmission in-utéro de même à chiot, constitue une autre voie d'infection possible mais probablement très rare (Moussaoui et Meknachi, 2008).

2.2.5. Phlébotomes d'Algérie

La présence des phlébotomes a été signalée pour la première fois en Algérie en 1912 par Foley et Leduc et plus tard par Parrot et Sergent de 1917 à 1960 (Dedet *et al.*, 1984). Aujourd'hui, 23 espèces sont connues en Algérie dont 13 appartiennent au genre *Phlebotomus* et 10 au genre *Sergentomyia* (**Tab.3**) (Bounamous, 2010).

Tableau 3: Phlébotomes d'Algérie (D'après Bounamous, 2010).

Sous-famille des <i>Phlebotominae</i>	
Genre <i>Phlebotomus</i>	Genre <i>Sergentomyia</i>
<i>Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi</i> (Scopoli , 1786)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) minuta</i> (Alder et Theodor, 1927)
<i>Phlebotomus (Phlebotomus) bergeroti</i> (Parrot, 1934)(*)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) fallax</i> (Parrot, 1921)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri</i> (Sinton, 1928)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) antennata</i> (Newstead, 1912)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi</i> (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) schwetzi</i> (Alder, Theodor et Parrot, 1929) (*)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) kazeruni</i> (Theodor et Mesghali, 1964) (**)	<i>Sergentomyia (Parrotomyia) africana</i> (Newstead, 1912)
<i>Phlebotomus (Larroussius) ariasi</i> (Tonnoir, 1921)	<i>Sergentomyia (Parrotomyia) eremitis</i> (Parrot et De Jolinière, 1945) (*)
<i>Phlebotomus (Larroussius) chadlii</i> (Rioux, Juminer et Gibily ,1966)	<i>Sergentomyia (Grassomyia) dreyfussi</i> (Parrot, 1933)
<i>Phlebotomus (Larroussius) perniciosus</i> (Newstead, 1911)	<i>Sergentomyia (Sintonius) clydei</i> (Sinton, 1928)
<i>Phlebotomus (Larroussius) longicuspis</i> (Nitzulescu, 1911)	<i>Sergentomyia (Sintonius) christophersi</i> (Sinton, 1927)
<i>Phlebotomus (Larroussius) langeroni</i> (Nitzulescu, 1930)	
<i>Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi</i> (Parrot , 1930)	

(*) Espèces exclusivement localisées au Sahara Central.

(**)Spécimen rapporté de Mila (Nord-Est algérien) par Berchi *et al.*, (1986).

En Algérie, les phlébotomes sont répartis sur tout le territoire national, de l'étage humide jusqu'à l'étage saharien (Dedet *et al.*, 1984 ; Bellazoug, 1991 ; Berchi, 1990 ; Izri, *et al.*, 1994) (**Tab.4**).

Tableau 4: Répartition des phlébotomes en Algérie en fonction des étages bioclimatiques

(D'après Dedet et al., 1984 ; Bellazoug, 1991).

Etage Humide	Etage sub-humide	Etage semi-aride	Etage aride	Etage Saharien
<i>Sergentomyia minuta</i> (*)	<i>Sergentomyia minuta</i> (*)	<i>Sergentomyia minuta</i>	<i>Sergentomyia minuta</i>	<i>Sergentomyia minuta</i>
<i>Phlebotomus perniciosus</i>	<i>Phlebotomus Perniciosus</i>	<i>Segentomyia fallax</i>	<i>Segentomyia fallax</i> (*)	<i>Segentomyia Fallax</i>
<i>Phlebotomus ariasi</i>	<i>Phlebotomus Longeroni</i>	<i>Phlebotomus chabaudi</i>	<i>Sergentomyia antennata</i>	<i>Sergentomyia Christophersi</i>
<i>Phlebotomus perfiliewi</i>	<i>Phlebotomus Perfiliewi</i>	<i>Phlebotomus perniciosus</i> (*)	<i>Sergentomyia dreyfussi</i>	<i>Sergentomyia Dreyfussi</i>
<i>Phlebotomus sergenti</i>	<i>Phlebotomus Sergenti</i>	<i>Phlebotomus longeroni</i>	<i>Paraphlebotomus alexandri</i>	<i>Phlebotomus Perfiliewi</i>
<i>Phlebotomus chadlii</i>	<i>Phlebotomus Chadlii</i>	<i>Phlebotomus perfiliewi</i>	<i>Phlebotomus perniciosus</i>	<i>Phlebotomus Sergenti</i>
<i>Phlebotomus longicuspis</i>	<i>Phlebotomus Longicuspis</i>	<i>Phlebotomus sergenti</i>	<i>Phlebotomus longeroni</i>	<i>Phlebotomus Chadlii</i>
<i>Phlebotomus papatasi</i>	<i>Phlebotomus Papatasi</i>	<i>Phlebotomus chadlii</i>	<i>Phlebotomus perfiliewi</i>	<i>Phlebotomus Longicuspis</i>
		<i>Phlebotomus longicuspis</i>	<i>Phlebotomus sergenti</i>	<i>Phlebotomus Papatasi</i>
		<i>Phlebotomus papatasi</i>	<i>Phlebotomus chadlii</i>	
			<i>Phlebotomus longicuspis</i>	
			<i>Phlebotomus papatasi</i>	

(*) Espèce prédominante.

2.3. Réservoirs

Les leishmanioses se divisent en deux types, anthroponotique et zoonotique : Les leishmanioses anthroponotiques qui touchent uniquement l'être humain et les leishmanioses zoonotiques qui touchent l'être humain et d'autres mammifères (Maamri, 2008).

Dans une région donnée, une espèce de leishmanie est volontiers entretenue sur un seul hôte réservoir, même si d'autres mammifères peuvent occasionnellement être trouvés infectés. Un animal est reconnu réservoir s'il représente dans le milieu naturel une source d'infestation pour les phlébotomes et si le taux des animaux trouvés infectés est élevé. Un bon réservoir doit présenter une infection prolongée mais pas trop sévère pour représenter une source réelle d'infection pour les phlébotomes (Lightburn *et al.*, 2002). Mais, pour être investi du titre de «vrai» réservoir, le mammifère en question doit posséder tout ou partie des caractéristiques

suivantes : être ; abondant (volume minimal efficace), en étroite relation trophique avec le vecteur (tropisme, accessibilité), réceptif à l'égard du parasite (sensibilité, spécificité), accessible aux vecteurs (lésions riches en *Leishmania*, parasitémie) (Rioux, 2007).

A l'exception de *L. tropica* et *L. donovani* qui sont des espèces anthroponotiques, toutes les autres espèces circulent au sein d'écosystèmes zoonotiques plus ou moins stables. Les mammifères sauvages et/ou péri-domestiques se distribuent essentiellement dans un ordre, celui des *Rodentia*. L'agent de la leishmaniose cutanée diffuse, *L. aethiopica*, circule dans un écosystème dominé par des mammifères de l'ordre des *Hyracoidea*. Le réservoir de *L. infantum* est connu comme étant essentiellement canin (Nicolle et Comte, 1908). Dans toute la région méditerranéenne, le réservoir principal semble être constitué par les chiens domestiques (Bettini *et al.*, 1986), bien qu'un réservoir selvatique soit également présent avec une prévalence de 55% chez les renards (Rioux *et al.*, 1969 ; Bessad *et al.*, 2012).

Cependant, trois cas de figures peuvent se présenter (Mazelet, 2004) :

-Le réservoir sauvage et un vecteur spécifique du parasite sont dans une même « niche écologique » intégrant un réservoir secondaire péri-domestique et non l'Homme par défaut d'anthropophilie de la part du vecteur ; la transmission humaine ne pourra alors se faire que par l'intermédiaire d'un autre vecteur qui présentera une anthropophilie plus marquée.

-Le réservoir sauvage et le vecteur sont seuls en syntopie. L'Homme ne pourra dès lors se contaminer qu'à l'occasion de contacts épisodiques avec le milieu naturel, lors d'activités de chasse, de cueillette ou professionnelles.

-Le réservoir sauvage, le vecteur et l'Homme sont en syntopie au sein de la même « niche écologique ». Il existe deux cas de figure :

1. Le parasite passera du réservoir primaire à l'Homme. Ces cas peuvent correspondre aux contaminations survenant à l'occasion de contacts permanents avec un milieu récemment anthropisé (comme en périphérie des grandes villes proches des forêts primaires d'Amazonie, ou dans les villages récemment implantés en zones défrichées).

2. Le cycle est amplifié par la présence d'un réservoir potentiel secondaire constitué par les animaux péri-domestiques qui peuvent assurer ainsi un rôle de relais au sein du complexe pathogène, deux sources d'infestation sont alors possibles : les réservoirs primaire et secondaire.

Seuls les mammifères ont été à ce jour trouvés porteurs de protozoaires appartenant au genre *Leishmania* pathogènes ou non pour l'Homme. Ils peuvent être réservoirs ou hôtes accidentels pour le parasite, et diffèrent selon les régions. En fonction de l'hôte, il est admis de distinguer des cycles primaires et secondaires, zoonotiques, dans lesquels respectivement

des mammifères sauvages et domestiques interviennent en tant que réservoirs. De même, l'Homme peut dans certains complexes jouer un rôle de réservoir de parasite, constituant alors avec le vecteur un cycle anthroponotique ou tertiaire (Garnham, 1965), dans ce cas l'affection humaine peut prendre un caractère endémo-épidémiologique. Dans l'Ancien Monde, Musser et Carleton ont décompté en 1993, 42 espèces de mammifères appartenant à 25 genres, 9 familles et 4 ordres (*Primates*, *Carnivora*, *Hyracoidea*, *Rodentia*) infectés par des leishmanies appartenant à huit complexes leishmaniens (*L. major*, *L. arabica*, *L. turanica*, *L. donovani*, *L. killicki*, *L. infantum*, *L. aethiopica* et *L. gerbilli*). Dans le Nouveau Monde, la situation est plus compliquée à cause des espèces de parasites.

- **Dans le monde :** Les rongeurs de la famille des *Gerbillinae* sont particulièrement représentés dans la partie africaine et asiatique de la région méditerranéenne. Parmi les 6 genres et les 17 espèces qui habitent les régions arides de l'Afrique du Nord, 4 espèces ont un rôle important dans l'épidémiologie de la leishmaniose cutanée à *L. major*. *Meriones shawi* est le principal réservoir de parasites en Afrique du Nord (Rioux *et al.*, 1982 ; 1986c). *M. libycus* en Arabie Saoudite, Iran, Jordanie, Libye, Tunisie et Ouzbékistan (Dejeux, 1991). *M. crassus* en Egypte et en Israël (Peters *et al.*, 1981). *Psammomys obesus* est également suspecté d'être un réservoir de parasites dans certains foyers de LC à *L. major*, comme c'est le cas au Maghreb et au Moyen Orient où il constitue le principal réservoir de la LCZ (Bellazzoug, 1983 ; Ben Ismail et Ben Rachid, 1989 ; Harrat et Boudrissa, 2008). Dans le foyer de la leishmaniose cutanée au Pérou, le hamster est considéré comme réservoir probable de *L. peruviana* (Herrer, 1982). L'infection des chats par *Leishmania* est rapportée pour la première fois par Sergent *et al.* (1912). Depuis, plusieurs cas ont été signalés occasionnellement et plusieurs espèces de *Leishmania* ont été impliquées (Gramiccia et Gradoni, 2005). Des cas dus à *L. infantum* ont été décrits en France, Italie, Espagne et Brésil (Ozon *et al.*, 1998 ; Maroli *et al.*, 2007 ; MartinSanchez *et al.*, 2007 ; San Martin Mouriz Savani *et al.*, 2004).
- **En Algérie :** La leishmaniose viscérale admet comme réservoir le chien. En effet, Dedet et ses collaborateurs (1977b) ont déduit que 11,4% des chiens de la grande Kabylie étaient atteints de LV. Bellazzoug *et al.*, (1985) ont confirmé le rôle joué par cet animal et ont fait la corrélation entre foyer de leishmaniose canine et leishmaniose viscérale humaine. La leishmaniose canine concernant tout le territoire national avec une prévalence variant d'une région à l'autre (Djezzar-Mihoubi, 2006). 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* (Bellazzoug, 1983) et le

second : *Meriones shawi* au niveau du foyer de Ksar Chellal (Bellazzoug, 1986a). Quant à la leishmaniose cutanée variant enzymatique de *L. infantum*, le réservoir demeure inconnu, bien que le chien soit fortement suspecté (Benikhlef *et al.*, 2004). Récemment, *L. major* a pu être détecté chez le hérisson dans la région de M'sila (Tomás-Pérez *et al.*, 2014).

CHAPITRE II : Matériel et Méthodes

1. Présentation de la région d'étude

Ce travail a été réalisé dans la région de Constantine, l'une des plus grandes Wilayas du Nord Est algérien qui s'étend sur une superficie de 2187 Km² (<http://www.interieur.gov.dz/>) et compte une population de 938 475 habitants (O.N.S., 2008). Localisée sur la latitude 36°17' Nord par rapport à l'Equateur et la longitude 6°37' par rapport à Greenwich, elle est située dans la dépression Est entre les chaînes montagneuses de l'Atlas Tellien et l'Atlas Saharien (**Fig.12**). Composée de 12 communes (Constantine, El-Khroub, Ain Smara, Ouled Rahmoune, Ain Abid, Ben Badis, Zighoud Youcef, Beni Hamidène, Hamma Bouziane, Didouche Mourad, Ibn Ziad et Messaoud Boudjriou) organisées en 6 Dairates (Constantine, El-Khroub, Ain Abid, Zighoud Youcef, Hamma Bouziane et Ibn Ziad). Limitée au Nord par la Wilaya de Skikda, au Sud par la Wilaya de Oum El-Bouaghi, à l'Est par la Wilaya de Mila et à l'Ouest par la Wilaya de Guelma.



Figure 12 : Localisation de la wilaya de Constantine (D'après www.canalmonde.fr).

1.1. Climat

La région d'étude est soumise à l'influence du climat méditerranéen caractérisé par des précipitations irrégulières, et une longue période de sécheresse estivale. De type semi-aride frais, le climat de Constantine se caractérise par deux périodes distinctes : une période sèche et chaude en été (133 jours) et une période humide et froide en hiver (197 jours) (Kherief-Naceraddine, 2006).

1.1.1. Précipitations

Constantine reçoit environ 556,14 mm de pluie annuellement avec une moyenne mensuelle de 46,34 mm. D'après la même auteure, les maximums des pluies sont enregistrés dans le mois de Janvier, Novembre et Décembre contrairement à Juillet et Août marqués par la faible quantité de précipitations (Kherief-Naceraddine, 2006).

1.1.2. Température

Dans la région de Constantine, la température moyenne annuelle est de 16°C. Les températures augmentent d'une allure régulière en allant de 7,2°C le mois de Janvier jusqu'au mois d'Août qui représente le mois le plus chaud avec une moyenne maximale de 26°C. On peut distinguer deux périodes : une période chaude et sèche qui s'étale du mois de Juin au mois de Septembre, et une autre période, plus longue, qui s'étale du mois d'Octobre au mois de Mars. Avril et Mai semblent être les mois les plus confortables vu que la température moyenne est comprise entre 12 et 18°C (Kherief-Naceraddine, 2006).

1.1.3. Vent

La région d'étude est soumise à des vents dominants avec une vitesse moyenne de 2,57 m/s annuellement. Les plus importants sont les vents du Sud appelés Sirocco, observés à n'importe quelle époque de l'année (Kherief-Naceraddine, 2006).

1.2. Relief

Constantine est une Wilaya de transition entre le Nord caractérisé par un relief accidenté et le Sud caractérisé par la planitude de l'espace (hautes plaines). Du point de vue

orographique, Constantine n'est pas tellement une Wilaya montagneuse. Les seuls pseudo-massifs que nous pouvons citer sont Chettaba au Sud-Ouest de la Wilaya et Oum-Settas au Sud-Est, djebel Ouahch au Nord-Est et djebel Sidi Driss. L'altitude varie entre 300 m dans la vallée du Rhumel et 1350 m à Djebel Sidi Driss.

Le relief est souvent accidenté à pente très forte où 70 % de la surface totale de la Wilaya se situe entre 12 et 25 % de dénivelé, 15 % de sa surface se caractérise par des pentes allant à plus de 25 % au Nord et au Sud de la Wilaya. La surface restante, soit 15 %, est plus ou moins plane (3%) de dénivelé. Il est structuré en trois grandes zones dont les caractéristiques physiques sont les suivantes :

- **La zone montagneuse** : Située au Nord de la Wilaya, elle présente un relief montagneux et accidenté qui se prolonge au Nord-Est par le massif du Djebel Ouahch. L'autre massif important est celui de Chettaba à l'Ouest.
- **La zone intérieure** : Est constituée d'une série de dépressions et bassins. Ces vallées sont des couloirs naturels nés des contacts entre le Tell au Nord et les hautes plaines au Sud. Elles sont en nombre de quatre : la vallée supérieure du Rhumel et celle de Boumerzoug, la vallée inférieure du Rhumel et celle de l'Oued Smendou qui converge avec celle du Rhumel inférieur.
- **La zone Sud** : Se caractérise par la régularité du relief. Les territoires de Ouled Rahmoune et Ain-Abid annoncent le début des hautes plaines qui se prolongent dans la Wilaya de Oum El Bouaghi (Ain M'lila) (<http://www.interieur.gov.dz/>).

1.3. Hydrologie

Le groupement de communes est drainé par un réseau hydrographique important, constitué essentiellement de deux oueds principaux (Rhumel et Boumerzoug) et leurs affluents. Le Rhumel prend sa source vers 1160 m dans les marges méridionales du Tell, au Nord Ouest de Bellaâ; il traverse les hautes plaines constantinoises avec une orientation Sud Ouest-Nord Est jusqu'à Constantine (côtes 500 - 550 m) où il s'encaisse très profondément dans les gorges calcaires. Là, il change brusquement de direction et coule en oblique vers le Nord Ouest pour confluer avec oued Endja aux environs de Sidi Marouane (côte 125 m). Durant tout ce parcours, l'oued Rhumel reçoit quelques affluents importants, entre autres : Oued Dekri, Oued Athmenia, Oued Seguin, Oued Boumerzoug, Oued Smendou et Oued El Ktone (Mebarki, 2005). Selon le même auteur, les ressources hydriques sont de deux types : les ressources superficielles et les ressources souterraines.

- **Les ressources en eaux superficielles** : Malgré le chevelu hydrographique dense dans la zone d'étude, l'exploitation des ressources naturelles reste très faible suite à la topographie et la nature lithologique de la région qui ne favorise pas la construction de barrages ou des retenues collinaires.
- **Les ressources en eaux souterraines** : Sur le plan hydrogéologique, la prédominance de formation moyennement à faiblement Mio-Pliocène des marnes, des conglomérats et des calcaire lacustres (les autres formations relativement aquifères du genre calcaires massifs d'Oum- Settas, ou grés numidien de djebel Ouahch dont le coefficient d'infiltration varie de 30 à 20 constituant des surfaces réduites), les calcaires liasiques, affleurant à Kef Sidi Driss quelques dizaines de m² de même que les grés numidiens de djebel Ouahch par la faible perméabilité en petit, et la présence d'intercalations argileuses présentent des ressources en eau réduites ne permettant l'alimentation que de fermes ou petites Mechtates.

Ainsi, la principale richesse hydrogéologique de la wilaya réside dans l'unité de calcaire néritique (d'âge Crétacé), très affectée par la tectonique (failles), qui a donné naissance :

- Au Nord, aux sources thermales du Hamma Bouziane et celle de Hammam Grouz, auxquelles on peut rattacher les sources de Salah Bey et de Sidi M'cid.
- Au Sud, mais situées hors wilaya, aux sources de Fezguia, Boumerzoug et Fourchi, les premières concernent directement Constantine car participant en partie à son alimentation en eau potable (Mebarki, 2005).

1.4. Végétation

Au niveau de la wilaya, les seuls milieux naturels demeurent les écosystèmes forestiers dominants et les écosystèmes lacustres limités (retenues collinaires et étangs). Les forêts s'étendent sur une superficie de 18 399 ha soit 8% de la superficie de la Wilaya. 8,3 % de cette superficie sont occupés par les reboisements alors que les forêts naturelles couvrent une superficie de 6 000 ha représentant une vingtaine de forêts à Constantine. La couverture végétale sylvestre se répartit sur les régions de Zighoud Youcef, Djebel Ouahch, Ain Abid, Draa Naga, El Mridj, Tarfana Bénisiline, Tassinga, Ibn Badis, Ibn Ziad (Chettaba), Djebes, Hadj Baba et Mansourah. Les espèces dominantes sont : Pin d'Alep (13 880 ha), Eucalyptus (1 989 ha), Cyprès (1 700 ha), Chêne liège (1 159 ha) et maquis constitués exclusivement de Chêne vert (850 ha).

2. Enquête entomologique

2.1. Présentation des sites de capture des phlébotomes

Les captures sont effectuées dans des biotopes propices au développement des phlébotomes (milieu de ponte et de repos, essentiellement près et/ou à l'intérieur des lieux d'élevage d'ovins et de bovins), situés dans une région où des cas de leishmaniose sont enregistrés par les services sanitaires (Djezzar-Mihoubi, 2006). Nous avons ainsi choisi 10 stations réparties sur 5 localités de la Wilaya de Constantine : El-Khroub, Didouche Mourad, Hama Bouziane, Beni Hamidène et Zighoud Youcef (**Fig.13**). L'échantillonnage a été réalisé de 2011 à 2013 sur des populations naturelles de phlébotomes durant la période d'activité des phlébotomes (d'Avril à Novembre).

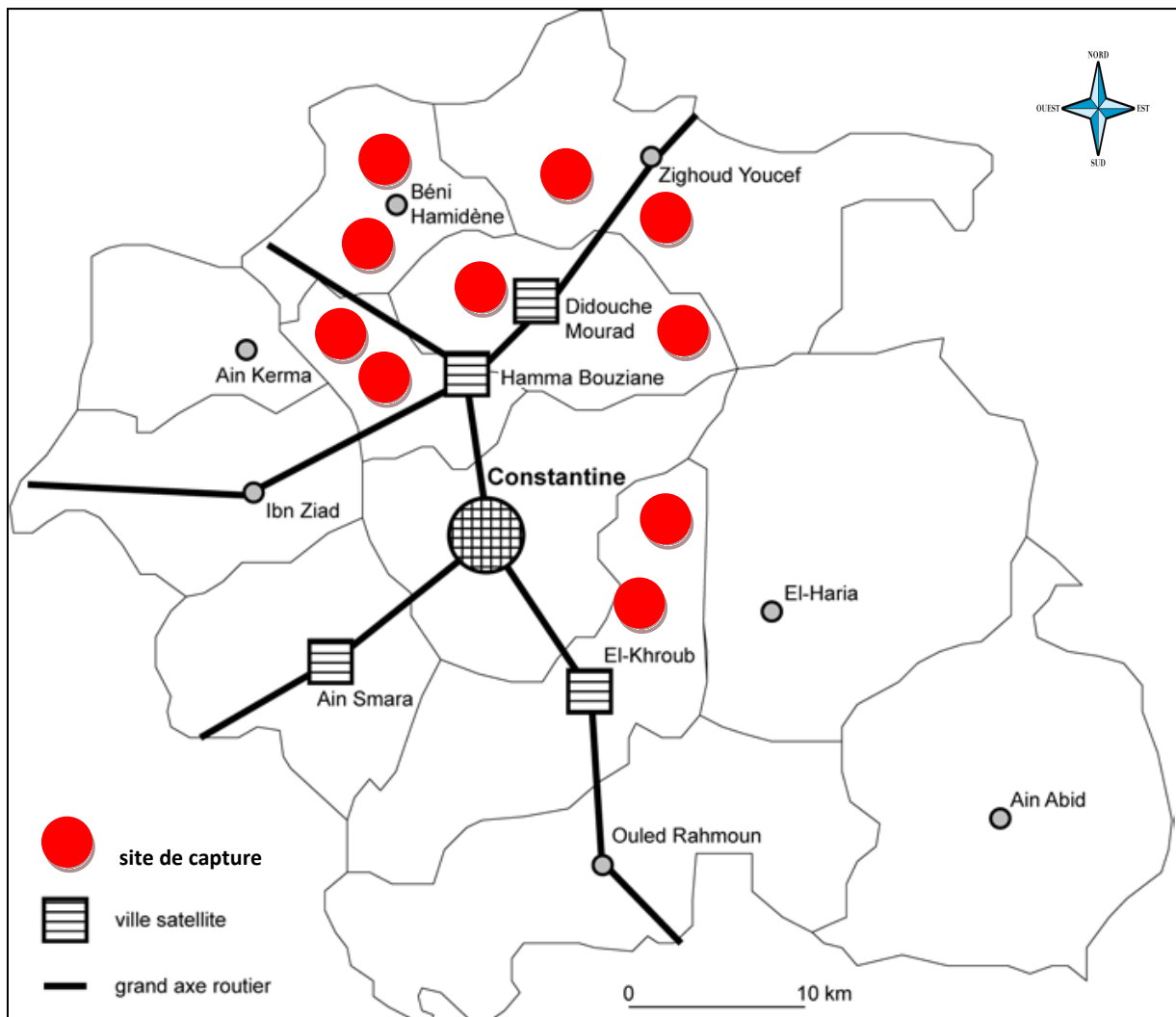


Figure 13: Localisation des sites d'échantillonnage (D'après Benghodbane, 2001).

- **Localité d'El-Khroub**

Deux sites de captures sont choisis dans la commune d'El-Khroub (Daira d'El-Khroub) qui s'étend sur une superficie de 244,65 km² et se situe à 13 km au Sud du chef lieu de la Wilaya de Constantine, à 36°16'0" Nord, 6°42'0" Est et 648 m d'altitude.

Site 1 : situé à 2 km au Nord d'El-Khroub et à 800 m d'une étable de bovins, ce biotope est constitué de mur de soutènement grillagé en bordure de route (**Fig.14**).



Figure 14 : Premier site d'échantillonnage au sein de la localité d'El-Khroub (Photo originale).

Site 2 : c'est une étable de bovins, en pierre avec toiture en tôle, située à 3 km d'El-Khroub (**Fig.15**).



Photo 15 : Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité d'El-Khroub (Photo originale).

- **Localité de Didouche Mourad**

La commune de Didouche Mourad (Daira de Hamma Bouziane) s'étend sur une superficie de 115,70 km² et se situe à 16 km au Nord du Chef Lieu de la Wilaya de Constantine, à 36°27'9" Nord, 6°38'11" Est et 575m d'altitude. Ainsi, deux sites de captures sont choisis au sein de cette localité.

Site 3 : situé à l'entrée du village (à 500 m) et constitué de mur de soutènement en béton armé en bordure de route, situé à l'entrée d'agglomération (**Fig.16**).



Figure 16: Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Didouche Mourad (Photo originale).

Site 4 : c'est un mur d'une ancienne étable délabrée sans toiture, située en périphérie du village (à 1 km du village) (**Fig.17**).



Figure 17 : Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Didouche Mourad (Photo originale).

- **Localité de Hamma Bouziane**

Deux sites de captures sont choisis dans la commune de Hamma Bouziane (Daira de Hamma Bouziane) qui s'étend sur 71,18km² et se situe à 14 km au Nord du Chef Lieu de la Wilaya de Constantine, à 36°25'0" Nord, 6°36'0" Est et 443m d'altitude.

Site 5 : situé à 200 m du village, est constitué d'une ancienne maison en argile et en pierre, présentant des fissurations. Elle se trouve au sommet d'un monticule entouré d'arbres et à proximité d'une étable (**Fig.18**).



Figure 18 : Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Hamma Bouziane (Photo originale).

Site 6 : situé en face du site 5 (à 400 m du village), en bordure de route et en pleine agglomération. Il est constitué d'une maison d'argile et de pierre avec toiture en tôle (**Fig.19**).



Figure 19 : Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Hamma Bouziane (Photo originale).

- **Localité de Beni Hamidène**

La commune de Beni Hamidène (Daira de Zighoud Youcef) qui s'étend sur 131,02 km², se situe à 25 km au Nord du Chef Lieu de la Wilaya de Constantine à 36°30'20" Nord, 6°32'59" Est et 450m d'altitude. Deux sites de captures sont choisis au sein de cette localité :

Site 7 : situé dans une zone d'agglomération, en bordure de route et à 1 km du village. C'est une étable de bovin, en pierre avec toiture (**Fig.20**).



Figure 20 : Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Beni Hamidène (Photo originale).

Site 8 : situé à 3 km du village et en pleine agglomération. Ce site est constitué de maison en argile, avec toiture en bois et en tôle (**Fig.21**).



Figure 21 : Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Beni Hamidène (Photo originale).

- **Localité de Zighoud Youcef**

Deux sites de captures sont choisis dans la commune de Zighoud Youcef (Daira de Zighoud Youcef). Cette dernière s'étend sur une superficie de 236,95 km² et se situe à 29 km

au Nord du Chef Lieu de la Wilaya de Constantine, à 36°31'60" Nord, 6°42'0" Est et 512m d'altitude.

Site 9 : situé à 400 m du village et constitué d'une maison avec toiture en chaume, faite d'argile et de pierre (**Fig.22**).



Figure 22 : Premier site d'échantillonnage au sein de la localité de Zighoud Youcef (Photo originale).

Site 10 : situé à 2k m du village est constitué de mur de soutènement grillagé en bordure de route, tout près d'une étable d'ovins (**Fig.23**).



Figure 23 : Deuxième site d'échantillonnage au sein de la localité de Zighoud Youcef (Photo originale).

2.2. Techniques d'échantillonnage

Le piégeage des phlébotomes est réalisé de 2011 à 2013. La campagne d'échantillonnage est réalisée durant la période d'émergence des phlébotomes, à savoir, de Avril à Novembre de chaque année. Dans cette étude, deux techniques de capture de phlébotomes ont été utilisées : la première facilite la capture des phlébotomes vivants et la deuxième permettant de récupérer des spécimens morts.

2.2.1. Pièges lumineux

Cette méthode est adaptée à la capture des espèces photophiles. A l'inverse d'autres insectes, les phlébotomes demeurent rarement prisonniers d'un flux lumineux. Aussi, une source lumineuse seule ne saurait constituer un véritable piège. 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).

Nous avons utilisé des pièges lumineux miniatures de type CDC (Center for Diseases Control) (**Fig. 24**), modifiés pour la capture des phlébotomes, comportant une ampoule de faible luminosité (0,3 A), un moteur assurant le fonctionnement d'un petit ventilateur entretenant une aspiration de faible intensité et un cylindre transparent qui protège l'ensemble lampe-moteur-ventilateur. La partie supérieure est couverte d'un grillage métallique, évitant la pénétration des insectes de grande taille. La partie inférieure s'ouvre sur une cage cylindrique de tissu à maille fine que l'on peut ouvrir et fermer grâce à un cordon coulissant. Elle permet la récupération des phlébotomes attirés par la lumière et entraînés par l'aspiration créée par le ventilateur.

Ne pouvant être abandonnés en pleine nature une nuit entière sans surveillance, les pièges CDC ont été utilisés dans les sites les plus sécurisés (étables, habitations). Ils 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. Afin d'immobiliser les phlébotomes, la boîte de recueil est mise au congélateur pendant une vingtaine de minutes. Une fois morts, les insectes sont placés dans des tubes contenant de l'alcool absolu.



Figure 24 : Piège lumineux (CDC).

2.2.2. Pièges adhésifs

Connue depuis les travaux des épidémiologistes Russes Vlazov (1932) et Petrischeva (1935) (Croset *et al.*, 1977), est sans doute la mieux adaptée à l'inventaire qualitatif et quantitatif des phlébotomes en région méditerranéenne et tout particulièrement aux études chorologiques (Abonnenc, 1972 ; Madulo-Leblond, 1987). C'est une méthode non sélective qui a été largement utilisée dans ce groupe d'enquête dans divers pays de la région méditerranéenne (Rioux *et al.*, 1964, 1969 ; Schlein *et al.*, 1982). Cette technique consiste à enduire des feuilles en papier glacé de format A4 (21x30cm) d'huile de ricin à l'aide d'un pinceau et ensuite les stockées dans des bacs en plastique jusqu'au jour de l'emploi. Si l'huile de ricin est choisie, c'est parce qu'elle ne possède aucun pouvoir répulsif sur les phlébotomes. Par ailleurs, elle est soluble dans l'alcool, ce qui facilite la récupération des phlébotomes (Bounamous, 2010) sans avoir d'effet néfaste sur le déroulement ultérieur des manipulations, notamment les techniques moléculaires (Berdjane Brouk *et al.*, 2012a) Les feuilles de papier dont la transparence indique une bonne imprégnation huileuse, sont roulées en cornets et introduites dans les anfractuosités des murs (Berchi, 1990) (**Fig.25**).



Figure 25 : Pièges adhésifs (Photos originales).

Les 30 pièges déposés, en moyenne, par station sont relevés après deux jours de piégeage en moyenne pendant la saison chaude et sept jours maximum quand il fait moins chaud. Généralement, une nuit est suffisante pour estimer la densité en nombre de spécimens par nuit et par unité de surface. Ils sont donc relevés après une ou plusieurs nuits de piégeage, ce qui permet de pallier l'irrégularité des sorties. Ils sont alors regroupés par station dans des sacs en plastique portant le numéro de station et le nombre de papiers récupérés. Le dépouillement des papiers est effectué le plus rapidement possible, dans les jours qui suivent pour éviter la détérioration des phlébotomes, à l'aide d'un pinceau imbibé d'alcool absolu. Au total, 400 pièges ont été récupérés des 465 déposés lors de cette campagne d'échantillonnage (Tab.5).

Tableau 5: Nombre de pièges adhésifs (PA) déposés par localité.

Localité	El Khroub		Beni Hamidène		Hamma Bouziane		Zighoud Youcef		Didouche Mourad		Total PA Déposés	Total PA Récupérés
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
Site	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
Année 2011	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Année 2012	30	10	25	30	30	15	20	20	30	10	240	202
Année 2013	20	30	20	30	30	20	25	25	15	30	225	198
Total PA	90		105		95		90		85		465	400

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 difficile l'identification des spécimens. En revanche, elle semble adaptée à la capture des espèces photophiles tels que les phlébotomes qui sont rarement attirés par la lumière vive et semblent même la fuir à partir d'une certaine intensité (Bounamous, 2010).

2.3. Traitement des échantillons

Un traitement préalable des spécimens est obligatoire. Seuls les phlébotomes mâles ont fait l'objet d'éclaircissement, de montage et d'identification. Quant aux femelles, elles sont étuvées pendant 3h30 de temps à 37°C en guise de préparation à l'analyse moléculaire réalisée au Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale à la Faculté de Médecine de Lyon 1 (France).

2.3.1. Eclaircissement

Les phlébotomes mâles sont versés dans une coupelle munie d'un couvercle dans laquelle s'effectueront toutes les manipulations. L'alcool est soutiré à l'aide d'une pipette munie d'une poire en caoutchouc, en prenant bien soin de ne pas aspirer les phlébotomes. L'éclaircissement est fait dans le liquide de Marc André, préparé comme suit : 30 ml d'eau distillée + 40ml d'Hydrate de chloral + 30 ml d'Acide acétique cristallisable (Abonnenc, 1972). Seuls les mâles ont fait l'objet d'un éclaircissement dans le liquide de Marc André, puisque celui-ci risque de fausser l'analyse moléculaire des femelles.

2.3.2. Montage

Après éclaircissement, les mâles sont montés directement (montage rapide) dans une goutte de gomme au chloral préalablement préparée (50 ml d'eau distillée + 50g d'Hydrate de chloral + 20 ml de Glycérine + 30 g de Gomme arabique). Le phlébotome est ensuite déposé en position latérale dans le milieu de montage. La tête est détachée du reste du corps à l'aide de fines aiguilles. Elle est ensuite orientée face ventrale en position supérieure afin de rendre plus aisée l'observation des armatures cibariale et pharyngienne. Les pattes sont soigneusement étalées du côté ventral et les ailes du côté dorsal. Une fois la tête coupée, on maintient le thorax à l'aide d'une fine aiguille et on coupe l'abdomen au niveau de l'avant dernier segment afin de récupérer le génitalia. Tête et génitalia sont ensuite recouverts d'une lamelle ronde. Une légère pression permet de mettre les tissus à observer à plat, permettant une meilleure observation microscopique. Le reste du corps est prélevé et mis dans un tube soigneusement étiqueté et congelé à sec (-20°C) en vue de l'extraction d'ADN.

Il est à noter que les spécimens femelles n'ont pas été identifiés sur le plan morphologique et ce, pour la raison suivante :

- lors du montage, la dissection du génitalia est parfois nécessaire pour montrer certaines structures internes utilisées dans le diagnostic spécifique comme dans le cas de *Larroussius* (Leger *et al.*, 1983). En effet, l'abdomen est coupé au niveau de l'avant dernier segment. Les teguments qui entourent la furca sont extraits afin de récupérer les spermathèques. Cette opération, pourrait nous faire perdre les leishmanies présentes dans le tube digestif du vecteur.

2.4. Identification morphologique des spécimens

Après montage des mâles entre lame et lamelle, les spécimens sont observés avec un microscope photonique de marque Optech portant cinq objectifs : x4, x10, x20, x40, x100. L'identification des échantillons est effectuée au Laboratoire de Biosystématique et Ecologie des Arthropodes (Université des Frères Mentouri, Constantine), selon la clé de détermination des phlébotomes d'Algérie établie par Dedet *et al.*, (1984) (**Annexe I**).

3. Analyse moléculaire

3.1. Détection moléculaire des leishmanies à partir des prélèvements cutanés

Dans le but d'établir un éventuel lien entre les résultats ultérieurs de la détection moléculaire des parasites à partir du vecteur et la leishmaniose cutanée ; nous avons jugé utile de procéder, durant la période de l'étude, à la collecte des prélèvements cutanés ainsi qu'à leur traitement moléculaire. La leishmaniose cutanée étant la forme la plus courante en Algérie et, surtout, dont le diagnostic est le plus facilement accessible.

3.1.1. Prélèvements cutanés

Pour chaque patient, un prélèvement de sang et/ou de sérosités a été réalisé par application d'une bandelette de papier Whatman 3 MM, sur la lésion désinfectée et débarrassée de sa croûte. Les prélèvements sur papier sont complètement séchés à l'air libre et séparés les uns des autres avec du papier absorbant, afin d'éviter d'éventuelles contaminations (Djezzar-Mihoubi, 2006).

Les échantillons collectés sont identifiés et conservés dans des sacs hermétiques, à l'abri de la chaleur et de l'humidité en vue du diagnostic moléculaire au laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale à l'Université Claude Bernard-Lyon1 (France).

Les prélèvements cutanés ont été réalisés, entre 2011 et 2013, sur 79 patients ayant été orientés vers les diverses structures de santé de la Wilaya de Constantine (C.H.U. de Constantine, Hôpital Militaire Abdellali Benbaatouche, Hôpital d'El-Khroub, Hôpital de Didouche Mourad, polycliniques) sur la base de l'aspect clinique évoquant des lésions sèches, érythémateuses, squameuses, papulo-squameuse, cicatricielles, ulcéro-croûteuses et/ou nodulaires inflammatoires au niveau du visage, du cou, des bras, des mains, des jambes, des pieds et du dos (**Annexe II**).

Les patients provenaient de Constantine (Bentchikou, Ziadia, Djebel El Ouehch et Ain Smara) et de ses environs (Hamma Bouziane, Zighoud Youcef, Didouche Mourad, Beni Hamidèn, Oued El-Athmania, Oued seguin, Teleghma, Ouled Rahmoune, Ibn Ziad et Ain Abid) ainsi que d'autres Wilayas (Alger, Msila, Mila, Jijel, Batna, Oum El Bouaghi, Skikda, Sétif, Ghelizane) et parfois des Wilayas du Sud du pays tels que Biskra, Ghardaia, Adrar et Timimoun.

3.1.2. Extraction d'ADN

L'ADN a été extrait à partir des buvards en utilisant la résine chélatrice d'ADN, InstaGene (Biorad, Marnes la Coquette, France), selon le protocole de Djezzar-Mihoubi (2006) :

Dans un tube Eppendorf stérile de 1,5 ml contenant une zone imprégnée découpée en petits morceaux d'environ un centimètre de diamètre, 1 ml de saponine à 5% a été ajouté et laissé incubé 1 heure à température ambiante en agitant par retournement en milieu et fin d'incubation. Après centrifugation à 8000 tours/mn pendant 3 mn, on élimine le surnageant. Après homogénéisation, 200 µl de résine Instagene ont été rajoutés. Les tubes sont ensuite placés pendant 30 minutes à 56 °C au bain-Marie et mélangés en milieu et fin d'incubation. A la fin de l'incubation, le tube est immédiatement plongé dans de l'eau bouillante pendant 8 minutes. Après centrifugation à 14000 tours/mn pendant 3 mn, le surnageant récupéré, dilué au 1/5 dans de l'eau stérile est ensuite conservé à - 20°C avant la PCR.

3.1.3. PCR en Temps Réel

La PCR en temps réel du genre *Leishmania* effectuée sur les prélèvements cutanés a été réalisée en tubes capillaires, en utilisant le Lightcycler (Roche Diagnostic Ref. : 2239264)

selon la technologie Sybr Green I, qui est un agent intercalant de l'ADN émettant une fluorescence verte quand il est incorporé dans de l'ADN double brin. L'intensité lumineuse émise par le fluorochrome mesurée à la fin de chaque cycle d'amplification, est donc proportionnelle à la quantité de l'ADN cible présent dans l'échantillon. Les amorces utilisées sont : JW 11 (5'-CCTATTTTACACCAACCCCCAGT-3') et JW 12 (5'-GGGTAGGGGCGTTCTGCGAAA-3') (Nicolas *et al.*, 2002) choisies sur la partie conservée de l'ADN des gènes codant les minicircles, ces amorces permettent l'amplification du genre *Leishmania* (Nicolas *et al.*, 2002). Dans chaque série sont inclus : un contrôle négatif correspondant au sang humain non parasité et un contrôle positif correspondant à la souche de référence : *L. infantum* (MOHM/TN/80/IPT1).

Les conditions de la PCR sont les suivantes: après une dénaturation de 4 minutes à 95°C, l'amplification se déroule pendant 35 cycles avec une étape de dénaturation (95°C pendant 10 secondes), d'hybridation (62°C pendant 10 secondes) et d'élongation (72°C pendant 10 secondes) (Djezzar-Mihoubi, 2006). L'identification du produit de PCR est faite au cours d'une phase additionnelle ou phase de melting post amplification par l'analyse de la température de fusion spécifique du produit amplifié (Djezzar-Mihoubi, 2006).

3.2. Détection par PCR des leishmanies à partir des phlébotomes femelles

La PCR en temps réel effectuée sur les phlébotomes est également réalisée au Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale à l'Université Claude Bernard-Lyon1 (France).

3.2.1. Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN leishmanien a été réalisée en utilisant le Kit d'extraction QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Germany) (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012a), selon le protocole décrit par le fournisseur :

Dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml contenant chacun 25 femelles entières, 180µl de tampon de lyse ATL ont été ajoutés, puis 20µl de Proteinase K. Le tout a été vortexé pendant 15 secondes puis incubé à 56°C au bain Marie pendant toute la nuit. 200µl de chacun du tampon AL et de l'éthanol (100%) ont été ajoutés respectivement et les tubes ont été incubés à température ambiante pendant 5 minutes. Après une brève centrifugation, le lysat a été transféré dans une colonne (placée sur tube collecteur identifié à 2 ml) et centrifugé à 6000g

pendant 1 minute, avant de rajouter 500µl du tampon AW1, 700µl du tampon AW12 et 700 µl d'éthanol (100%). Après une centrifugation à 20 000g pendant 3 minutes (afin de sécher complètement la membrane), la colonne a été placée sur un tube Eppendorf de 1,5ml stérile identifié et laissé incubé à 56°C pendant 3 minutes. L'ADN a été extrait après ajout de 30 µl d'ATE, incubation à température ambiante puis centrifugation à 20 000g. L'ADN est ensuite conservé dans des tubes Eppendorf à -20°C.

3.2.2. PCR en Temps Réel

La PCR en temps réel du genre *Leishmania* a été réalisée sur Lightcycler™ (Roche Diagnostic Ref. : 2239264) selon la technologie Sybr Green I.

3.2.2.1. PCR en temps réel Genre

La PCR en temps réel du genre *Leishmania* effectuée sur les phlébotomes s'est déroulée dans les mêmes conditions que la PCR genre réalisée sur les prélèvements cutanés, en utilisant les amorces JW11 (5'-CCTATTTTACACCAACCCCCAGT-3') et JW12 (5'-GGGTAGGGGCGTTCTGCGAAA-3') (Nicolas *et al.*, 2002), tout en incluant : un contrôle négatif (sang humain non parasité) et un contrôle positif (Souche de référence : *L. infantum* : MOHM/TN/80/IPT1).

3.2.2.2. PCR en temps réel Espèce

La PCR d'espèce en temps réel s'est déroulée dans les mêmes conditions que la PCR genre mais en utilisant d'autres amorces : JW13 (5'-ACTGGGGGTTGGTGTAAAATAGG - 3') et JW14 (5'- TTTCGCAGAACGCCCTACCC - 3') (Nicolas *et al.*, 2002) permettant l'identification des espèces *L. donovani*, *L. infantum*, *L. major* et *L. tropica*. Le mélange réactionnel est identique à celui préparé pour la PCR genre. Sont inclus dans chaque série, un contrôle négatif (sang humain non parasité) et un contrôle positif représenté par les quatre souches de référence : *L. major*, *L. donovani*, *L. tropica* et *L. infantum* (Djezzar-Mihoubi, 2006).

CHAPITRE III : Résultats

1. Enquête entomologique

Au total, 5858 phlébotomes sont capturés entre 2011 et 2013 entre les mois de Juin et Novembre de chaque année. Le piégeage a duré, en moyenne, pendant 540 nuits, ce qui correspond à 180 nuits par an. Les captures sont réalisées dans différentes localités de la région de Constantine (El-Khroub, Didouche Mourad, Hamma Bouziane, Beni Hamidène et Zighoud Youcef) en utilisant deux types de pièges. Le nombre de spécimens, en fonction du sexe et du type de piège, est illustré dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Nombre de phlébotomes capturés par année, par sexe (M,F) et par types de piégeage : CDC et pièges adhésifs (PA).

Site	2011				2012				2013				Total	
	CDC		PA		CDC		PA		CDC		PA		M	F
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F				
El khroub	-	-	-	-	10	7	34	18	230	298	566	98	840	421
Beni Hamidène	5	3	-	-	15	10	40	15	444	180	606	120	1110	328
Hamma Bouziane	10	22	-	-	26	8	55	40	522	70	514	180	1127	320
Didouche Mourad	0	5	-	-	9	16	4	9	295	20	190	191	498	241
Zighoud Youcef	0	3	-	-	19	15	51	10	405	90	310	70	785	188
Total	15	33	-	-	79	56	184	92	1896	658	2186	659	4360	1498
	48		-		135		276		2554		2845		5858	

2. Inventaire faunistique

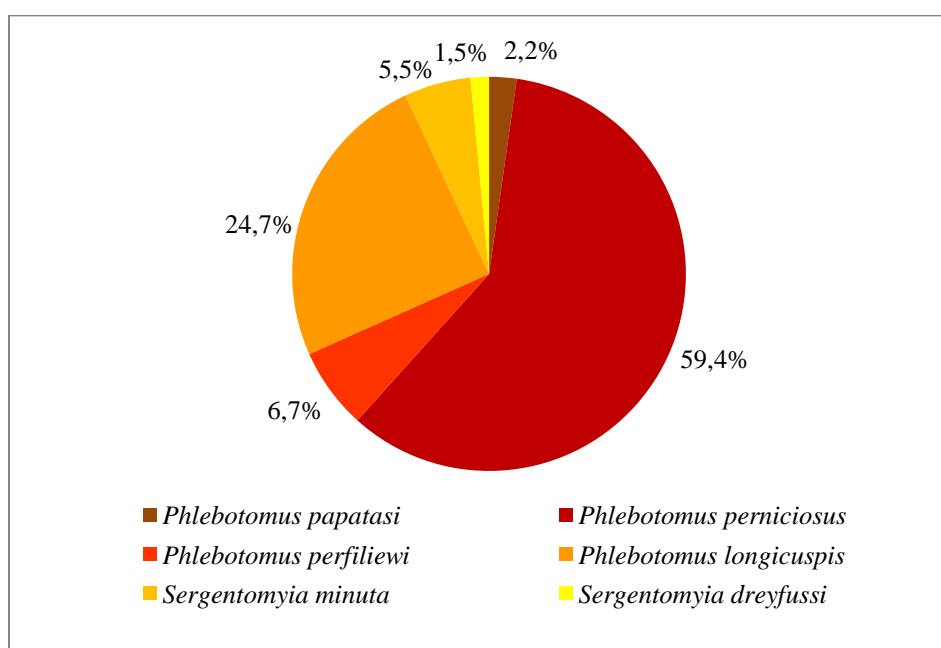
L'inventaire faunistique montre que 74% de la population phlébotomienne sont constitués de mâles (4360 spécimens) contre 26% de femelles (1498 spécimens). L'identification morphologique des mâles, réalisée selon les critères de classification de Parrot (1934) et Dedet *et al.*, (1984) (**Annexe III**), révèle la présence de 6 espèces : quatre appartenant au genre *Phlebotomus* : *P. papatasi* (Sous-genre : *Phlebotomus*), *P. perniciosus*, *P. perfiliewi* et *P. longicuspis* (Sous-genre : *Larrousius*) et deux au genre *Sergentomyia* : *S. minuta* (Sous-genre : *Sergentomyia*) et *S. dreyfussi* (Sous-genre : *Grassomyia*) (**Tab.7**).

Tableau 7: Genres, sous-genres et espèces identifiés.

Genres	Sous-genres	Espèces	Nombre de mâles	(%)
<i>Phlebotomus</i> Rondani et Berté, 1840	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus papatasi</i> Scopoli, 1786	98	2,2
	<i>Larroussius</i>	<i>Phlebotomus perniciosus</i> Newstead, 1911	2590	59,4
		<i>Phlebotomus perfiliewi</i> Parrot 1930	291	6,7
		<i>Phlebotomus longicuspis</i> Nitzulescu, 1911	1077	24,7
<i>Sergentomyia</i> Franca et Parrot, 1920	<i>Sergentomyia</i>	<i>Sergentomyia minuta</i> Alder et Theodor, 1927	238	5,5
	<i>Grassomyia</i>	<i>Sergentomyia dreyfussi</i> Parrot, 1933	66	1,5

Le genre *Phlebotomus* prédomine avec 93% de la population contre 7% représentés par le genre *Sergentomyia*. Concernant les sous-genres, la population est dominée par le sous-genre *Larroussius* qui détient 90,8% de l'effectif, suivie de *Sergentomyia* avec 5,5% des spécimens. Les sous-genres les moins représentés sont *Phlebotomus* avec 2,2% et *Grassomyia* avec 1,5% de la population.

Quant aux espèces, *P. perniciosus* est la plus abondante avec 59,4% de la population, suivie de *P. longicuspis* avec 24,7% de l'effectif. *P. perfiliewi* est peu représentée avec 6,7% des spécimens suivie de *Sergentomyia minuta* (5,5%). Les espèces les moins abondantes sont: *P. papatasi* avec 2,2% suivie de *S. dreyfussi* avec 1,5% seulement de la population (**Fig.26**).

**Figure 26:** Pourcentage des six espèces identifiées.

2.1. Description des espèces capturées

La description des espèces identifiées portera sur l'écologie, l'éthologie ainsi que le rôle vecteur de chacune des six espèces répertoriées.

2.1.1. Espèces du genre *Phlebotomus*

2.1.1.1. *Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi* (Scopoli, 1786)

P. papatasi est signalé pour la première fois en Grèce (Athènes) en 1911. Espèce type du sous-genre *Phlebotomus* qui regroupe actuellement quatre espèces (*P. papatasi*, *P. bergeroti*, *P. duboscqi* et *P. salehi*) (Bounamous, 2010). *P. papatasi* figure parmi les espèces les plus étudiées à cause de sa fréquence et de l'importance de son aire de distribution géographique (Lewis, 1982). C'est une espèce paléarctique qui s'étend sur la région méditerranéenne. En Afrique, elle pousse une pointe vers le Sud en suivant la vallée du Nil et atteint la région éthiopienne au niveau de la République du Soudan où elle dépasse le 10^{ème} parallèle, à l'Ouest jusqu'au Bangladesh à l'Est et du Sud de l'ex U.R.S.S. au Nord (Bounamous, 2010). Elle est rare dans les zones humides, et bien adaptée aux zones arides. Elle est remplacée par *P. bergeroti* (Parrot, 1936) dans le centre et le Sud du Sahara, et par *P. duboscqi* (Neveu-Lemaire, 1938) en Afrique. Elle se rencontre avec une fréquence marquée dans les stations sèches situées en terrain plat à couverture végétale rasée ou de type steppique (Guernaoui, 2000 ; Boussaa, 2003).

En Algérie, *P. papatasi* est largement répandu sur tout le territoire algérien. Particulièrement abondant dans toute la frange steppique Nord saharienne et se rencontre également dans le Tell et sur les Hauts Plateaux (Dedet et Addadi, 1977a ; Dedet *et al.*, 1984 ; Berchi, 1993 ; Izri *et al.*, 1992 ; Depaquit *et al.*, 2008). Elle se présente comme une espèce très anthropophile et domestique (Depaquit *et al.*, 2001 ; Hanafi *et al.*, 2007) et se trouve avec un maximum de fréquence dans les stations de basse altitude au dessous de 300 m.

Son développement qui dure 7 mois, exige des endroits riches en débris végétaux (Killick-Kendrick, 1999 ; Wasserberg *et al.*, 2003). Les adultes issus des pontes de Septembre apparaissent à la fin Avril ou début Mai (Bounamous, 2010). Selon Guernaoui (2000) et Boussaa et ses collaborateurs (2005), cette espèce abonde dans les zones urbaines où le climat est aride et sa densité est maximale de la fin du mois de Juin à la fin du mois d'Octobre. D'après Killick-Kendrick (1999) et Wasserberg *et al.*, (2003), l'activité des phlébotomes

semble limitée par les hautes températures. Dans le Nord de la Palestine, les populations de phlébotomes sont répandues d'Avril à Novembre avec un pic entre Juin et Aout (Kravchenko *et al.*, 2004). D'après Chelbi et ses collaborateurs (2007), dans les pays du Maghreb, *Phlebotomus papatasi* Scopoli culmine au cours de Septembre. Il semble inféodé aux terriers des rongeurs dans plusieurs foyers de leishmaniose à *L. major* (Schlein *et al.*, 1989 ; Janini *et al.*, 1995), en Libye (Ashford *et al.*, 1977) et en Iran (Theodor et Mesghali, 1964).

P. papatasi est un vecteur confirmé de la leishmaniose cutanée à *L. major* (Rioux *et al.*, 1986a ; Killick-Kendrick, 1990), notamment en Algérie où le rôle de ce phlébotome dans la transmission de la leishmaniose cutanée a été démontré expérimentalement par Sergent *et al.*, (1921). En écrasant sept femelles de *P. papatasi* provenant de la région de Biskra, Sergents et ses collaborateurs (1921) ont ainsi réussi à développer chez ce sujet qui n'avait jamais séjourné en zone d'endémie, une leishmaniose cutanée typique (Sergent *et al.*, 1921). Les *Leishmania* (*L. major* MON-25) ont été également retrouvées dans les prélèvements d'Izri *et al.*, (1992), confirmant ainsi le rôle de cette espèce dans la transmission de la leishmaniose cutanée zoonotique sévissant sur la frange septentrionale du Sahara algérien. L'isolement et le typage du parasite chez ce vecteur a confirmé son rôle épidémiologique dans plusieurs pays dont l'Iran (Yaghoobi-Ershadi *et al.*, 1995), l'Irak (Lay, 2004), l'U.R.S.S., la Palestine (O.M.S., 1990), l'Arabie Saoudite (Killick-Kendrick *et al.*, 1985a), le Maroc (Rioux *et al.*, 1986b), la Tunisie (Ben-Ismaïl *et al.*, 1987) et l'Egypte (Hanafi *et al.*, 2007).

Le rongeur hôte réservoir incriminé dans la transmission de *L. major* est *Meriones shawi* au Maroc (Petter, 1988) et en Tunisie (Rioux *et al.*, 1986b). L'hôte réservoir connu en Algérie est *Meriones shawi* (Belazzoug, 1986a) et *Psammomys obesus* (Belazzoug, 1983).

2.1.1.2. *Phlebotomus (Larrousius) perniciosus* (Newstead, 1911)

Phlebotomus perniciosus, décrite dans l'île de Malte par Newstead (1911), est l'une des premières espèces étudiées dans le bassin Méditerranéen. Son polymorphisme est démontré par Parrot en 1936, en comparant des individus de France, d'Algérie et d'Espagne (Bouamou, 2010).

Cette espèce occupe un très vaste territoire géographique dans tout le bassin méditerranéen, particulièrement dans la partie septentrionale, jusqu'à la lisière saharienne (Tassili et Hoggar) (Rioux *et al.*, 1967 ; Lewis, 1982) et son aire de répartition se limite à l'Est par les chaînes dinariques du fait de sa présence jusqu'en Istrie et de son absence dans

tous les pays situés à l'Est de la Croatie (Marchais, 1992). Ainsi, la répartition géographique de *P. perniciosus* s'étend du Nord vers le Sud avec une augmentation concomitante de sa relative abondance (Bounamous, 2010).

En Algérie, cette espèce est signalée pour la première fois en 1914 à Biskra par Sergent. Vu la ressemblance étroite entre mâles de *P. perniciosus* et *P. longicuspis* qui sont facilement confondus, l'identification de *Phlebotomus perniciosus* n'a été confirmée qu'après différenciation de *P. longicuspis* en 1930 (Bounamous, 2010).

Dans l'Est algérien, cette espèce se retrouve dans tous les étages bioclimatiques avec cependant une fréquence relativement élevée dans les zones humides (Berchi, 1993). La répartition géographique de *P. perniciosus* est essentiellement tellienne particulièrement constante en grande Kabylie (étage bioclimatique humide et sub-humide) et le Constantinois (étage semi-aride), deux régions étant endémiques de la leishmaniose viscérale (Bounamous, 2010).

Sa distribution, s'étend au Sud, les Aurès, la Steppe et la zone présaharienne, où le bioclimat est aride, voir même saharien mais à un très faible pourcentage (Dedet *et al.*, 1984 ; Belazzoug, 1991 ; Berchi, 1993). Sa présence a été mentionnée par Izri *et al.*, (1994), depuis le péri-aride où il est rare, jusqu'aux régions humides où il abonde (Harrat et Belkaid, 2003). De part son caractère endophile et anthropozoophile (Rossi *et al.*, 2008), elle se retrouve fréquemment en zone urbaine, dans les parcs, les jardins et à l'intérieur des habitations. Deux pics annuels de forte densité sont observés en Afrique du Nord, en Italie et dans les Baléars (Bounamous, 2010). L'un observé en Juin, correspondrait à l'émergence des imagos provenant des pontes d'automne, l'autre de fin Aout à fin Septembre, plus important et proviendrait de pontes de la génération précédente (Parrot, 1933a ; Croset *et al.*, 1970 ; Biocca *et al.*, 1977 ; Garcia-Segui et Puntas, 1991). En Algérie, deux pics maximums sont également signalés : l'un en Juin-Juillet et l'autre en Octobre (Dedet *et al.*, 1984 ; Berchi, 1993). En Italie, *P. perniciosus* apparaît assez tôt dans l'année, généralement dès le mois de Mai et persiste jusqu'à Octobre (Rossi *et al.*, 2008). Au Maroc, cette espèce se trouve majoritairement entre 1000 et 1200 m (Guernaoui *et al.*, 2006). Sa prévalence est significativement plus élevée dans les sites domestiques que dans les sites de repos sauvages.

P. perniciosus a été démontré en tant que vecteur de leishmanioses viscérale et cutanée due à *L. infantum*, au Portugal, en l'Italie, au Maroc et en Tunisie, où les hôtes réservoirs sont des *Canidae* (Izri *et al.*, 1990). Son rôle joué dans la transmission de la LV dans le bassin méditerranéen a été suspecté par Sinton dès (1925). Cette espèce est connue pour son pouvoir

vectorel à transmettre *L. infantum* MON-1 (Izri *et al.*, 1990 ; Izri et Belazzoug, 1993 ; Zhioua *et al.*, 2007). A Alger, en 1930, Parrot a réussi à infecter quatre femelles de cette espèce sur un total de 53 nourries sur un chien leishmanien (Parrot *et al.*, 1931). Durant la même période, Adler et Theodor réussissent à infecter 15 sur 18 des femelles nourries sur un hamster infecté par des *Leishmania* d'origine humaine. Les mêmes auteurs, en 1931 infectent cette espèce à partir de l'Homme et du chien. Dès lors, *P. perniciosus* est considéré comme principal vecteur de la LV (Biocca *et al.*, 1977) dans les pays méditerranéens (Killick-Kendrick, 1990 ; Belazzoug, 1992).

Par ailleurs, en 2008, Rossi et ses collaborateurs ont capturé un nombre important de *P. perniciosus* dans des sites où ont été signalées la grippe aviaire et/ou ovine. Pour ces auteurs, cela supposera peut être l'implication de l'espèce *P. perniciosus* dans la transmission de virus.

2.1.1.3. *Phlebotomus (Larrousius) perfiliewi* (Parrot, 1930)

Cette espèce a été décrite de Crimée par Parrot (1930). En 1935, le même auteur signale sa présence en Algérie. En 1937, Perfiliev observe dans la Transcaucasie des variations des paramères et des valves péniennes sur des mâles et baptise *P. perfiliewi* par *transcausicus* (Bounamous, 2010). Largement répandue dans la partie Est du Maghreb et de l'Europe Orientale (Balkans) (Izri *et al.*, 1994 ; Zhioua *et al.*, 2007), la présence de *P. perfiliewi* se limite à la zone bioclimatique semi-aride (Ghrab *et al.*, 2006). D'après Veronesi et ses collaborateurs (2009), le Nord de l'Italie représente sa limite occidentale en Europe. En 2007, les mêmes auteurs ont démontré que *P. perfiliewi* semble être lié à la présence de bétail domestique vu que les captures les plus importantes ont été effectuées dans des abris d'animaux. Zivkovic et Miscevic (1979) l'ont aussi signalé en Serbie et confirment le tropisme positif pour la lumière artificielle confirmant ainsi le constat avancé par Maroli et Bettini (1977) selon lequel les mâles seraient plus abondants, en milieux urbains, lors de piégeages lumineux effectués.

En Algérie, *Phlebotomus perfiliewi* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans les captures. Lors de son étude sur les phlébotomes de l'Est algérien, Bounamous (2010) a constaté que le pourcentage très faible des femelles de *P. perfiliewi* parasitées dans les différents foyers étudiés contraste avec la densité toujours très élevée des populations de cette espèce. Elle est inféodée aux zones bioclimatiques humide, sub-humide et semi-aride (Russo

et al., 1991) et absente dans la zone bioclimatique aride (Bellazoug *et al.*, 1986d ; Berchi, 1993). Elle atteint son maximum de développement au mois d' Août (Izri *et al.*, 1994), alors que Croset et ses collaborateurs (1970), observent deux pics de piégeage en Tunisie, l'un en Juin, l'autre en Août-Septembre.

Connue pour son caractère endo-exophile, elle se rencontre aussi bien dans les habitations humaines que dans les sites d'animaux (Izri et Bellazoug, 1993). Par ailleurs, les préférences trophiques des femelles de *P. perfoliawi* semblent être le chien, le mouton, le bœuf, le cheval et le rat (Zivkovik et Miscevic, 1979). Le chien reste toutefois le principal réservoir de la souche *Leishmania infantum* (Bounamous, 2010).

Connu en tant que vecteur de leishmaniose cutanée notamment en Italie et en Serbie (Biocca *et al.*, 1977 ; Maroli et Bettini, 1977 ; Zivkovik, 1977).

En Algérie, *P. perfoliawi* représente la principale espèce vectrice des leishmanioses au Nord du pays (Moulahem *et al.*, 1998). Elle est considérée comme vecteur de la leishmaniose viscérale, cutanée, notamment la leishmaniose cutanée sporadique du Nord suite à la capture des spécimens parasités en Kabylie et dans la région de Ténès où les parasites isolés ont été identifiés comme *L. infantum* MON-24 (Izri et Belazzoug, 1993).

2.1.1.4. *Phlebotomus (Larrousius) longicuspis* (Nitzulescu, 1930)

Décrite en Tunisie par Nitzulescu (1930). C'est une espèce étroitement apparentée à *P. perniciosus* Newstead (1911). D'après des travaux basés sur des caractères morphologiques, isoenzymatiques et moléculaires, il semblerait qu'il s'agisse d'un complexe d'espèces (Benabdennebi *et al.*, 1999 ; Martin-Sanchez *et al.*, 2000 ; Pesson *et al.*, 2004).

Phlebotomus longicuspis est inféodé à la partie occidentale du bassin méditerranéen où il se trouve en sympatrie sur la presque totalité de la zone de distribution de *P. perniciosus*. Sa zone de répartition s'étend de la limite Nord du Sahara au Sud de la péninsule ibérique (Bounamous, 2010). Depaquit et ses collaborateurs (2005b) identifient pour la première fois des *P. longicuspis* à Ouagadougou. *Phlebotomus longicuspis* est la principale espèce dans la zone bioclimatique subsaharienne avec une abondance relative (Ayadi *et al.*, 1991). Des résultats similaires ont été signalés dans le Sud du Maroc où *P. longicuspis* est l'espèce la plus abondante dans les zones bioclimatiques arides, et par conséquent, elle est soupçonnée d'être le seul vecteur de la LV dans cette région (Deureure *et al.*, 1986 ; Rioux *et al.*, 1997) et en Tunisie (Zhioua *et al.*, 2007).

En Algérie, elle a été signalée pour la première fois par Parrot (1936). Sa présence a été mentionnée par le même auteur en 1951 à Alger et dans sa banlieue où elle est plus commune avec *P. perniciosus* (Harrat *et al.*, 1993), à Biskra et dans la palmeraie voisine (Parrot et Clastrier, 1956), dans le Tell algérien (Parrot, 1936), en étage saharien (Berchi, 1993) et plus particulièrement dans les hauts plateaux dans les étages aride et per-aride (Croset *et al.*, 1978) et en zone rurale et sauvage (Dedet *et al.*, 1984). Elle est plus fréquente dans les zones bioclimatiques semi-aride, aride et per-aride méditerranéennes (Rioux *et al.*, 1984) où elle active de Mai à Octobre, avec une densité maximale de Juin à Septembre (Bailly-Choumara *et al.*, 1971). Cette espèce vient en troisième position par sa densité alors qu'elle semble moins abondante à l'Est (Russo *et al.*, 1991 ; Harrat et Belkaid, 2003). Dans une étude sur les phlébotomes marocains faite en 2006, Guernaoui et ses collaborateurs, montrent que *P. longicuspis* vit préférentiellement entre 600 et 800 m d'altitude. L'éthologie de cet insecte est souvent rapprochée de celle de *P. perniciosus* avec qui il est d'ailleurs parfois confondu (Berchi *et al.*, 2007), notamment en ce qui concerne l'identification des femelles (Benabdennabi *et al.*, 1999 ; Pesson *et al.*, 2004).

Depuis les années quarante, *P. longicuspis* est considéré comme un important vecteur de la leishmaniose viscérale à *L. infantum* en Algérie (Parrot *et al.*, 1941b ; Parrot et Donatien, 1952 ; Belazzoug, 1984 ; Izri *et al.*, 1990 ; Rioux *et al.*, 1990 ; Moulahem *et al.*, 1998 ; Harrat et Belkaid, 2003).

2.1.2. Espèces du genre *Sergentomyia*

2.1.2.1. *Sergentomyia (Sergentomyia) minuta* (Adler et Theodor, 1927)

Sergentomyia minuta se rencontre exclusivement sur la bordure Nord et Sud du bassin méditerranéen, du Maroc à Chypre et de la Méditerranée au Sahara (Bounamous, 2010), avec de fortes densités aux étages subhumide et humide (Croset, 1969 ; Boussaa *et al.*, 2007).

En Algérie, *S. minuta* est le phlébotome le plus abondant (Belazzoug *et al.*, 1982b) vu sa présence sur l'ensemble du territoire du Nord au Sud, d'Est en Ouest, dans chaque étage bioclimatique et toute altitude y compris au dessus de 1200 m (Bounamous, 2010). Les fortes densités sont localisées aux étages subhumide et humide (Harrat *et al.*, 1993).

A l'état adulte, cette espèce colonise les biotopes les plus variés (Rioux *et al.*, 1974a). Toutefois, elle abonde dans les excavations rocheuses (falaises, ruines, murs de soutènements, ...) (Bounamous, 2010). Cette espèce herpétophile, se rencontre aussi bien en milieu urbain

qu'en pleine nature (Dedet *et al.*, 1984). D'après les mêmes auteurs, dans la barbacane, l'imago femelle de *S.minuta* est parfaitement à sa place, car elle cohabite avec le lézard des murailles qui constitue son hôte préférentiel. Elle se rencontre avec une concentration particulière dans les fissures de clôture en pierres, dans les murs en ruines et dans les barbicanes sèches (Dancesco *et al.*, 1970 ; Berchi *et al.*, 1993). Vu leur richesse en matière organique et leur stabilité thermo-hygrométrique, ces habitats constituent un milieu de prédilection pour la ponte et l'évolution larvaire (Rioux *et al.*, 1974b). Selon Rioux *et al.*, (1975) ; Léger *et al.*, (1979) ; Belazzoug *et al.*, (1982b) ; Pesson *et al.*, (1984) ; Boussaa *et al.*, (2009), *S.minuta* peut effectuer la totalité de son cycle biologique dans cette niche et n'en sortir que pour sa dispersion.

Les phlébotomes du genre *Sergentomyia* sont herpétophiles. Ils sont impliqués dans la transmission de *Sauroleishmania*, Trypanosomatides de reptiles dans l'ancien monde (Karimi *et al.*, 2014). Bien que certaines espèces se nourrissent sur l'Homme (Hoogstraal *et al.*, 1962), elles ne lui présentent, pour le moment, aucun risque épidémiologique (Lane et Crosskey, 1993). Plusieurs virus ont été isolés des phlébotomes du genre *Sergentomyia* comme le virus *Saboya chandipura* et les virus ArD 95737 (Ba *et al.*, 1999) et ArD 111740 (Charrel *et al.*, 2006). D'après les mêmes auteurs, l'isolement de l'ARN de virus humains chez les espèces du genre *Sergentomyia*, a permis de soupçonner leur rôle vecteur.

Récemment, la mise en évidence de l'ARN de virus de Toscana chez *Sergentomyia minuta*, a permis de soupçonner le rôle vecteur des espèces du genre *Sergentomyia* (Charrel *et al.*, 2006 ; Izri *et al.*, 2008).

2.1.2.2. *Sergentomyia (Grassomyia) dreyfussi* (Parrot, 1933)

C'est une espèce de liaison méditerranéo-éthiopienne, identifiée pour la première fois à Laghouat (Sahara) (Parrot, 1933b) en tant que sous-espèce de *P. squamipleuris*. En 1976, Abonnenc et Léger ont proposé d'élever au rang générique les *Grassomyia* mais la classification des phlébotomes établie par Rispaïl et Léger (1998b) considère les *Grassomyia* comme un sous-genre du genre *Sergentomyia*. Sa répartition est essentiellement Nord africaine.

Signalée pour la première fois en Algérie dans la région de Ténès au Nord du pays par Izri *et al.*, (1994). Elle se rencontre au Sud (Laghouat, Biskra), au Sahara central (Tassili,

Ajjer et au Hoggar) et à Beni Ounif de Figuig dans le Sahara oranais (Abonnenc, 1972 ; Belazzoug et Mahzoul, 1986c).

A l'instar des autres espèces du genre *Sergentomyia*, cette espèce ne semble pas poser de problème de santé chez l'Homme (Karimi *et al.*, 2014).

3. Détection moléculaire des leishmanies à partir des prélèvements cutanés

3.1. Patients

79 patients ont été inclus pendant la période de l'étude (**Annexe II**). Le sexe ratio est de 2,03 (53 hommes/26 femmes). L'âge moyen des patients est 33 ans, avec 35 ans pour les hommes et 28 ans pour les femmes. Les enfants ayant un âge compris entre 14 mois et 15 ans. Les cas suspects ont pour origine la Wilaya de Constantine et de ses environs et sont répartis selon le tableau ci-dessous (**Tab.8**). Il en ressort que les régions concernées par ce travail, représente un pourcentage de cas suspects compris entre 2,53% et 16,45%.

Tableau 8 : Répartition géographique des cas suspects.

Régions	Nombre de patients suspects	Pourcentage (%)
Constantine	13	16,45
Zighoud Youcef	4	5,06
Ibn Ziad	3	3,79
Beni H'miden	3	3,79
Didouche Mourad	2	2,53
Hamma Bouziane	3	3,79
Oum El Bouaghi	5	6,32
Skikda	4	5,06
Grarem	2	2,53
Mila	9	11,39
Autres : Ain Abid, Aïn Baida, Biskra, Batna, Alger etc...	31	39,24
Total	79	100%

Cliniquement, les lésions siégeaient le plus souvent, sur les parties découvertes. Les patients présentant des formes crouteuses, nodulaires, squameuses et/ou érythémateuses au niveau du visage (nez, joue, œil, menton, front), cou, bras, jambe et dos, sont originaires de la Wilaya de Constantine (Djebel El Ouehch, Ain Smara), ses environs (Hamma Bouziane,

Didouche Mourad, Zighoud Youcef et Ibn Ziad) ainsi que d'autres Wilayas (Jijel, Skikda, Mila, Sétif, Oum El Bouaghi, Batna, Ghélizane, Msila, Ghardaia et Adrar).

3.2. PCR en temps réel

Sur les 79 patients suspects recensés entre 2011 et 2013, 57% (45 cas) des prélèvements se sont révélés positifs.

Les cas confirmés de leishmaniose cutanée par PCR Genre positive, entre 2011 et 2012, sont de l'ordre de 33 (62% des cas). L'âge des patients varie de 2 à 78 ans, avec un sex-ratio égale à 2,66 (24 hommes/9 femmes). Parmi les malades, 10 enfants dont l'âge inférieur ou avoisine les 15 ans sont porteurs des leishmanies.

Douze cas positifs seulement sont diagnostiqués de 2012 à 2013 soit 46,1% des cas suspects avec un sexe-ratio égale à 11 (11 hommes/1 femme) (**Tab. 9**). On note, parmi les malades âgés de 16 mois à 70 ans, 7 enfants dont l'âge inférieur ou avoisine les 15 ans.

Tableau 9 : Cas de leishmaniose cutanée par RT-PCR de 2011 à 2013 dans la Wilaya de Constantine et de ses environs.

	Cas Suspects	Sexe		Cas positifs	(%)	Sexe		Age (ans)
		Femmes	Hommes			Femmes	Hommes	
2011	53	16	37	33	62,2	9	24	2-78
2012								
2012	26	10	16	12	46,1	1	11	16 mois -70
2013								
Total	79	26	53	45	56,9	10	35	-

4. Détection par PCR des leishmanies à partir des phlébotomes femelles

L'objectif de cette étude est la détection des parasites dans un échantillon représentatif de la population phlébotomienne (non disséquée) et l'identification, éventuelle, des espèces leishmaniennes incriminées dans la région de Constantine, où la leishmaniose sévit à l'état endémique depuis quelques années.

L'ensemble des PCR a été validé par l'amplification des 4 souches de référence et l'absence d'amplification du blanc réactif. De même, l'absence d'amplification du témoin ADN humain confirme la spécificité de notre méthode.

Les résultats obtenus montrent que parmi les 60 PCR Genre réalisées, trois se sont révélées positives avec des températures de fusion : 84,10°C, 82,85°C et 83,59°C, correspondant à celle de la souche de référence utilisée : *L. infantum* (TM calling à 84,1 +/- 0,4°C), avec des cycles de sortie inférieurs ou égaux à 35 cycles (**Fig. 27, 28, 29**).

Quant à la PCR Espèce, son rendement s'avère nettement inférieur à celui de la PCR Genre puisque aucune des 2 PCR Espèce réalisées n'est positive, vue l'absence de pic correspondant aux souches de références : *L. major* (86,9+/-0,5°C), *L. donovani* (87,9+/-0,4°C), *L. tropica* (88,5+/-0,2°C) et *L. infantum* (89,4+/-0,3°C).

En effet, le rendement de la PCR Espèce étant inférieur à celui de la PCR Genre du fait de la longueur du fragment amplifié (600 pb à 700 pb pour l'espèce, au lieu de 120 pb, pour le genre).

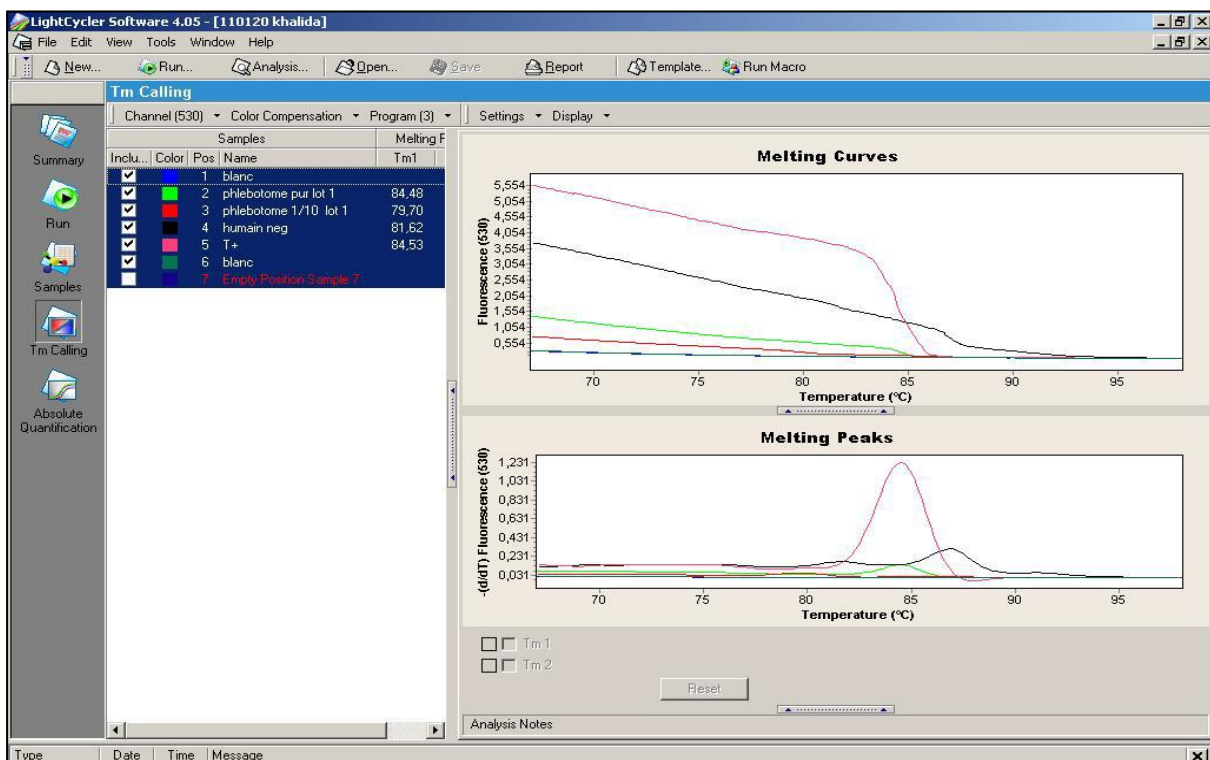


Figure 27: Courbe d'amplification et température de fusion de la PCR Genre positive à TM calling à 84,1°C.

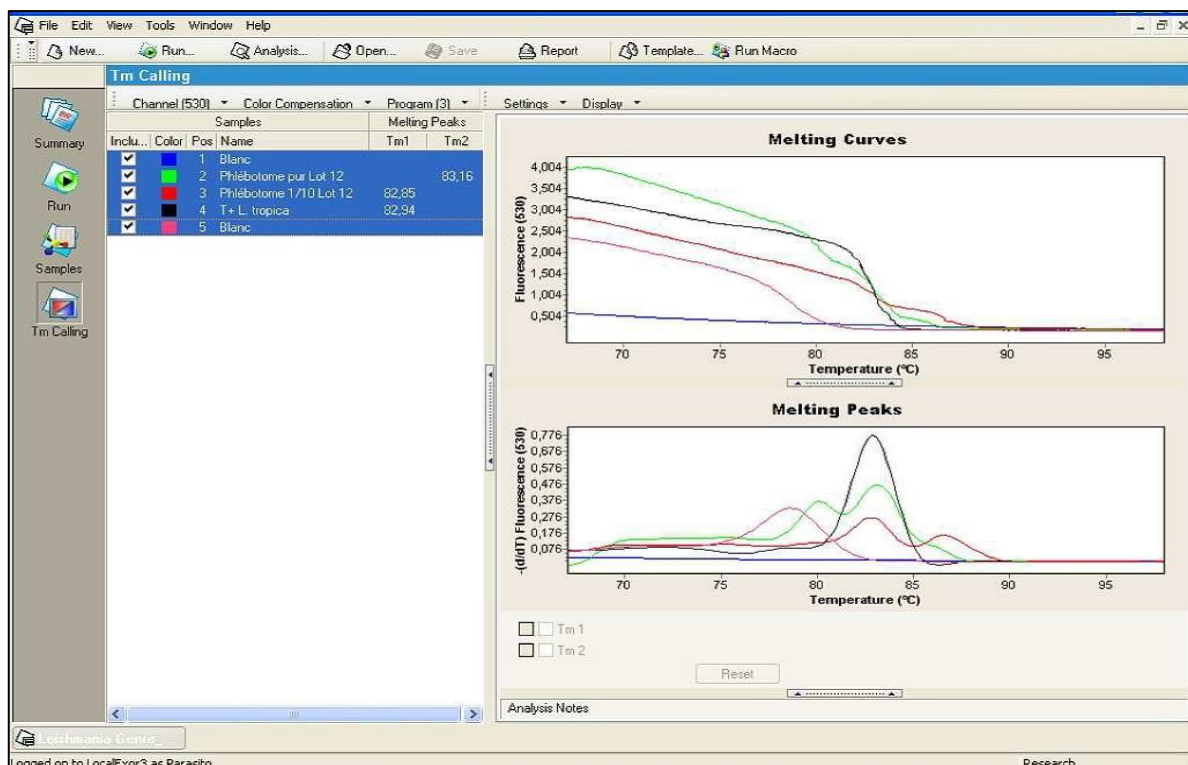


Figure 28 : Courbe d'amplification et température de fusion de la PCR Genre positive à TM calling à 82,85°C.

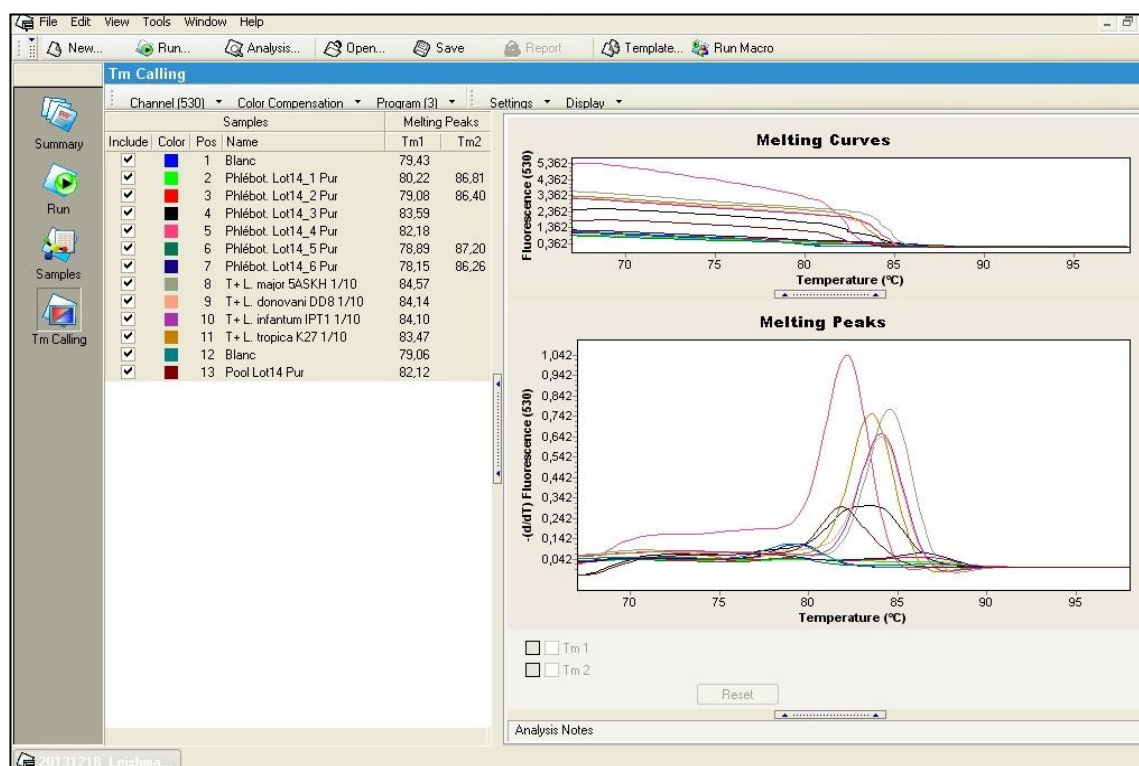


Figure 29 : Courbe d'amplification et température de fusion de la PCR Genre positive à TM calling à 83,59 °C.

CHAPITRE IV : Discussion

Les diptères sont répandus dans le monde entier, cosmopolites par leur répartition, ils sont communément réunis dans une même hostilité, celle des insectes inopportuns, malpropres, dangereux par leur contact et leur piqûre. En effet, de nombreuses espèces jouent un rôle d'agent actif dans la transmission de maladies, pouvant être légères, graves, ou voire même mortels. Leur connaissance et leur identification sont indispensables pour les médecins, écologistes, hygiénistes, zoologistes et entomologistes. Il existe plus de 100 000 espèces dans le monde. L'entomologie médicale et vétérinaire considère que les diptères notamment les hématophages sont les principaux vecteurs de maladies infectieuses (Brahmi, 2013). Parmi les groupes de diptères vecteurs de maladies importantes, les *Phlebotominae* occupent une place de prédilection. Ces insectes ont été beaucoup étudiés dans presque toutes les contrées du monde en raison de leur action vulnérante et pathogène. Outre son rôle vecteur dans les arboviroses, ce groupe joue un rôle important en pathologie humaine, qui depuis plus de cent ans n'a cessé de susciter un grand intérêt.

Lors de cette étude, la population de phlébotomes capturée de 2011 à 2013 se caractérise par une faible richesse spécifique vu la détection de six espèces dans la région d'étude sur les 23 recensées en Algérie (Belazzoug 1991 ; Berdjane-Brouk, 2011), parmi lesquelles 5 inventoriées par Boulkenafet en 2006 et 18 par Bounamous en 2010 dans l'Est algérien, à savoir *P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *P. perfiliewi*, *P. papatasi* et *S. dreyfussi*.

Cette population, qui se distingue par une forte abondance croissante d'année en année (48 phlébotomes capturés en 2011, 411 en 2012 et 5399 en 2013), est prédominée par le genre *Phlebotomus* qui représente 93% de la population contre 7% pour le genre *Sergentomyia*. On remarque que le genre *Phlebotomus* prédomine, aussi, dans les captures réalisées en 2010, dans l'Est algérien (Bounamous, 2010), représentant 57,23% de la population contre le genre *Sergentomyia* dont l'effectif ne dépasse pas les 42,77%. Contrairement à l'inventaire réalisé par Boulkenafet en 2006, dans la région de Skikda, où le genre *Sergentomyia* prédominait avec 69,82% par rapport au genre *Phlebotomus* dont le pourcentage ne dépasse pas les 30,18% de la population.

Quant aux espèces, *Phlebotomus perniciosus* est la plus abondante de la région prospectée (59,4% de l'effectif). Ce qui est en corrélation avec les travaux respectifs de Boulkenafet (2006) et Bounamous (2010) qui ont enregistré un taux de présence de 18,8%, pour cette espèce, à Skikda suivi de 72,29% dans l'Est algérien (Constantine, Batna, Mila,

Jijel, Skikda). Cette espèce, selon Moulahem et ses collaborateurs, est devancée par *P. perfiliewi* qui a représenté 23,3% des captures effectuées en 1998 dans la région de Constantine. Cette même constatation est faite au centre du pays par d'autres auteurs. En effet, un inventaire récent, établie par Berdjane-Brouk *et al.*, (2012b), dans les alentours d'Alger a permis de révéler l'abondance particulière de l'espèce *P. perniciosus* qui constitue 77% des captures, faisant d'elle l'espèce la plus représentée de la population. Elle occupe un très vaste territoire géographique dans tout le bassin méditerranéen. Dans l'Est algérien, cette espèce se retrouve dans tous les étages bioclimatiques avec une fréquence relativement élevée dans les zones humides (Berchi, 1993).

La répartition géographique de *P. perniciosus* est essentiellement tellienne, particulièrement constante en grande Kabylie (étage bioclimatique humide et sub-humide) et le Constantinois (étage semi-aride). Ces deux régions étant endémiques de la leishmaniose viscérale (Bounamous, 2010). Son abondance, qui dépasse de loin celle de toutes les autres espèces capturées, montre que cette espèce est inféodée aux types de milieux prospectés (étables, anciennes habitations), due essentiellement à son caractère endophile et anthropozoophile (Rossi *et al.*, 2008).

Les sites prospectés, dans notre étude, semblent offrir un habitat confortable à *P. longicuspis*, qui représente 24,7% de la population. Cette espèce semble cohabiter avec *P. perniciosus* et *P. perfiliewi* dans l'Est algérien où elle représente respectivement, 4% et 8,88% des captures (Boulkenafet, 2006 ; Bounamous, 2010). Elle est également inventoriée par d'autres auteurs représentant ainsi 14% des spécimens et constituant la deuxième espèce dominante de la population (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012b). En revanche, une quinzaine d'années plus tôt, cette espèce comptait parmi celles les plus rarement inventoriées avec un taux ne dépassant pas les 0,2% de la population (Moulahem *et al.*, 1998). Cette espèce est plus fréquente dans les zones bioclimatiques semi-aride, aride et per-aride méditerranéennes (Rioux *et al.*, 1984). En Algérie, elle est signalée dans le Tell algérien (Parrot, 1936), en étage saharien (Berchi, 1993), plus particulièrement dans les hauts plateaux dans les étages aride et per-aride (Croset *et al.*, 1978) et en zone rurale et sauvage (Dedet *et al.*, 1984).

La faible abondance de *P. perfiliewi* (6,7% des spécimens) contraste avec la densité toujours élevée des populations de cette espèce dans les zones bioclimatiques semi-aride de l'Algérie (Russo *et al.*, 1991). Elle constitue la deuxième espèce la plus abondante après *P. perniciosus*, représentant 6,7% des phlébotomes capturés par Boulkenafet (2006) et 9,18% des captures effectuées par Bounamous (2010). Avec un taux de 75,5%, c'est l'espèce la plus

représentée de la population capturée dans le Constantinois (75,5% de la population) (Moulaheem *et al.*, 1998) et parmi les moins représentées dans l'Algérois (0,8 % des captures) (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012b). Les sites de capture ne semblent pas offrir un habitat de prédilection pour cette espèce connue pour son caractère endo-éxophile (qui se rencontre, d'habitude, aussi bien dans les habitations humaines que dans les sites d'animaux) (Izri et Bellazzoug, 1993).

En dépit du statut du phlébotome le plus abondant d'Algérie (vu sa présence dans tout les étages bioclimatiques) (Bellazzoug *et al.*, 1982b), *Sergentomyia minuta* est très peu représentée dans notre étude (5,5%). Ceci est du probablement aux préférences de cette espèce pour les étages subhumide et humide (Bounamous, 2010). Elle est également parmi les espèces les moins représentées lors de l'inventaire de Bounamous (2010) où elle constitue 0,38% de l'effectif, contrairement à l'inventaire de Boulkenafet lors duquel l'espèce représente 69,82% de la population.

Ne représentant que 2,2% de l'effectif, la faible abondance de *P. papatasi* lors de nos captures s'explique par ses préférences anthropophile, domestique (Depaquit *et al.*, 2001 ; Hanafi *et al.*, 2007) et bioclimatique aride (Bounamous, 2010), des conditions qui ne sont pas offertes par les sites de capture. Elle est très peu représentée lors des inventaires de Bounamous (2010) où elle constitue 0,04% de la population et celui de Boulkenafet (2006) où elle représente 0,006% de la population.

S. dreyfussi est la moins représentée avec 1,5% de la population. Sa faible abondance peut s'expliquer par le fait que cette espèce est en dehors de son aire de répartition préférentielle, confinée habituellement au Sud (Laghout, Biskra), au Sahara central (Tassili, Ajjer et au Hoggar) et à Beni Ounif de Figuig dans le Sahara oranais (Abonnenc, 1972 ; Bellazzoug, 1986b). Elle est très peu représentée lors de l'inventaire de Bounamous (2010) (0,0005% de la population) et absente lors de celui de Boulkenafet (2006).

Outre le rôle joué par le bioclimat sur la répartition des phlébotomes et le risque leishmanien (Rioux *et al.*, 1972 ; Dedet *et al.* 1977b, 1984 ; Bellazzoug *et al.*, 1986c ; Izri *et al.*, 1994 ; Harrat *et al.*, 1996), il est important d'attirer l'attention sur le rôle de l'urbanisation accélérée et non planifiée dans la persistance et l'extension des foyers ruraux de la leishmaniose vers les villes (Desjeux, 1999). La dynamique démographique qu'a connue la région de Constantine, à l'instar de tout l'Est algérien est, sans doute, à l'origine d'importants changements dans le domaine de l'habitat et de l'urbanisme qui ont engendré

de multiples problèmes de dysfonctionnement et de gestion. Ces problèmes sont matérialisés, entre autres, par la multiplication progressive et les extensions, quelquefois démesurées, des espaces urbains, par l'exode rural vers les principales villes de la région, par l'insuffisance des équipements publics et de l'infrastructure de base et par le développement de l'habitat anarchique et insalubre. Il est à noter que les mouvements des populations rurales vers les villes constituent un autre facteur de risque important qui favorise l'urbanisation des leishmanioses (O.M.S., 2002 ; Desjeux, 2004). Les populations des régions rurales amènent avec elles des animaux domestiques et procèdent même à des élevages de bétail sur place. Dans ces milieux, en plus de la présence humaine et animale, l'environnement offre une richesse en matière organique et un abri. Ces conditions constituent un habitat de choix pour les vecteurs. Les matières organiques, telles que la bouse de vache, offrent un terrain idéal aux phlébotomes, tant pour la ponte que comme gîtes larvaires (O.M.S., 2002).

La menace posée par la ruralisation, associée à des mouvements de populations vers les villes ainsi que l'urbanisation anarchique, est de nature publique et nécessite donc une intervention des autorités pour contrôler les risques. L'aménagement et la gestion de l'environnement peuvent être des méthodes de lutte efficaces. L'urbanisation étudiée et contrôlée avec la destruction des habitats des vecteurs et des réservoirs, l'amélioration de la qualité de l'habitat humain, le traitement des déchets et des ordures et la séparation des animaux des habitats humains sont des moyens qui devraient permettre de réduire la densité des phlébotomes et, par conséquent, limiter le risque leishmanien (Bounamous, 2010).

L'inventaire faunistique établie lors de cette étude nous dévoile la présence en sympatrie de quatre espèces vectrices de leishmanies représentant 93,03% de la population de mâles identifiée. Ces espèces sont responsables des foyers leishmaniens de l'Est algérien, notamment à Constantine, à savoir : *Phlebotomus papatasi* vecteur de LC à *L. major* (Rioux *et al.*, 1986a ; Killick-Kendrick, 1990), *P. perfiliewi* vecteur de LV, LC, notamment la leishmaniose cutanée sporadique du Nord à *L. infantum* (Izri et Belazzoug, 1993) ainsi que *P. longicuspis* et *P. perniciosus* vecteurs de LV à *L. infantum* (Parrot *et al.*, 1941b ; Parrot et Donatien, 1952 ; Belazzoug, 1984 ; Izri *et al.*, 1990 ; Rioux *et al.*, 1990 ; Moulahem *et al.*, 1998 ; Harrat et Belkaid, 2003 ; Izri et Belazzoug, 1993 ; Zhioua *et al.*, 2007 ; Seridi *et al.*, 2008). Par ailleurs, il est à signaler que la détection de l'ADN de *Leishmania major* dans *Sergentomyia (Spelaemyia) darlingi* dans le foyer à leishmaniose cutanée au Mali (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012a) permet de suspecter le rôle vectoriel du genre *Sergentomyia*, imposant

ainsi une bonne connaissance de la biologie et de l'écologie des espèces de ce genre (Ba *et al.*, 1999 ; Geevarchese *et al.*, 2005 ; Charrel *et al.*, 2006).

L'Algérie qui compte parmi les pays les plus touchés par la leishmaniose, est concernée par trois formes cliniques sévissant à l'état endémique : la leishmaniose cutanée sporadique du Nord (LCS), la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) et la leishmaniose viscérale (LV), représentant 35 % des maladies à notification obligatoire, lui conférant ainsi la première place parmi les maladies parasitaires (Mihoubi *et al.*, 2012). La L. viscérale infantile et L. cutanée sporadique se répartissent dans le Nord du pays et leur distribution géographique correspond à celle de la leishmaniose canine (Harrat et Belkaid, 2002). Bien que leur fréquence varie d'une région à l'autre, il est cependant important de noter que le foyer de la Grande Kabylie regroupe à lui seul près de 50% de cas recensés, où l'on dénombre environ 400 nouveaux cas par an (Harrat *et al.*, 1995). Le même auteur a révélé l'urbanisation de cette maladie dans l'Algérois, puisqu'elle affecte depuis quelques années de plus en plus de sujets n'ayant jamais quitté les grandes zones urbaines. Ce phénomène serait lié, d'une part, au déplacement, à cause de l'insécurité, de milliers de citoyens venant des zones rurales pour s'installer en ville et, d'autre part, à la dégradation de l'environnement, à la prolifération de chiens malades errants et, enfin, à la multiplication des gîtes de phlébotomes. Par ailleurs, l'expansion de la métropole vers la banlieue entraînerait un rapprochement des citoyens des foyers sauvages d'infection, augmentant ainsi le risque d'infection (Harrat et Belkaid, 2002). Dans le foyer de Tizi-Ouzou, la maladie est responsable de 6% des décès, faisant de ce foyer le plus actif dans le Maghreb (Harrat *et al.*, 1995 ; Djerbouh *et al.*, 2005).

Les chiffres recueillis lors de notre enquête épidémiologique effectuée de 2011 à 2013 sur 79 cas suspects de leishmaniose recueillis dans diverses structures de santé de la Wilaya de Constantine et parmi lesquels 57 % des cas se sont révélés positifs (45/79 patients). Il s'avère que les malades provenant de la Wilaya de Constantine représentent 35,5 % (16/45 cas) contre 64,5% (29/45cas) pour les patients originaires des autres régions du pays. En revanche, la Commune de Constantine semble offrir le plus grand nombre de cas de LC (13/45 cas). Moins de cas sont enregistrés dans les communes de Zighoud Youcef, Ibn Ziad, Beni Hamidène et Hamma Bouziane (3/45 cas). Le même constat a été fait en 2006 par Djeddar-Mihoubi, lors d'une étude rétrospective où le plus grand nombre de cas de LC a été enregistré dans la Commune de Constantine, suivie des Communes de Zighoud Youcef, Ibn Ziad et Hamma Bouziane.

Concernant la région de Constantine, on note l'absence de toute étude prospective concernant l'incidence de la leishmaniose, hormis celle de Moulahem et ses collaborateurs (1998) concernant le vecteur et la leishmaniose canine. Par ailleurs, aucune souche n'a été identifiée au sein de ce foyer sis à la jonction des hauts plateaux et de la partie Est du socle de la Petite Kabylie (Djezzar-Mihoubi, 2006).

D'après les chiffres avancés par l'Institut National de Santé Publique (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011) une baisse sensible de la leishmaniose cutanée s'est amorcée dans la Wilaya de Constantine en 2006, une année pendant laquelle 14 cas ont été diagnostiqués. 7 cas sont notés en 2007 suivi de 4 cas seulement en 2008, 9 cas en 2009, 8 cas en 2010 et enfin 7 cas en 2011.

Quant à la leishmaniose viscérale, elle connaît, d'après la même source, des oscillations de 2005 à 2011. En 2005, 3 cas seulement sont enregistrés, suivi de 5 cas en 2006 et 2 cas en 2007. Cependant, aucun cas n'est enregistré en 2008, 1 seul cas seulement noté en 2009 et aucun cas en 2010. En 2011, on note la présence de 4 cas (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011) (**Fig.30**).

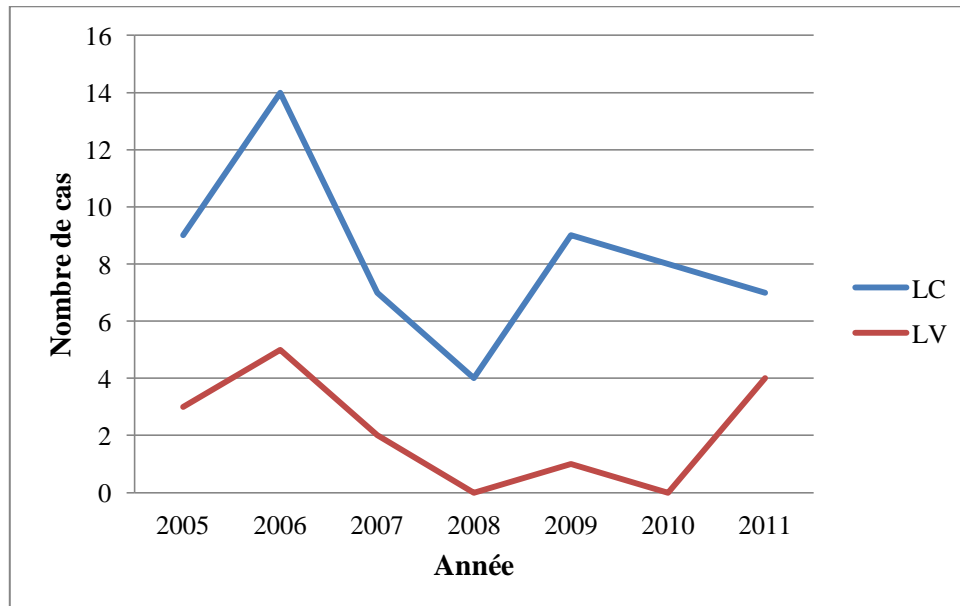


Figure 30: Évolution de la leishmaniose cutanée (LC) et viscérale (LV) dans la région de Constantine de 2005 à 2011 (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).

Ces chiffres semblent être en faveur d'une nette régression de la leishmaniose cutanée dans la région de Constantine à partir de 2006. Ce constat régressif est appuyé par les chiffres avancés par les services sanitaires de la Wilaya de Constantine, selon lesquels une baisse franche de la leishmaniose viscérale est notée dans le C.H.U. de Constantine de 2006 à 2010, passant de 13 cas en 2006 à 5 cas en 2010 (Fendri *et al.*, 2012). Quant aux services d'hospitalisation du C.H.U. (Dermatologie, Pédiatrie et Maladies Infectieuses), ils ont admis 5 cas en 2006, 2 en 2007, aucun cas en 2008, 1 seul en 2009, aucun cas en 2010 et 4 en 2011 (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).

Quant à la leishmaniose cutanée, les mêmes services d'hospitalisation du C.H.U. de Constantine (Dermatologie, Pédiatrie et Maladies Infectieuses), ont déclaré 14 cas hospitalisés en 2006, 7 en 2007, 4 en 2008, 9 en 2009, 8 en 2010 et 7 en 2011 (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).

Outre la diminution des cas de leishmaniose diagnostiqués dans la région, les statistiques recueillies auprès de la Pharmacie Centrale du C.H.U. de Constantine mettent en évidence une baisse significative de la quantité du traitement de la leishmaniose cutanée (Glucantime) octroyée aux divers services de l'hôpital entre 2010 et 2013, renforçant ainsi l'hypothèse de la régression de la maladie dans la région de Constantine (**Fig.31**).

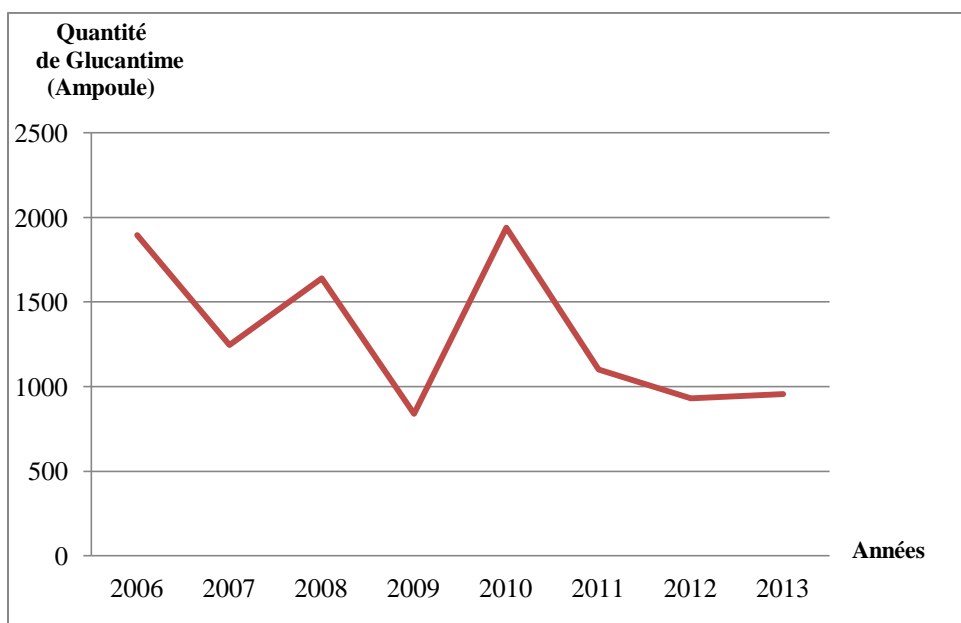


Figure 31 : Quantité de Glucantime administrée aux divers services du C.H.U. de Constantine entre 2006 et 2013 (Pharmacie Centrale du C.H.U. de Constantine, 2014).

En dépit de l'extension de la maladie dans certaines régions, principalement les régions rurales, ainsi que le déplacement du front de la maladie vers le Nord du pays favorisé par l'avancée du désert et les changements climatiques qui ont prévalu depuis plus de 20 ans dans la zone steppique Nord saharienne (Boudrissa *et al.*, 2012), la leishmaniose est en nette régression en Algérie. Si nous prenons le cas de la leishmaniose cutanée, cette dernière évolue selon un mode endémoépidémique : 4 450 cas ont été annoncés en 2000, doublant en 2002 avec 8 049 cas, puis quadruplant presque en 2004 avec 14 822 cas, pour atteindre un pic d'alerte de 25 511 cas en 2005. Depuis 2006, s'est amorcée une chute de la prévalence qui s'est poursuivie pour se stabiliser à 7 784 cas en 2008 (Fendri *et al.*, 2012). Après cette date, une hausse significative est observée entre 2008 et 2010 avec 7 632 cas en 2008 suivie de 12 097 cas en 2009 et enfin 21 049 cas en 2010. On note cependant la régression de la pathologie en 2011 avec 16 585 cas (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011) (**Fig.32**).

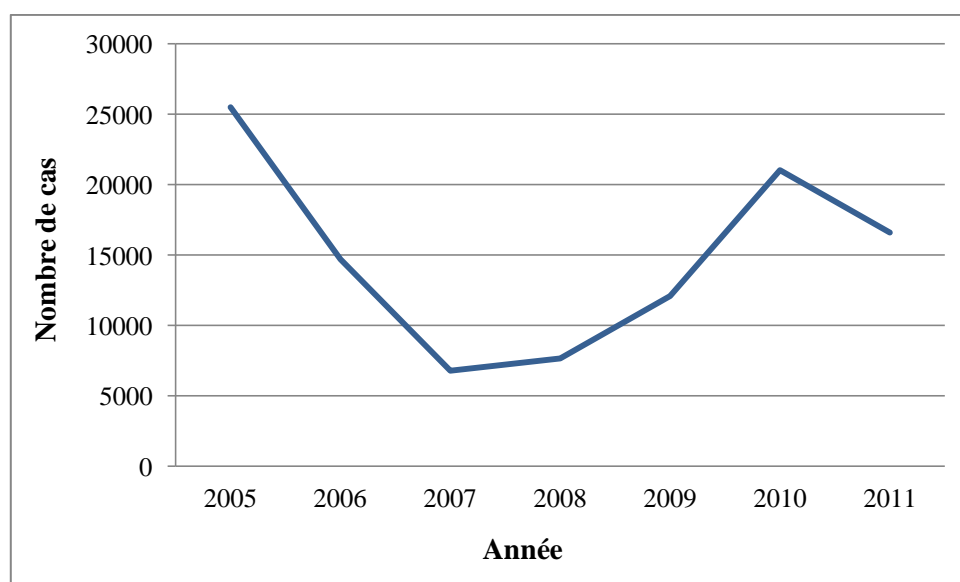


Figure 32: Évolution de la leishmaniose cutanée en Algérie de 2005 à 2011

(R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).

Quant à la leishmaniose viscérale, elle est marquée par des oscillations continues entre 2005 et 2011 en allant de 115 cas en 2005, 93 cas en 2006, 104 cas en 2007, 80 cas en 2008. A partir de 2009, une hausse significative est enregistrée avec 89 cas en 2009 et 121 cas en 2010. En 2011, une régression est observée avec 94 cas seulement (R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011) (**Fig.33**).



Figure 33: Évolution de la leishmaniose viscérale en Algérie de 2005 à 2011

(R.E.M., XVI, 2005 ; XVII, 2006 ; XVIII, 2007 ; XIX, 2008 ; XX, 2009 ; XXI, 2010 ; XXII, 2011).

Devant la recrudescence alarmante de la leishmaniose dès la fin des années 1990, l'ampleur de l'extension géographique, l'émergence de nouveaux foyers et du fait du lourd impact socioéconomique, l'Algérie a adopté en urgence une stratégie de lutte antivectorielle (aspersion de deltaméthrine) concrétisée depuis 2004 (Achour Barchiche, 2008 ; Zait et Hamrioui, 2009 ; Fendri *et al.*, 2012). Selon l'I.N.S.P., les résultats encourageants sont déjà constatés et la répercussion sur la baisse de l'incidence est tout à fait vérifiée (Zait et Hamrioui, 2009).

Cependant, ce constat de régression de la pathologie ne doit en aucun cas écarter l'hypothèse du portage asymptomatique chez l'Homme, confirmé récemment par une étude mettant en évidence l'ADN de *Leishmania infantum* dans le sang ou les organes de 23,5% des donneurs et de 8% des receveurs d'organes, démontrant une forte proportion de porteurs asymptomatiques candidats à des formes de réactivation d'une infection latente (Clemente *et al.*, 2014), d'où l'importance de surveiller ce risque de réactivation chez ces individus vivant en zone d'endémie de *Leishmania infantum*.

Dans d'autres pays, notamment ceux du Maghreb, l'évolution de cette pathologie ne semble pas régresser malgré les nombreuses campagnes de lutte mises au point par les autorités. Au Maroc, si les programmes de lutte contre le paludisme, la bilharziose, la lèpre et le trachome ont atteints les objectifs fixés par l'O.M.S., les différents programmes de lutte

contre les zoonoses telles les leishmanioses s'avèrent inefficaces puisque cette pathologie continue de résister avec 2 164 cas détectés en 2006, 1 352 cas en 2007 et 3 431 cas en 2008, une année qui se distingue en Algérie par une régression significative de la maladie, semble marquée au Maroc par des poussées épidémiques de la leishmaniose cutanée à *Leishmania major* au niveau des provinces d'Errachidia et de Zagora avec plus de 1 000 cas chacune et la leishmaniose viscérale à *Leishmania infantum* dont le foyer s'étend tout au long des montagnes du rif et dans les plateaux pré-rifains continuent à évoluer sous forme sporadique et localement très éparpillée dans des foyers ruraux avec plus de 150 cas confirmés chaque année (Idrissi Azzouzi, 2009).

A l'instar du Maroc, où la leishmaniose continue à poser un vrai problème de santé publique (Hjira, 2014), la Tunisie fait face à une recrudescence alarmante de la leishmaniose, notamment la leishmaniose cutanée avec 2 742 cas enregistrés entre 2006 et 2007, 2 750 entre 2007 et 2008, 1 737 entre 2008 et 2009, 3 811 entre 2009 et 2010, 5 114 entre 2010 et 2011, 5 376 entre 2011 et 2012 et 4 326 entre 2012 et 2013 (Mhamdi, 2014). En dépit de la régression de la pathologie entre 2008 et 2009, sa recrudescence alarmante qu'a connue le pays entre 2009 et 2010, prouve l'inefficacité des stratégies d'endiguement de la maladie adoptées par les services sanitaires spécialisés.

Outre le Maghreb, l'émergence de nouvelles épidémies humaines en Europe est également constatée. Entre novembre 2012 et mai 2013, une épidémie de 14 cas de LV est survenue dans la province de Bologne (Italie du Nord) alors que l'incidence annuelle n'était que de 2,6 cas pour la période 2008-2012 (Varani *et al.*, 2013). Cette épidémie inattendue rappelle celle survenue dans la même province en 1971-1972 affectant 60 individus à l'origine de 13 décès (Pampiglione *et al.*, 1974). Les raisons de ces recrudescences restant inconnues, il est important que les services de santé restent sensibilisés aux risques de survenue de cas groupés de LV (Marty, 2014). Dans la région de Madrid en Espagne, une nette recrudescence de cas humains de leishmaniose à *Leishmania infantum* est survenue au cours de la période 2009 et 2013. Au total, près de 500 nouveaux cas humains ont été observés dont 70% chez des patients immunocompétents avec 2/3 des formes cutanées et 1/3 de formes viscérales. Cette épidémie a permis de découvrir un nouveau réservoir animal sylvaïque vivant dans des parcs nouvellement créés de cette zone géographique. Celui-ci est le lièvre (*Lepus granatensis*) puisque 30% de ces animaux capturés étaient infectés par *Leishmania infantum* et, de plus, infectants pour les phlébotomes (Arce *et al.*, 2013). L'explication de cette recrudescence des cas humains serait en lien avec le premier contact de

ce parasite (introduit dans cette région avec un nouveau réservoir) avec des individus naïfs non immunisés (Marty, 2014).

D'après Marty (2014), la distribution des vecteurs peut être un élément de description des zones potentielles d'extension de l'endémie d'une maladie vectorielle. Cependant la collecte des vecteurs (et leur identification) constitue une approche difficile, longue, et surtout aléatoire : la capture du vecteur démontre sa présence mais l'inverse ne démontre rien. Des modélisations très complexes ont été réalisées mais s'avèrent très contradictoires et finalement peu utilisables.

Quant à l'identification moléculaire des espèces leishmaniennes à partir du vecteur, contrairement aux travaux de Berdjane-Brouk (2012a, 2012b) qui ont permis l'identification, par PCR-RFLP, des leishmanies à partir du phlébotome disséqué (*Leishmania major* à partir de *Sergentomyia darlingi* au Mali et *Leishmania infantum* à partir de *Phlebotomus longicuspis* dans l'Algérois), nous nous sommes proposé, dans cette étude, de caractériser le parasite par RT-PCR sans avoir recours à la dissection préalable des vecteurs. Bien que la dissection est un outil très efficace pour surveiller la prévalence de l'infection dans les populations de vecteurs, il n'en reste pas moins que c'est une méthode laborieuse qui nécessite des entomologistes expérimentés (Plichart *et al.*, 2006), sans oublier le temps consacré à cette manipulation. Dans la présente étude, l'infection des phlébotomes avec les leishmanies a été confirmée en utilisant la PCR en temps réel ; technique sensible et performante ; qui a la possibilité de s'adapter à différents types de prélèvements, au diagnostic d'espèce et la recherche de polymorphismes nucléotidiques (Nicolas *et al.*, 2002). La détection isoenzymatique connue comme étant le « gold-standard » pour identifier les souches de *Leishmania*, cependant, cette méthode a l'inconvénient de nécessiter la culture d'un grand nombre de parasites et les isolats primaires peuvent facilement être contaminés (Rassi *et al.*, 2012). Il en ressort que parmi les 60 PCR Genre réalisées, trois seulement se sont révélées positives avec des températures de fusion correspondant à celle de la souche de référence (*L. infantum* dont le T_m calling égale à $84,1 \pm 0,4^\circ\text{C}$), avec des cycles de sortie inférieurs ou égaux à 35 cycles. Ce qui démontre que les vecteurs étaient bien porteurs des parasites. En revanche, la PCR Espèce n'a pas permis l'identification des souches et ce, probablement à cause de la quantité insuffisante d'ADN leishmanien présente chez les phlébotomes femelles. En effet, selon certains auteurs, le taux d'infection des phlébotomes, par les leishmanies, est généralement très faible (0,01 à 1%) même en zone d'endémie (Hashiguchi, 2003), ce qui a

justifié l'utilisation de plusieurs spécimens broyés ensemble et leur traitement dans un seul et même tube Eppendorf.

D'après les résultats obtenus, on peut déduire qu'une corrélation semble exister entre le bilan de notre analyse moléculaire et les données épidémiologiques recensées par les services de santé publique durant les quatre années.

Enfin, concernant le rôle vectoriel des espèces de phlébotomes dans la transmission de la maladie, de nouvelles observations sont venues contribuer à rendre plus complexe l'épidémiologie s'agissant de la transmission non vectorielle de la leishmaniose chez le chien telles : la transmission vénérienne, la transmission verticale (de la chienne à sa portée) et horizontale par contact (morsure) de chien à chien et la transfusion sanguine entraînant un risque non négligeable de transmission du parasite à partir de donneurs cliniquement sains mais infectés (initialement démontré chez l'Homme). Ces modes de transmission non vectorielles méritent d'être vérifiés chez l'Homme, afin de pouvoir expliquer l'émergence de cas isolés ou en collectivités en l'absence de toute transmission vectorielle (Marty, 2014).

CONCLUSION GENERALE

La leishmaniose est une maladie chronique à manifestation cutanée et/ou viscérale. C'est une infection cutanée extrêmement répandue dans le monde, notamment, le pourtour méditerranéen. En Algérie, la LC est endémo-épidémique. Certaines régions présentent des taux parmi les plus élevés au monde. La réussite d'un programme de lutte contre les leishmanioses nécessite une connaissance préalable et approfondie de ces vecteurs. En effet, les enquêtes entomologiques accompagnées des données épidémiologiques fournissent des informations essentielles pour la conception, la gestion et la planification de programmes de contrôle de la maladie. Plusieurs constatations épidémiologiques et entomologiques, y compris l'anthropophilie, suggèrent la capacité du phlébotome à être un vecteur (Rassi *et al.*, 2012).

Un plan d'action anti-vectoriel efficace se base sur une connaissance préalable des vecteurs dans leur milieu naturel pour préciser les biotopes et les périodes d'intervention ainsi que les conditions qui favorisent leur pullulation (Bounamous, 2010).

Parce que cette maladie est liée à la présence des phlébotomes qui, eux-mêmes sont inféodés aux facteurs écologiques et climatiques, nous avons voulu procéder à la détection moléculaire, par PCR en temps réel, des *Leishmania* à partir des phlébotomes femelles. Par ailleurs, un diagnostic moléculaire a également concerné des échantillons cutanés prélevés sur des patients de la région de Constantine et ce, afin d'établir un lien entre les résultats de l'analyse moléculaire et les données épidémiologiques durant la période d'étude.

Pour ce faire, 5858 phlébotomes ont été capturés, dont 4360 mâles et 1498 femelles. Les spécimens mâles ont été identifiés sur la base de leurs caractères morphologiques. L'identification morphologique a permis de détecter la présence de six espèces de phlébotomes, parmi les 23 répertoriées en Algérie, avec une prédominance du genre *Phlebotomus*. Concernant les sous-genres, la population est dominée par le sous-genre *Larroussius* qui détient 90,8% de l'effectif, suivie de *Sergentomyia* avec un taux de présence plus faible. Les sous-genres les moins représentés, avec des pourcentages très proches, sont *Phlebotomus* et *Grassomyia*. Quant aux espèces, *P. perniciosus* est la plus abondante avec 59,4% de la population de mâles identifiée. Suivie de *P. longicuspis* avec 24,7% de l'effectif. *P. perfiliewi* est peu représenté avec 6,7% des spécimens. Les espèces les moins abondantes

sont : *P. papatasi* suivie de *S. dreyfussi* dont les taux respectifs sont de 2,2 et 1,5% de la population phlébotomienne.

Pour ce qui est des prélèvements cutanés, parmi les 45/79 échantillons collectés entre 2011 et 2013, se sont révélés positifs en PCR en temps réel, ce qui représente 56,96%. Ce taux semble être en faveur d'une régression, si l'on considère que la moyenne annuelle est de près de 14% environ.

Quant à la détection, par PCR en temps réel, des leishmanies à partir des phlébotomes, celle-ci a mis en évidence la présence des ADN parasitaires illustrés par des températures de fusion de 84,1C° ; 82,85°C et 83,59°C. Ces températures de melting correspondant à celle de la souche de références qui est de l'ordre de 84,1 +/- 0,4°C, avec des cycles de sortie inférieurs ou égaux à 35 cycles. Ce qui prouve que les vecteurs : *P. papatasi*, *P. longicuspis*, *P. perniciosus* et *P. perfiliewi* détectés lors de l'inventaire faunistique, étaient bien porteurs du parasite. En revanche, la RT-PCR Espèce, n'a aboutie à aucune identification et ce, probablement à cause de la quantité insuffisante d'ADN leishmanien présente chez les phlébotomes femelles. De part sa sensibilité, spécificité et rapidité, la PCR en temps réel nous a été d'une grande utilité dans la détection des parasites.

Ce que nous pouvons retenir de cette étude, c'est que les résultats obtenus démontrent une tendance vers le succès des mesures de lutte contre cette maladie menées par les différentes institutions de la Wilaya de Constantine. En effet, une tendance vers la baisse n'est pas un signal de relâchement de l'action menée, mais au contraire un signal important pour que ces actions soient poursuivies et amplifiées afin d'obtenir un arrêt total de la transmission, seul garant de l'éradication de cette pathologie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abonnenc E. (1972) : Les phlébotomes de la région Ethiopienne (*Diptera, Psychodidae*). Ed. Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer (O.R.S.T.O.M.), Paris, 285 p.
- Abonnenc E., Léger N. (1976) : Sur une classification rationnelle des Diptères *Phlebotomidae*. Cahiers de l'O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie, 14 : 69-78.
- Acebey Castellon I.L. (2007) : Caractérisation de terpènes anti-leishmaniens isolés par bioguidage d'une plante bolivienne *Hedyosmum angustifolium* (Ruiz & Pavon) Solms. Thèse de Doctorat en Chimie-Biologie-Santé. Université de Toulouse, 5070p : 26-35.
- Achour-Barchiche N., Madiou M. (2008) : Recrudescence des leishmanioses cutanées : à propos de 213 cas dans la wilaya de Tizi-Ouzou. P.A.T.B.I.O.-2704; 6p.
- Adler S., Theodor O. (1927) : On a collection of Phlebotomes sp. of the *minutus* group. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 21- 68.
- Adler S., Theodor O., Parrot L. (1929) : *Rev. Zool. Bot. Afr.* 73p.
- Adler A., Theodor O., Lourie E.M. (1930) : On sandflies from Persia and Palestine. *Bull. Entomol. Res.* 21. 529-530.
- Adler S., Theodor O. (1931) : Investigations on Mediterranean Kala-Azar. *Proc. R. Soc. Lond. B* 108, 447-502.
- Adler S., Theodor O. (1957) : Transmission of disease agents by Phlebotomine sandflies. *Ann. Rev. Ent.*, 2, 203.
- Ait-Oudhia K., Lami P., Lesceu S., Harrat Z., Hamrioui B., Dedet J.P., Pratlong F. (2009): Increase in the Prevalence of canine leishmaniasis in urban Algiers (Algeria) following the 2003 earthquake. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, Vol.103, No. 8, 679–692.
- Alvar J., Vélez I.D., Bern C., Herrero M., Desjeux P., Cano J., Jannin J., Boer M. (2012) : Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 7, May 2012 | Volume 7 | Issue 5 | e35671.
- Antoine J.C., Lang T., Prina E., Courret N., Hellio R. (1999) : H-2M molecules, like MHC class II molecules, are targeted to parasitophorous vacuoles of *Leishmania*-infected macrophages and internalized by amastigotes of *L. amazonensis* and *L. mexicana*. *J. Cell. Sci.* 112: 2559-2570.
- Aoun K., Bouratbine A. (2014) : Cutaneous leishmaniasis in North Africa. *Parasite*, 21-14.

- Aoun K., Chouih E., Amri F., Ben Alaya N., Raies A., Mary C., Bouratbine A. (2009) : Contribution of Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction to Follow Up of Visceral Leishmaniasis Patients Treated with Meglumine Antimoniate. *The Am. J. Trop. Med. Hyg.* 81:1004-1006.
- Aransay A.M., Scoulica E., Tselentis Y., Ready P.D. (2000) : Phylogenetic relationships of phlebotomine sandflies inferred from small subunit nuclear ribosomal DNA. *Insect Molecular Biology*, 9:157-168.
- Arce A., Estirado A., Ordobas M., Sevilla S., García N., Moratilla L. (2013) : Re-emergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Eurosurveillance* 2013;18 (30).
- Ashford R.W., Schnur L.F., Chance M.L., Samaan S.A., Ahmed H.N. (1977) : Cutaneous leishmaniasis in the Libyan Arab Republic: preliminary ecological findings. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 71, 265-271.
- Ayadi A., Ben Ismail R., Ben Rachid M.S. (1991) : Extension de l'aire de transmission du Kala-Azar à *Leishmania infantum* (Nicolle 1908) vers le Centre et le Sud de la Tunisie. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 68: 269-273.
- Ba Y., Trouillet J., Thonnon J., Fontenille D. (1999) : *Phlebotomus* of Senegal: survey of the fauna in the region of Kedougou. Isolation of arbovirus. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 92, 131-135.
- Bachi F. (2001) : Amélioration des moyens de diagnostic des leishmanioses en Algérie. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Faculté de Médecine. Université d'Alger.
- Bachi F. (2006) : Aspect épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie. *La Lettre de l'Infectiologie* -Tome XXI (n°1): 9-15.
- Bailly-Choumara H., Abonnenc E., Pastre J. (1971) : Contribution à l'étude des phlébotomes du Maroc (*Diptera* : *Psychodidae*). Données faunistiques et écologiques. *Cah. O.R.S.T.O.M., Ser. Ent. Med. Parasitol.*, 9, 431-460.
- Bañuls A.L., Hide M., Prugnolle F. (2007) : *Leishmania* and the leishmaniasis : A parasite genetic updates and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in Humans. *Adv Parasitol* 2007, 64: 1-109.
- Bañuls A.L., Senghor M., Prudhomme J. (2013) : Phlébotomes et leishmanioses. Institut de Recherche pour le Développement. Université Montpellier 2.
- Belazzoug S. (1982a) : Une épidémie de leishmaniose cutanée dans la région de M'sila (Algérie). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 75 : 497-504.
- Belazzoug S., Mahzoul D., Addadi K., Dedet J.P. (1982b): *Sergentomyia minuta* parroti (Adler et Theodor, 1927) en Algérie (*Diptera: Psychodidae*). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 57, 621-630.

- 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 :146-9.
- Belazzoug S. (1984) : La leishmaniose en Algérie à travers l'identification isoenzymatique des souches. *Coll. Inter. Tax. Phy. des Leishmania*, Montpellier : 397-400.
- Belazzoug S., Addadi K., Mokrani T., Hafirassou N., Hamriouri B., Belkaid M. (1985) : La leishmaniose viscérale en Algérie. Etude des cas hospitalisés entre 1975 et 1984. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale* 65, 1985b, 329-335.
- Belazzoug S. (1986a) : Découverte d'un *Merinos shawi* (rongeur, Gerbillidé) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar Chellala (Algérie). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* , 79: 630-633.
- Belazzoug S., Mahzoul D. (1986b) : Notes sur les phlébotomes (*Diptera : Psychodidae*) du Hoggar. *Arch. Inst. Past. Alger*, 55, 113-116.
- Belazzoug S., Mahzoul D., Rioux J.A. (1986c) : Les phlébotomes (*Diptera: Psychodidae*) de M'sila et Bou-Saada. *Arch. Inst. Past. Alger*, 55, 117-124.
- Bellazoug S. (1991) : The sandflies of Algeria. *Parasitologia* 33 (Suppl.), 85-87.
- Belazzoug S. (1992) : Leishmaniasis in Mediterranean countries. *Vet. Parasitol.* 44, 15-19.
- Belkaid M., Harrat Z., Hamrioui B., Thellier M., Datry A., Danis M. (1996) : A propos d'un milieu simple pour l'isolement et la culture des *leishmanies*. *Bull. Soc. Path. Exo.* 89. 276-277.
- Belkaïd M., Harrat Z. (1997) : La leishmaniose en Algérie. Mise au point. *Rev. Méd. Phar.* ; 43-46.
- 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. Path. Exot.*, 80, 613-614.
- Ben Ismail R., Ben Rachid M.S. (1989) : Epidémiologie des leishmanioses en Tunisie. *Maladies tropicales transmissibles*. Ed. Aupelf-Urée John Libbey Eurotxt. Paris 1989. 73-80.
- Benabdennabi I., Pesson B., Cadi-soussi M., Morillas Marquez F. (1999): Morphological and isoenzymatic differentiation of sympatric populations of *P. perniciosus* and *P. longicuspis* (*Diptera: Psychodidae*) in northern Morocco. *J. Med. Ent.* 36, 116 -120.

- Benelbarhdadi I., Ajana F.Z., Benazouz M., Afifi R., Ibrahimi A., Belkhatay S., Essaid A., Sebti M.F. (1995) : La leishmaniose viscérale chez l'Adulte : à propos de 6 cas. *Revue Médecine du Maghreb* n°50 : 24-26.
- Benghodbane F. (2001) : Villes Satellites autour de la ville de Constantine. Mémoire de Magister en aménagement du territoire, Université Mentouri Constantine, 2001.
- Benikhlef R., Harrat Z., Toudjine M., Djerbouh A., Bendali-Braham S., Belkaid M. (2004): Présence de *Leishmania infantum* MON-24 chez le Chien. *Médecine Tropicale*, 64 (4): 381-383
- Benikhlef R., Pratlong F., Harrat Z. (2011) : Leishmaniose viscérale infantile causée par *Leishmania infantum* zymodème MON-24 en Algérie. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 94(1):14-6 [http:// www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T94-1-2189.pdf].
- Benlatrèche T. (2006) : Effet thermo-radiatifs et caractérisation microclimatique des cours intérieures dans les édifices publics. Mémoire de Magistère. Faculté des Sciences de la Terre, de la Géographie et de l'Aménagement du Territoire. Université Mentouri, Constantine. Algérie. 212p.
- Benmiloud S., Brasseur B., Brichard B., Chantrain C., Duponts S., Vermeylen C. (2009) : La leishmaniose viscérale infantile : à propos d'un cas importé. *Louvain Médical* 2009 ; 128, 2 : 85-90.
- Benyacoub S. (1993) : Ecologie de l'avifaune forestière nicheuse de la région d'El-Kala (Nord-Est Algérien). Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne. 273p.
- Berchi S., Rioux J.A., Belmonte A., Russo J. (1986) : Un phlébotome nouveau pour l'Algérie, *Phlebotomus (Praphlebotomus) kazeruni* Theodor et Mesghali, 1964. *Ann. Parasit. Hum. Comp.* 61(4): 507-508.
- Berchi S. (1990) : Ecologie des phlébotomes (*Diptera, Psychodidae*) de l'Est algérien. Mémoire de Magister. Université de Constantine. 116p.
- Berchi S. (1993) : Les phlébotomes (*Insecta, Diptera, Phlebotomidae*), vecteurs de leishmanioses dans l'Est algérien. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 118 : 341-349.
- Berchi S., Bounamous A., Louadi K., Pesson B. (2007) : Différenciation morphologique de deux espèces sympatriques : *Phlebotomus perniciosus* Newstead 1911 et *Phlebotomus longiscuspis* Nitzulescu 1930 (*Diptera : Psychodidae*). *Ann. Soc. Entomol. Fr. (n.s.)*, 2007, 43 (2) : 201-203.
- Berdjane-Brouk Z., Charrel R.N., Bitam I., Hamrioui B., Izri A. (2011): Record of *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* Grassi, 1908 and *Phlebotomus (Larrousius) chadlii* Rioux, Juminer & Gibily, 1966 female in Algeria. *Parasite* 2011, 18, 337-339.

- Berdjane-Brouk Z., Kone A.K., Djimde A.A., Charrel R.N., Ravel C., Delaunay P., Giudice P., Diarra A.Z., Doumbo S., Goita S., Thera M.A., Depaquit J., Marty P., Doumbo O.K., Izri A. (2012): First Detection of *Leishmania major* DNA in *Sergentomyia (Spelaemyia) darlingi* from Cutaneous Leishmaniasis Foci in Mali. PLoS ONE | www.plosone.org. January 2012 | Volume 7 | Issue 1 | e28266.
- Berdjane-Brouk Z., R.N. Charrel, Hamrioui B., Izri A. (2012b): First detection of *Leishmania infantum* DNA in *Phlebotomus longicuspis* Nitzulescu, 1930 from visceral leishmaniasis endemic focus in Algeria. *Parasitol. Res.* 111: 419-422.
- Berthet-Beaufils A. (2010) : Manifestations dermatologiques associées aux Diptères chez le Chien et le Chat. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale de Vétérinaire d'Alfort, France. 180 p.
- Bessad A., Mouloua K., Kherrachi I., Benbetka S., Benikhlef R., Mezai G., Harrat Z., (2012): *Leishmania infantum* MON-1 isolé d'un chacal doré (*Canis aureus*) en Grande Kabylie (Algérie) Bull. Soc. Path. Exo.: 105. 5-7.
- Bettini S., Gramiccia M., Gradoni L., Atzeni M.C. (1986): Leishmaniasis in Sardinia II. Natural infection of *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911, by *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 in the province of Cagliari. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 80,458-459.
- Biocca E., Coluzzi A., Costantini R. (1977) : Osservazioni sulla attuale distribuzione dei flebotomi italiani e su alcuni caratteri morfologici differenziali tra le specie del sottogenere *Phlebotomus (Larroussius)*. *Parassitologia* 19, 19-31.
- Bisco V. (2011) : Evaluation de la PCR en temps réel pour la détection simultanée de *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae* dans le LCR natif. ICHV, Laboratoire de Bactériologie, Sion. Travail de diplôme. 50p.
- Blondel J. (1975) : Les écosystèmes de Camargue. *Courr. Nat.*, 35. 43-56.
- Bonfield J.K., Staden R. (1996): Experiment files and their application during large-scale sequencing projects. *DNA Seq.*, 6, 109-117.
- Boubidi S.C., Benallal K., Boudrissa A., Bouiba L., Bouchareb B., Garni R., Bouratbine A., Ravel C., Dvorak V., Votypka J., Volf P., Harrat Z. (2011): *Phlebotomus sergenti* (Parrot, 1917) identified as *Leishmania killicki* host in Ghardaia, south Algeria. *Microbes and Infection* 13, 691-696.
- Boudrissa A., Cherif K., Kherrachi I., Benbetka S., Bouiba L., Boubidi S.C., Benikhlef R., Arrar L., Hamrioui B., Harrat Z. (2012) : Extension de *Leishmania major* au Nord de l'Algérie. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* (2012) 105:30-35. DOI 10.1007/s13149-011-0199-4.
- Boulkenafet F. (2006) : Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (*Diptera : Psychodidae*) et appréciation de la faune Culicidienne (*Diptera : Culicidae*) dans la région de Skikda. Mémoire de Magister. Université de Constantine, Algérie. 191p.

- Boulouis H.J., Marignac G., Haddad N., Maillard R., Chomel B. (2008) : Les animaux réservoirs et victimes des Bartonella. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, Tome 161. 211-219.
- Bounamous A. (2010) : Biosystématique et caractérisation par la biologie moléculaire des phlébotomes de l'Est algérien. Thèse de Doctorat. Université de Constantine. 304 p.
- Boussaa S. (2003) : Contribution à l'étude de la dynamique de vol de la faune phlébotomienne dans les zones aride et semi-aride : cas de Marrakech et ses marges. Mémoire de DESA, Université Cadi Ayad, Marrakech. Maroc.
- Boussaa S., Guernaoui S., Pesson B., Boumezzough A. (2005): Seasonal fluctuations of phlebotomine sand fly populations (*Diptera: Psychodidae*) in the urban area of Marrakech, Morocco. *Acta Tropica*, 95, 2: 86-91.
- Boussaa S., Pesson B., Boumezzough A. (2007): Phlebotomine sandflies (*Diptera: Psychodidae*) of Marrakech city, Morocco. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 101 8,715-24.
- 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 de Doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg I, France. 181p.
- Boussaa S., Boumezzough A., Sibold B., Alves-Pires C., Morillas Marquez F., Glasser N., Pesson B. (2009) : Phlebotomine sandflies (*Diptera: Psychodidae*) of the genus *Sergentomyia* in Marrakech region, Morocco. *Parasitol. Res.*; 104 5:1027-33.
- Brahmi K., Ouelhadj A., Guermah D., Doumandji S. (2013) : Inventaire des diptères en particulier ceux d'intérêt médico-vétérinaire dans le Barrage Taksebt et la ferme d'élevage à Fréha (région de Tizi-Ouzou, Algérie). 11ème Journée entomologique de Gembloux « *L'entomologie, une science réservée aux professionnel(le)s ?* ».
- Carbonnelle E., Nassif X. (2012) : Implantation de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF dans les laboratoires de microbiologie : quels changements pour les cliniciens ? *Réanimation* (2012) 21:351-361. 352-353.
- Cassagne C., Pratlong F., Jeddi F., Benikhlef R., Aoun K., Normand A.C., Faraut F., Bastien P., Piarroux R. (2014): Identification of *Leishmania* at the species level with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect.* Jun ; 20(6):551-7.
- Charrel R.N., Izri A., Temmam S., Lamballerie X., Parola P. (2006) : Toscana Virus RNA in *Sergentomyia minuta* Flies. *Emerging Infectious Diseases.* www.cdc.gov/eid. 12, 8.
- Chelbi I.M., Derbali Z., Al-Ahmadi B., Zaafour A., El Fahem A., Zhioua E. (2007) : Phenology of *Phlebotomus papatasi* (*Diptera: Psychodidae*) relative to the seasonal prevalence of zoonotic cutaneous leishmaniasis in central Tunisia. *J. Med. Entomol.*, 44, 385-388.

- Chou M.N. (2005) : Caractérisation du complexe protéique eIF2 α impliqué dans la régulation de la traduction chez le parasite protozoaire *Leishmania*. Mémoire de Maitrise en Biologie Cellulaire et Moléculaire. Université Laval, Québec, Canada. 73p.
- Clem A. (2010): A current perspective on leishmaniasis. *Journal of Global Infectious Diseases* /May-Aug 2010/Vol-2/Issue-2. 124-126.
- Clemente W.T., Rabello A., Faria L.C., Peruhype-Magalhães V., Gomes L.I., Da Silva T.A.M., Nunes R.V.P., Iodith J.B., Prottil K.Z., Fernandes H.R. (2014): High prevalence of asymptomatic *Leishmania spp.* infection among liver transplant recipients and donors from an endemic area of Brazil. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* 14, 96–101.
- Centre National d'Expertise sur les Vecteurs (C.N.E.V.) (2014) : Collections de références d'arthropodes vecteurs en France.
- Cortes S., Rolao N., Ramada J., Campino L. (2004): PCR as a rapid and sensitive tool in the diagnosis of human and canine leishmaniasis using *Leishmania donovani* S.L. specific kinetoplastid primers. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* : 98:12–17
- Costa F.O., Dewaard J.R., Boutillier J., Ratnasingham S., Dooh R.T., Hajibabaei M. (2007) : Biological identifications through DNA barcodes : the case of the *Crustacea*. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Sciences*, 64: 272-295.
- Croan D.G., Morrison D.A., Ellis J.T. (1997): Evolution of the genus *Leishmania* revealed by comparison of DNA and RNA polymerase gene sequences. *Molecular Biochem. Parasitol*, 89: 149-159.
- Croft S.L., Yardley V. (2002): Chemotherapy of Leishmaniasis. *Current Pharmaceutical Design.* ; 8 (4):319-341.
- Croset H. (1969) : Ecologie et systématique des *Phlebotomini* (Diptera : *Psychodidae*) dans deux foyers français et tunisiens de leishmaniose viscérale. Essai d'interprétation épidémiologique. Thèse Sciences Montpellier, 516 p.
- Croset H., Abonnec E., Rioux J.A. (1970): *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) *chabaudi* n. sp. (Diptera : *Psychodidae*). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 45, 863-873.
- 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. C.N.R.S.*, 239 "Ecologie des leishmanioses ", 139-151.
- Croset H., Rioux J.A., Maistre M., Bayar N. (1978): Les phlébotomes de Tunisie (Diptera, *Phlebotomidae*) Mise au point systématique, chorologique et éthologique. *Ann. Parasitol.* (Paris), 53, (6), 711-749.

- Dancesco P., Dedet J.P., Ben Osman F., Chadli A. (1970) : Les phlébotomes capturés dans des foyers de leishmaniose canine à Tunis. Rôle probable de *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus perfiliewi* dans la transmission. *Arch. Inst. Past. Tunis*, 47, 65-88.
- Dedet J.P., Addadi K. (1977a) : Epidémiologie des leishmanioses en Algérie. 4-Les phlébotomes (*Diptera: Psychodidae*) des Aurès. *Arch. Inst. Past. Algérie*. 52, 85-94.
- Dedet J.P., Abbadi K., Lannuzel B. (1977b) : Epidémiologie des leishmanioses en Algérie. 7-La leishmaniose viscérale dans le foyer de Grande Kabylie. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 70, 250-265.
- Dedet J.P., Addadi K., Belazzoug S. (1984) : Les phlébotomes (*Diptera, Psychodidae*) d'Algérie. *Cah. O.R.S.T.O. ivf., Séri Ent. Méd. et Parasitol.*, Vol. XXII, n° 2, 1984 : 99-127.
- Dedet J.P. (1999) : Les leishmanioses. Collection « Médecine Tropicale ». Ed. Ellipses, Paris : 249p.
- Dedet J.P. (2001) : Leishmanies, leishmanioses. Biologie, clinique et thérapeutique. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*, 8 : 506-510.
- Dedet J.P. (2006) : Les découvertes d'Edmond Sergent sur la transmission vectorielle des agents de certaines maladies infectieuses humaines et animales. *Revue Histoire de la Médecine*, n° 3038.
- Dedet J.P. (2009) : Leishmanies, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Maladies infectieuses*, 8-506-A-10.
- Depaquit J., Léger N., Killick-Kendrick R. (1998) : Description de *Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi* n. sp. (*Diptera: Psychodidae*) d'Afrique de Nord. *Parasite* 5:151-158.
- Depaquit J., Ferté H., Léger N., Killick-Kendrick R., Rioux J.A., Killick-Kendrick M., Hanafi H.A., Gobert S. (2000): Molecular systematics of the Phlebotomine sandflies of the subgenus *Paraphlebotomus* (*Diptera: Psychodidae*) and *Phlebotomus* based on ITS 2 rDNA sequences. Hypotheses of dispersion and speciation. *Insect Molecular Biology*, 9, 293-300.
- Depaquit J., Léger N., Ferté H., Rioux J.A., Gantier J.C., Michaelides A., Economides P. (2001) : Les phlébotomes (*Diptera: Psychodidae*) de l'île de Chypre. III- Inventaire faunistique. *Parasite*, 8: 11-20.
- Depaquit J., Ferté H., Léger N., Lefranc F., Alves-Pires C., Hanafi H., Maroli M., Morillas-Marquez F., Rioux J.A., Svobodova M., Volf P. (2002) : ITS2 sequences heterogeneity in *Phlebotomus sergenti* and *Phlebotomus similis* (*Diptera, Psychodidae*): Possible consequences in their ability to transmit *Leishmania tropica*. *Int. J. Parasitol.* 32, 1123-1131.

- Depaquit J., Naucke T.J., Schmitt C., Ferté H., Léger N. (2005a): A molecular analysis of the subgenus *Transphlebotomus* Artemiev, 1984 (*Phlebotomus*, *Diptera: Psychodidae*) inferred from ND4 mt DNA with new northern records of *Phlebotomus mascitti* Grassi, 1908. *Parasitol. Res.* 45, 113-116.
- Depaquit J., Muller F., Gantier J.C., Léger N., Ferté H., Ready P. (2005b): Phlebotomine sandflies (*Diptera: Psychodidae*) from Ouagadougou, Burkina Faso: first record of *Phlebotomus (Larroussius) longicuspis* Nitzulescu south of the Sahara. *Med. Vet. Entomol.*, 19: 322-325.
- Depaquit J., Léger N., Robert V. (2007) : Les phlébotomes de Madagascar (*Diptera: Psychodidae*). V-Description de *Sergentomyia majungaensis* n. sp. *Parasite*, 14: 219-223.
- Depaquit J., Léger N., Robert V. (2008) : Les phlébotomes de Madagascar (*Diptera: Psychodidae*).VI-Un sous-genre nouveau (*Vattieromyia*) avec trois espèces nouvelles: *Sergentomyia (V.) sclerosiphon*, *S. (V.) namo* et *S. (V.) anka*. *Parasite*, 15 : 15-26.
- Dereure J., Velez I.D., Pratlong F., Denial M., Lardi M., Moreno G., Serres E., Lanotte G., Rioux J.A. (1986) : La leishmaniose viscérale autochtone au Maroc méridional. Présence de *Leishmania infantum* MON-1 chez le chien en zone présaharienne. In *Leishmania*. Taxonomie et Phylogénèse. Applications Eco-épidémiologiques.
- Desjeux P., Mplinedo S., Le Pont F., Paredes A., Urgarte G. (1987): Cutaneous leishmaniasis in Bolivia. A study of 185 human cases from Alto Beni (La Paz Department). Isolation and isoenzymes characterisation of 26 strains of *Leishmania braziliensis*. *Trans. RSoc. Tro. Med Hyg.*, 81: 742-746.
- Desjeux P. (1991) : Information sur l'épidémiologie des leishmanioses et la lutte contre ces maladies par pays ou territoires. O.M.S., 30.
- Desjeux P. (1999): Global control and *Leishmania*-HIV co-infection. *Clinics in Dermatology*, 17, 317-325.
- Desjeux P. (2002): The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. W.H.O. *Mediterr. Zoon. Control. Cent.* 55p.
- Desjeux P., Alvar J. (2003): *Leishmania* /HIV co-infection: Epidemiology in Europe. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 97 (Suppl.1), S3-S15.
- Desjeux P. (2004): Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 27: 305-318.
- Djerbouh A., Toudjine M., Djoudi M., Benikhlef R., Harrat Z. (2005) : La leishmaniose canine en Algérie : essai de traitement par l'allopurinol. *Ann. Méd. Vét.*, 2005, 149, 132-134.
- Djezzar-Mihoubi I. (2006) : Etude des leishmanioses diagnostiquées au Centre Hospitalo-Universitaire Ben Baddis de Constantine. Thèse de Doctorat d'Etat es-Microbiologie. Université Mentouri Constantine. 119p.19-38

- Dolmatova A.V., Demina N.A. (1971) : Les phlébotomes (*phlebotorninad*) et les maladies qu'ils transmettent. Initiations-Documentation-Techniques N° 18. O. R. S. T. O. M. Paris. 1971. 168p.
- Dvorak V., Halada P., Hlavackova K., Dokianakis E., Antoniou M., Volf P. (2014): Identification of *phlebotominae* sand flies (*Diptera: Psychodidae*) by matrix-assisted laserdesorption / ionization time of flight mass spectrometry. *Parasites & Vectors* 2014, 7: 21 <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/21>.
- Esseghir S., Ready P.D., Killick-Kendrick R., Ben-Ismaïl R. (1997): Mitochondrial haplotypes and geographical variance of *Phlebotomus* vectors of *Leishmania major*. *Insect. Mol. Biol.* 6, 211-255.
- Estevez Y. (2009) : Activité leishmanicide de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle Péruvienne et de molécules de synthèse ; étude relation structure activité. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse III.
- Fendri A.H., Beldjoudi W., Ahraou S., Djaballah M. (2012) : Les leishmanioses diagnostiquées au C.H.U. Benbadis de Constantine (Algérie) : Bilan de cinq années (2006-2010). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* (2012) 105:46-48.
- Franca C., Parrot L. (1920) : Introduction à l'étude systématique des Diptères du genre *Phlebotomus*. *Bull. Soc. Path. Exot.* 13, 695-708.
- Galati E.A.B. (1990): Sistematica dos *Phlebotominae* (*Diptera, Psychodidae*) das Americas Sao Paulo PhD Thesis. Faculdade de Saude Publica/USP, V.1, 210 p.
- Garcia-Segui A., Puntas M. (1991) : Estudi epidemiologic de la *Leishmania* a lilla de Menorca. *Rev. Cien. (IEB)*, 9, 91-101.
- Garlapati S., Dahan E., Shapira M. (1999): Effect of acidic pH on heat shock gene expression in *Leishmania*. *Mol. Biochem. Parasitol.* : 100: 95-101.
- Garnham P.C.C. (1965): The *Leishmania*, with special references of the role of animal reservoir. *Am.Zool.* 5. 141-151.
- Garni R., Tran A., Guis H., Baldet T., Benallal K., Boubidi S.C., Harrat Z. (2014): Remote sensing, land cover changes, and vector-borne diseases : Use of high spatial resolution satellite imagery to map the risk of occurrence of cutaneous leishmaniasis in Ghardaïa, Algeria. *Infect. Genet. Evol.* 28,725-735.
- Geevarghese G., Arankalle V.A., Jadi R., Kanojia P.C., Joshi M.V., Mishra A.C. (2005): Detection of *Chandipura* virus from sand flies in the genus *Sergentomyia* (*Diptera:Phlebotomidae*) at Karimnagar District, Andhra Pradesh, India. *J. Med. Ent.* 42, 495-496.
- Ghrab J., Rhim A., Bach-Hamba D., Chahed M.K., Aoun K., Nouria S., Bouratbine A. (2006): *Phlebotominae* (*Diptera, Psychodidae*) of Human leishmaniasis sites in Tunisia. *Parasite*, 13. 23-33.

- Gramiccia M., Gradoni L. (2005): The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control, *Int. J. Parasitol.* 35 (2005), 1169-1180.
- Guerin P., Olliaro P., Sundar S., Boeleart M., Croft S., Desjeux P., Wasunna M., 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.
- Guernaoui S. (2000) : Contribution à l'étude des phlébotomes vecteurs potentiels des leishmanioses dans la région de Marrakech. Mem. D.E.S.A Univ. Cadi Ayad, Marrakech. Maroc.
- Guernaoui S., Boussaa S., Pesson B., Boumezzough A. (2006): Nocturnal activity of phlebotomine sandflies (*Diptera: Psychodidae*) in a cutaneous leishmaniasis focus in Chichaoua, Morocco. *Parasitol. Res.* 98, (3), 184-188.
- Hajibabaei M., Janzen D.H., Burns J.M., Hallwachs W., Hebert P.D.N. (2006): DNA barcodes distinguish species of tropical *Lepidoptera*. *P.N.A.S.*, 103: 968–971.
- Hanafi H., Fryauff D. J., Govind B.M., Ibrahim M.O., Main A.J. (2007): Bionomics of phlebotomine sandflies at a peacekeeping duty site in the North of Sinai, Egypt. *Acta. Tropica.* 101, 106-114.
- Handman E. (2001): Leishmaniasis: Current Status of Vaccine Development. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2): 229-243.
- Harrat Z., Izerouel S., Belkaid M., Tabet-Derraz O. (1993) : Fluctuations saisonnières des Phlébotomes de la région d'Alger et sa banlieue. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie* .T:59, 245-255.
- Harrat Z., Hamrioui B., Belkaïd M., 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., Deniau M., Rioux J.A., Belkaid M., Dedet J.P. (1996): *Leishmania infantum* and *Leishmania major* in Algeria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 90(6): 625-629.
- Harrat Z., Pratlong F., Benikhlef R., Lami P., Belkaid M., Dedet J.P. (1998): *Leishmania major* MON-74 as a causative agent of cutaneous leishmaniasis in Burkina Faso. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 92. 355.
- Harrat Z., Belkaid M. (2002): Co-infection Leishmaniose viscérale -Sida en Algérie. *Algérie Santé*-7. 37-38.
- Harrat Z., Belkaid M. (2003) : Les leishmanioses dans l'Algérois. Données épidémiologiques. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 96, 3, 212-214.
- Harrat Z., Boudrissa A. (2008) : Ecologie des rongeurs réservoirs de la leishmaniose cutanée zoonotique en Algérie. *Revue Médico Pharmaceutique* ,48 ,41-45.

- Harrat Z., Boubidi S.C., Pratlong F., Benikhlef R., Selt B., Dedet J.P., Ravel C., Belkaid M. (2009) : Description of *Leishmania* close to *L.killicki* (Rioux, Lanotte et Pratlong, 1986) in Algeria ; *Trans. R. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 103 716-720.
- Hashiguchi Y. (2003): Leishmaniasis. In *Progress of Medical Parasitology in Japan*, Otsuru, M., Kamegai, S., Hayashi, S., Eds.; Megro Parasitological Museum, Tokyo, Japan, 2003; Volume 7, pp. 537-553.
- Herrer A. (1982) : Empleo de hamster dorado como animal centinela en las localidades donde es endémica la uta (leishmaniasis tegumentaria). *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 24, 162-167.
- Hide M. (2004) : Variabilité pathogénique du complexe *Leishmania* (*Leishmania donovani*, agent de la leishmaniose viscérale. Etude comparative des caractères biologiques, génétiques et d'expression génique. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier II. 268p.
- Hjira N., Frikh R., Marcil T., Lamsyah H., Oumakhir S., Baba N., Boui M. (2014): Aspects épidémiocliniques et évolutifs chez 157 cas de leishmaniose cutanée au Maroc. *The Pan African Medical Journal.* 2014 ; 17 : 272 .
- Hoogstraal H., Dieflein D.R., Hynemann D. (1962): Leishmaniasis in the Sudan Republic. Preliminary observations man-biting sandflies (*Psychodidae:Phlebotomus*) in certain Upper Nile Endemic areas. *Trans. R. Soc.trop. Med. Hyg.*56, 411-422.
- Idrissi Azzouzi A. (2009) : Les maladies tropicales négligées au Maroc : Contribution à l'élaboration d'une approche intégrée de lutte. Thèse en Capacité de Médecine Tropicale. Université Bordeaux 2. 55 p.
- R.E.M. (2005) : Relevé Epidémiologique Annuel. Vol. XVI, 2005.16p. 15.
- R.E.M. (2006) : Relevé Epidémiologique Annuel. Vol. XVII, N°5, 2006.16p. 15.
- R.E.M. (2007) : Relevé Epidémiologique Annuel. Vol. XVIII, N°5, 2007.17p. 16.
- R.E.M. (2008) : Relevé Epidémiologique Annuel. Vol. XIX, N°5, 2008. 17p. 16.
- R.E.M. (2009) : Relevé Epidémiologique Annuel. Vol. XX, N°5, 2009. 18p. 17.
- R.E.M. (2010) : Relevé Epidémiologique Annuel. Vol. XXI, N°5, 2010.19p.18.
- R.E.M. (2011) : Relevé Epidémiologique Annuel. Vol. XXII, N°5, 2011.19p. 18.
- Izri M.A., Belazzoug S., Boudjebba Y., Dereure J., Pratlong F., Delalbre-Belmonte A., Rioux J.A. (1990) : *Leishmania infantum* MON-1 isolé de *Phlebotomus perniciosus*, en Kabylie (Algérie). *Ann. Parasitol. Hum. Comp*, 65: 151-152.

- Izri M.A., Belazzoug S., Pratlong F., Rioux J.A. (1992): Isolement de *Leishmania major* chez *Phlebotomus papatasi* à Biskra (Algérie). Fin d'une épopée éco-épidémiologique. *Ann. Parasitol. Hum.Comp.*, 67, 31-32.
- Izri M.A., Belazzoug S. (1993): *Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi* naturally infected with dermatropic *Leishmania infantum* at Ténès, Algeria. *Tran. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 87, 399.
- Izri A., Marty P., Fauran P., Le Fichoux Y., Rousset J. (1994) : *Phlebotomus perfiliewi* Parrot, 1930 (*Diptera : Psychodidae*) dans le Sud-Est de la France. *Parasite* 1 : 286.
- Izri A., Depaquit J., Parola P. (2006) : Phlébotomes et transmission d'agents pathogènes autour du bassin méditerranéen. *Médecine Tropicale*, n°66. 429-435.
- Izri A., Temmam S., Moureau G., Hamrioui B., De Lamballerie X., Charrel R.N. (2008) : Sand fly fever Sicilian virus, Algeria. *Emerging Infection Diseases*, 2008, 14 (5), 795–797 [PMC free article] [PubMed].
- Janini R., Saliba E., Kamhawi S. (1995): Species composition of sand flies and population dynamics of *Phlebotomus papatasi* (*Diptera : Psychodidae*) in the southern Jordan Valley, an endemic focus of cutaneous leishmaniasis. *J. Med. Entomol.* 32, 822-826.
- Jarry D.M. (1999) : Historique des leishmanioses et de leurs complexes pathogènes. *In Dedet J.P., Les Leishmanioses, Ellipses Ed., Paris*, 89-108.
- Jebbouri Y. (2013) : Profil épidémioclinique, thérapeutique et évolutif de la leishmaniose cutanée (à propos de 52 cas). Expérience du service de dermatologie de l'hôpital militaire Moulay Ismail-Meknès. Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Fès, Maroc. 175p.
- Kachi N., Zouaz M. (2007) : Etude de la leishmaniose cutanée à Constantine. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme D.E.S. en microbiologie. Université de Constantine, Algérie.
- Karimi A., Hanafi-Bojd A.A., Yaghoobi-Ershadi M.R., Akhavan A.A., Ghezelbash Z. (2014) : Spatial and temporal distributions of phlebotomine sand flies (*Diptera: Psychodidae*), vectors of leishmaniasis, in Iran. *Acta Tropica* 132 (2014) 131-139.
- Keita F. (2005): La Leishmaniose cutanée chez les patients reçus à l'unité biologie du C.N.A.M. de Janvier 2002 à Octobre 2004. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Bamako. 45p : 9.
- Kherief-Naceraddine S. (2006) : Etude de la variabilité des températures extrêmes et pérennité des arbres urbains dans la région de Constantine. Mémoire de Magistère. Université Mentouri, Constantine. 180p.
- Killick-Kendrick R., Ward R.D. (1981): Ecology of *Leishmania*. *Parasitology.* 82, 143-152.

- Killick-Kendrick R. (1985): Some epidemiological consequences of the evolutionary fit between *Leishmania* and their *Phlebotominae* vectors. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 78, 747-755.
- 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. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 79, 252-255.
- Killick Kendrick R. (1990): Phlebotomine vectors of leishmaniasis: *Review. Med. Vet. Entomol.*, 4, 1-24.
- Killick-Kendrick R. (1999): The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clin. Dermatol.* 17, 279–289.
- Kravchenko V., Wasserberg G., Warburg A. (2004): Bionomics of phlebotomine sand flies in the Galilee focus of cutaneous leishmaniasis in northern Israel. *Med. Vet. Entomol.* 18, 418-428.
- Lane R.P., Crosskey R.W. (1993): *Medical Insects and Arachnids*. Springer, Editions Chapman & Hall, 1993, 78-119.
- Lay J.C. (2004): Leishmaniasis among U.S. Armed Forces, January 2003-November 2004. *Medical Surveillance Monthly Report, U.S. Army Center for Health Promotion and Preventive Medicine, Vol. 10*, pp. 2-5.
- Léger N., Saratsiotis A., Pesson B., Léger P. (1979) : La leishmaniose en Grèce. Résultats d'une enquête entomologique effectuée en Juin 1977. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 54, 11-29.
- Léger N., Pesson B., Madulo-Leblond G., Abonnenc E. (1983) : Sur la différenciation des femelles du sous-genre *Larrousius Nit zulescu*, 1931 (*Diptera-Phlebotomidae*) de la région méditerranéenne. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 58, 611-623.
- Léger N., Depaquit J. (2001) : Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. *Rev. Fr. Labo n° 338*, 41-48.
- Léger N., Depaquit J. (2002) : Systématique et biogéographie des phlébotomes (*Diptera, Psychodidae*). *Ann. Soc. Entomol. Fr. (n.s.)*, 38 (1-2), 163-175.
- Lewis D. J. (1973): *Phlebotomidae and Psychodidae* (sand-flies and moth-flies in insects and other arthropods of medical importance. *Edited by Kenneth G. V. Smith, London*, 155-179.
- Lewis D.J. (1982): A taxonomic review of genus *Phlebotomus* (*Diptera: Psychodidae*). *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. (Ent.)*, 45. 121-209.
- Lightburn E., Meynard J.B., Morand J.J., Garnotel E., Kraemer P., Hovette P., Banzet S., Dampierre H., Lepage J., Carne B., Pradinaud R., Morillon M., Dedet J.P., Chouc C., Boutin J.P. (2002) : Surveillance épidémiologique des leishmanioses tégumentaires en

- Guyane-Synthèse de données militaires sur 10 ans. *Revue Médecine Tropicale*, n°62. 545-553.
- Louis C. (2009) : La leishmaniose canine : ce que doit savoir le pharmacien d'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Nancy I. 108p.
 - Maamri S. (2008) : Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de Sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de Magister en Biologie. Université M'hamed Bougara, Boumerdès. 112p : 29-37.
 - Macfarlane D., Chadli A., Dancesco P. (1969) : Notes sur les phlébotomes de la Tunisie. III- Sur le rôle possible des phlébotomes comme vecteurs mécaniques de *Brevipalpus phoenius* Geijkes 1939. *Arch. Inst. Pasteur, Tunis*, 46, 365-368.
 - Madulo-Leblond G. (1987) : Les phlébotomes (*Diptera, Phlebotomidae*) des Iles Ioniennes. *TH : Sci. Phr. Reims*, n°4.
 - Malé P. (2001) : Etude éco-épidémiologique d'un foyer de leishmaniose à Terascon Sur Ariège. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Lyon I. 121p.
 - Malengreau M. (2004) : Hygiène tropicale : risques et prophylaxie MD 2130.
 - Marc F., Saihi M., Teyssandier M. (2007) : Maladies transmissibles et insectes piqueurs sur le territoire métropolitain. Atelier Santé Environnement. E.N.S.P. -IGS 2006-2007.
 - Marchais R. (1992) : Spéciation et vicariance chez les *Larroussius* du groupe *perniciosus* (*Diptera, Psychodidae*). *Th. Sci. Pharm. Reims*, 202p.
 - Marignac G., Lebastard M., Fall G., Nicolas L., Milon G. (2003) : Exploration de la dissémination de *Leishmania*, un parasite délivré et prélevé par le phlébotome au niveau du derme de l'hôte Vertébré. *Bull. Acad. Vét. France-2003/Tome 157-N°2* www.academie-veterinaire-france.fr. 41- 45.
 - Maroli M., Bettini S. (1977): Leishmaniasis in Tuscany (Italy). I. An investigation on phlebotomine sandflies in Grosseto province. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 71, 315-321.
 - Maroli M., Pennisi M.G., Di Muccio T., Khoury C., Gradoni L., Gramiccia M. (2007): Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. *Vet. Parasitol.* 145, 357-60.
 - Martin-Sanchez J., Gramiccia M., Pesson B., Morillas-Marquez F. (2000): Genetic polymorphism in sympatric species of the genus *Phlebotomus* with special reference to *Phlebotomus perniciosus* and *Phlebotomus longicuspis* (*Diptera:Phlebotomidae*). *Parasite* 7, 247-254.
 - Martin-Sanchez J., Acedo C., Munoz-Pérez M., Pesson B., Marchal O., Morillas-Marquez F. (2007): Infection by *Leishmania infantum* in cats: Epidemiological study in Spain. *Vet. Parasitol.* 145, 267-73.

- Marty P., Lacour J.P., Pralong F. (1998) : Leishmaniose cutanée localisée due à *Leishmania infantum* Mon-1 contractée dans le Nord de l'Algérie. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 91(2):146–7 [<http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T91-2-1889.pdf>].
- Marty P., Rosenthal E. (2002): Treatment of visceral leishmaniasis: a review of current treatment practices. *Expert Opin. Pharmacother.* 3(8): 1101-1108.
- Marty P., Pomares-Estran C., Hasseine L., Delaunay P., Haas H., Rosenthal E. (2009) : Actualités sur les leishmanioses en France. *Archives de Pédiatrie* 2009 ; 16 : 96-100.
- Marty P. (2014) : Les faces cachées des leishmanioses. *Leishmania infantum* : Immunité, prévention, génétique. 6^{ème} journées d'actualités du RESFIZ, Proceeding. Monaco.
- Mazelet L. (2004) : La leishmaniose canine dans le bassin méditerranéen français. Mémoire de Métrise en Biologie des Populations et des Ecosystèmes. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, France. 31p.
- Mebarki A. (2005) : Hydrologie des bassins de l'Est algérien : ressources en eau, aménagement et environnement. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine. 360p.
- Mhamdi Z. (2014) : Les leishmanioses cutanées en Tunisie. *Capacité de Médecine Tropicale 2013-14.* 33p.
- Mihoubi I., De Monbrison F., Frahtia K., Picot S., Gassem N. (2012): Contribution de la PCR en temps réel pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale infantile en Algérie. *Médecine et Santé Tropicales* 2012 ; 22 : 61-64.
- Moulahem T., Fendri A.H., Harrat Z., Benmezdad A., Aissaoui K., Ahraou S., Addadi K. (1998) : Contribution à l'étude des phlébotomes de Constantine : espèces capturées dans un appartement urbain. Courte note n° 1952. “ *Entomologie médicale*”.
- Moureau G., Ninove L., Izri M.A., Cook S., De Lamballerie X., Charrel R.N. (2009) : Flavivirus RNA in Phlebotomine sandflies. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis. (sous presse)*.
- Mouri O., Morizot G., Van der Auwera G., Ravel C., Passet M., Chartrel N., Joly I., Thellier M., Jauréguiberry S., Caumes E., Mazier D., Marinach-Patrice C., Buffet P. (2014) : Easy Identification of *Leishmania* Species by Mass Spectrometry. *PLOS Neglected Tropical Diseases* | www.plosntds.org. June 2014 | Volume 8 | Issue 6 | e2841.
- Moussaoui D., Mknachi Z. (2008) : Les zoonoses majeurs du chien : la rage-la leishmaniose. Mémoire pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Département Vétérinaire, El-khroub. Université de Constantine, Algérie. 92p.
- Moussaoui W., Bouakaze C., Prevost G. (2009) : Applications de la spectrographie de masse MALDI-TOF à l'identification bactérienne. *Bull.Soc.Fr.Microbiol.*, 24, (1), 2009. 293-301.

- Munstermann L. E. (2004) : Phlebotomine sand flies, the Psychodidae. In W. C. Marquardt (ed.), *Biology of Disease Vectors*. Elsevier Academic Press, Oxford, United Kingdom. 141-151.
- Musser G.G., Carleton M.D. (1993): *Mammal species of the world, a taxonomic and geographic reference*, Second ed. (D. E. Wilson and D. M. Reeder, eds.). Smithsonian Institution Press, Washington D.C. 1206 p. 501-755.
- Neveu-Lemaire M. (1938) : Sous-famille : *Phlebotominae*. *Traité d'entomologie médicale et vétérinaire. Edition Vigot-Freres, Editeurs, Paris*. 1050-1075.
- Newstead R. (1911): The *Papatasi* flies (*Phlebotomus*) of Maltese Islands. *Bull. Ent. Res.*, 2, 47-78.
- Newstead R. (1912): Notes on *Phlebotomus*, with descriptions of new species, part 1. *Bull. Entomol. Res.*, Vol.3, 361-367.
- Nicolas L., Prina E., Lang T., Milon G. (2002): Real-Time PCR for detection and quantification of *Leishmania* in Mouse Tissues. *J. Clin. Microbiol.* ; 40: 1666-9.
- Nicolle C., Comte C. (1908) : Isolement et entretien des corps de Leishman. *Arch. Inst. Past. Tunis* ; 2 : 55-6.
- Nitzulescu V. (1930) : *Phlebotomus langeroni* n. sp. et *P. (L.) langeroni* var. *longicuspis* n. var. de Douar-Shott (Tunisie). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 8, 547-553.
- O.M.S. (1982) : Les leishmanioses : Rapport du comité d'experts de l'O.M.S, Genève, 10-16 novembre 1982. Série de rapports techniques ; 701-154 p.
- O.M.S. (1990) : Lutte contre les leishmanioses. Série de rapports techniques, 793 :176p.
- O.M.S. (2002) : Relève Epidémiologique Hebdomadaire de l'O.M.S., Vol. 77 (44) : 365-372.
- O.M.S. (2010) : La lutte contre les leishmanioses. Rapport de la réunion du comité O.M.S. d'experts de la lutte contre les leishmanioses, Genève, 22 - 26 Mars 2010. O.M.S. Série de rapports techniques ; 949. 228p.
- O.M.S. (2014) : Leishmaniose. Aide-mémoire N°375. Janvier 2014.
- Ouellette M., Olivier M., Sato S., Papadopoulou B. (2003) : Le parasite *Leishmania* à l'ère de la post-génomique. *Revue Medicine/Sciences* ; 19: 900-9.
- Ozon C., Marty P., Pratlong F., Breton C., Blein M., Lelièvre A., Haas P. (1998): Disseminated feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Southern France. *Vet. Parasitol.* 75, 273-277.

- Pampiglione S., Manson-Bahr P.E.C., Giungi F., Giunti G., Parenti A., Canestri Trotti G. (1974) : Studies on Mediterranean leishmaniasis 2. Asymptomatic cases of visceral leishmaniasis. *Tr. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 68, 349-359.
- Parrot L. (1917) : Sur un nouveau phlébotome algérien *Phlebotomus sergenti* n. sp, Nov. *Bull. Soc. Path. Ex.* 10, 564 - 567.
- Parrot L. (1921) : Sur une variété nouvelle de *Phlebotomus minutus*, Rondani. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr.*, 12, 37-40.
- Parrot L. (1928) : Notes sur les phlébotomes, VII- Sur *Phlebotomus sogdianus* n. sp. (= *minutus* var. *sogdianus*). *Arch. Inst. Past. Alger*, 3-4, 303-309.
- Parrot L. (1930) : Notes sur les phlébotomes, IV- Sur *Phlebotomus perfiliewi* n. sp. *Arch. Inst. Past. Alger*, 8, 383-385.
- Parrot L. (1931) : Observations biologiques sur *Phlebotomus papatasi* (Scopoli). *Arch. Inst. Past. Alger.*, 9, 442-450.
- Parrot L. (1933a) : Notes sur les phlébotomes, VI- Sur une variété Nord Africaine de *Phlebotomus squamipleuris* Newstead. *Arch. Inst. Past. Alger*, 11, 603-605.
- Parrot L., Donatien A., Lestoquard F. (1933b) : Notes et réflexions sur la biologie de *Phlebotomus perniciosus* Newstead en Algérie. *Arch. Inst. Past. Alger* T. XI, n°2. 183-191.
- Parrot L. (1934) : Note sur les phlébotomes, XII- Les éléments de diagnose spécifique des Diptères du genre *Phlebotomus* (*Psychodidae*). *Arch. Inst. Past. Alger*, 12, 393-3.
- Parrot L. (1935) : Les espèces algériennes du genre *Phlebotomus* (*Psychodidae*). *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord.*, 26, 145-149.
- Parrot L. (1936) : Notes sur les phlébotomes, XX- Sur *Phlebotomus langeroni* var. *longicuspis* Nitzulescu, 1930. *Arch. Inst. Past. Alger*, 14, 137-143.
- Parrot L., Picheyre R. (1941a) : Notes sur les phlébotomes, XXXVIII- Phlébotomes du Hogar. *Arch. Inst. Past. Alger* XIX, 4, 441-442.
- Parrot L., Donatien A., Plantureux E. (1941b) : Sur l'infection naturelle des phlébotomes par la leishmaniose générale de l'Homme et du chien en Algérie. *Arch. Inst. Past. Alger*, 19, 209-217.
- Parrot L. (1948) : Notes sur les phlébotomes, LVIII- Phlébotomes du Soudan Anglo-égyptien *Ach. Inst. Past. Alger*, 26, 121-148.
- Parrot L., Donatien, A. (1952) : Autres observations sur l'infection naturelle des Phlébotomes par la leishmaniose générale de l'Homme et du chien en Algérie. *Arch. Inst. Past. Alger*, 30, 146-152.

- Parrot L., Clastrier J. (1956) : Notes sur les phlébotomes, LXIX- Phlébotomes de Biskra *Ach. Inst. Past. Alger*, 34, 513-517.
- Perfiliev P.P. (1937): Moskity. Fauna USSR. Nasekomye dvukrylye. Sandflies, Fauna of the U.S *Diptera. Moscou, Leningrad, Izd, A.N. S.S.S.R.* 3, 1-144.
- Perfiliev P.P. (1966): Fauna of USSR, *Diptera, Phlebotomidae* (sand flies) Moscow and Israel program for scientific translations, 1968. *Ed. Jerusalem*, pp. 1-363.
- Pesson B., Léger N., Madulo-Leblond G. (1984) : Les phlébotomes de Grèce: les Iles Ioniennes et les Iles de la Mer Egée. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 59, 277-296.
- Pesson B., Ready J.S., Benabdennbi I., Martin-Sanchez J., Esseghir S., Cadi-Soussi M., Morillas-Maequez F., Ready P.D. (2004): Sandflies of the *Phlebotomus perniciosus* complex: mitochondrial introgression and a new sibling species of *P. longicuspis* in the Moroccan Rif. *Med. Vete. Ent.*, 8: 25-37.
- Peters W., Chance M.L., Chowdhury A.B., Ghoshdastivar B., Nandy A., Kalra J.L., Sanyal R.K., Sharma M.I.D., Srivastava L., Schnur L. (1981): The identity of some stocks of *Leishmania* isolated in India. *Ann. Trop. Parasitol.*, 75, 245-249.
- Petter F. (1988) : Epidémiologie de la leishmaniose cutanée dans le Sud du Maroc et dans le Sud-Est de l'Arabie. *Bull. Acad. Vét. Fr.* 61: 113-117.
- Piarroux R., Trouvé V., Pratlong F., Martini A., Lambert M., Rioux J.A. (1994): The use of isoelectric focusing on polyacrilamide gel for enzymatic analysis of "Old World" *Leishmania* species. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 88: 475-478.
- Pinto M.C., Campbell-Lendrum D.H., Lozovei A.L., Teodoro U., Davies C.R. (2001): Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odor in the field. *Revue Med. Vet. Entomol.* ; 15: 132-139.
- Plichart C., Sechan Y., Davies N., Legrand A.M. (2006) : PCR and dissection as tools to monitor filarial infection of *Aedes polynesiensis* mosquitoes in French Polynesia. *Filaria Journal* 2006, 5 : 2.
- Poitras E., Houde A. (2002) : La PCR en temps réel : principe et applications. *Rev. Biol. Biotechnol.*, 2(2) : 2-11.
- Pratlong F., Lambert M., Bastien P., Dedet J.P. (1997) : Leishmanioses et immunodépression : Aspects biocliniques actuels. *Revue Française des Laboratoires*. Volume 1997, Issue 291, March 1997, 161-168.
- Quitterie N., Odette L., Nadau C. (2005) : Etude préliminaire de l'utilisation de la protéine LACK dans le Test d'intra-dermo-réaction de la leishmaniose Canine. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Paul-Sabatier, Toulouse. 116p : 12-51.
- Rassi Y., Abai M.R., Oshaghi M.A., Javadian E., Sanei A., Rafidzadeh S., Arzamani K. (2012) : First detection of *Leishmania infantum* in *Phlebotomus kandelakii* using

molecular methods in north-eastern Islamic Republic of Iran. *Eastern Mediterranean Health Journal*. Vol.18, N°4, 2012.

- Rioux J.A., Coluzzi M., Bain O., Baubouy J.P. (1964) : Présence de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 en Italie du Nord. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 57, 966-971.
- Rioux J.A., Juminer B., Gibily H. (1966): *Phlebotomus (Phlebotomus) chadlii* n. sp. (*Diptera: Psychodidae*). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 41, 83-89.
- Rioux J.A., Golvan Y.J., Croset H., Houin R., Juminer B., Bain O., Tour S. (1967): Ecologie des leishmanioses dans le Sud de France. Echantillonnage. Ethologie. *Ann., Parasitol. Hum. Comp.*, 42 : 561-603.
- Rioux J.A., Croset H., Juminer B. (1969) : Présence en Tunisie de *Phlebotomus alexandri* (Sinton, 1928) *Sergentomyia clydei* (Sinton, 1928) et *Sergentomyia dryfussi* (Parrot, 1933). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 44, 825-826.
- Rioux J.A., Houin R., Léger N., Croset H., Deniau M., Poinsot S. (1971) : Nouvelles stations de *Phlebotomus sergenti* (Parrot, 1917). XLVI. (3). *Ann. Para. Hum. et Camp.* Paris.
- Rioux J.A., Croset H., Léger N., (1974a) : Présence en Espagne de *Phlebotomus alexandri* Sinton, 1928 (*Diptera: Psychodidae*). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 49. 126-128.
- Rioux J.A., Croset H., Léger N. (1974b) : Présence en Espagne de *Phlebotomus chabaudi* Croset, Abonnenc et Rioux, 1970 (*Diptera-Psychodidae*). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 49,505-507.
- Rioux J.A., Croset H., Léger N., Maistre M. (1975) : Remarques sur la taxonomie infraspécifique de *Sergentomyia minuta*, *Sergentomyia africana* et *Sergentomyia antennata*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 50, 635-641.
- Rioux J.A., Perieres J., Killick-Kendrick R., Lanotte G., Bailly M. (1982): Ecologie des leishmanioses dans le Sud de la France. 17. Echantillonnage des phlébotomes par le procédé des pièges adhésifs. Comparaison avec la technique de capture sur appâts humain. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 57, 631.
- Rioux J.A., Rispaïl P., Lanotte G., Lepart J. (1984) : Relations phlébotomes-bioclimats en écologie des leishmanioses. Corollaires épidémiologiques. L'exemple du Maroc. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 131: 549-557.
- Rioux J.A., Velez I.D., Denial M., Dereure J., Périères J., Lanotte G., El Mellouki W. (1986a) : Presence in Morocco of *Phlebotomus (Paraphlebotomus) kazeruni* Theodor and Mesghali, 1964. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 61, 473-81.
- Rioux J.A., Lanotte G., Petter G., Dereure J., Akalay O., Pratlong F., Velez I.D., Fikri N.B., Maazoun R., Denial M., Jarray D., Zahaf A., Ashford R.W., Cadi-Soussi M., Killick-Kendrick R., Ben Mansour N., Moreno G., Périères J., Guilvard E., Zribi M., Kennou M.F., Rispaïl P., Knechtli R., Serres E. (1986b) : Les leishmanioses cutanées du

bassin méditerranéen occidental. De l'identification enzymatique à l'analyse écoépidémiologique, l'exemple de trois foyers : Tunisien, Marocain et Français. *Coll. Inter. C.N.R.S. / I.N.S.E.R.M. 1984, I.M.E.E.E. Montpellier* : 365-395.

- Rioux J.A., Petter F., Zahaf A., Lanotte G., Houin R., Jarry D., Perieres J. Martini A., Sarhani S. (1986c): Isolement de *Leishmania major* Ykinmoff et Schokhor, 1914 (*Kinetoplastida, Trypanosomatidae*) chez *Meriones shawi shawi* (Duvernoy, 1842) (*Rodentia : Gerbillidae*) en Tunisie. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 61, 139-145.
- Rioux J.A., Lanotte G., Serres E., Pratlong F., Bastien P., Perières J. (1990) : Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 65, 111-115.
- Rioux J.A., Lanotte G. (1993) : Apport de la cladistique à l'analyse du genre *Leishmania* Ross, 1903 (*Kinetoplastida : Trypanosomatidae*). Corollaires épidémiologiques. *Biosystema* 1993, 8 : 79-80.
- Rioux J.A., Akalay O., Perieres J., Dereure J., Mahjour J., Le Houérou H.N., Léger N., Desjeux P., Gallego M., Saddiki A., Barkia A., Nachi H. (1997) : L'évolution écoépidémiologique du risque leishmanien au Sahara atlantique marocain. Intérêt heuristique de la relation phlébotomes -bioclimats. *Ecol. Mediterr.* 23, 73-92.
- Rioux J.A. (2007) : Le paradigme « écopathologie » : Son application à l'épidémiologie des leishmanioses. Académie Des Sciences Et Lettres De Montpellier Séance du 23/01/2006. *Conf. n°3933, Bull.* 37, pp. 21-29.
- Rispaïl P., Léger N. (1998a): Numerical Taxonomy of Old World *Phlebotominae* (*Diptera, Psychodidae*).1. Considerations of Morphological Characters in the Genus *Phlebotomus* Rondani & Berte 1840. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro*, 93, 773-785.
- Rispaïl P., Léger N. (1998b): Numerical Taxonomy of Old World *Phlebotominae* (*Diptera, Psychodidae*). 2. Restatement of Classification upon Subgeneric Morphological Characters Rondani & Berte 1840. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz., Rio de Janeiro.* 93, 787-793.
- Rispaïl P., Dereure J., Jarry D. (2002): Risk zones of human leishmaniasis in the western mediterranean Basin. Correlations between Vector Sand Flies, *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. Rio de Janeiro*, Vol. 97(4): 477-483.
- Rodhain F., Perez C. (1985) : Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. *Ed. Maloine. Paris.* Chapitre 5. p. 157-175.
- Rossi E., Bongiorno G., Ciolli E., Di Muccio T., Scalone A., Gramiccia M., Gradoni L., Maroli M. (2008): Seasonal phenology, host-blood feeding preferences and natural *Leishmania* infection of *Phlebotomus perniciosus* (*Diptera, Psychodidae*) in a high-endemic focus of canine leishmaniasis in Rome province, Italy. *Acta Trop.* 105, 158-165.

- Russo J., Rioux J.A., Lambert M., Rispal P., Belmonte A., Berchi S. (1991) : Chorologie des phlébotomes de l'Est Algérien (*Diptera: Psychodidae*). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 66: 247-251.
- Sacks D., Kamhaoui S. (2001): Molecular aspects of parasite vector and vector-host interactions in leishmaniasis. *Annu. Rev. Microbiol.*, 55: 453-483.
- Safi S., Tazi Z., Adnaoui M., Mohattane A., Aouni M., Maaouni A., Bennani A., Berbich A. (1996) : La Leishmaniose viscérale de l'adulte. Étude de 7 Observations. *Médecine du Maghreb n°59* : 18-22.
- Sakthianandeswaren A., Foote S.J., Handman E. (2009) : The role of host genetics in Leishmaniasis. *Trends in Parasitology*, Vol. 25, n° 8.
- Samake S. (2006) : Epidémiologie de la leishmaniose cutanée à Kemena et Sougoula (Cercle de Baroueli). Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Mali. 120p.
- Sangare I., Gantier J.C., Koalaga G., Deniau M., Ouari A., Guiguemdé R.T. (2009): Sandflies of the south part of Ouagadougou City, Burkina Faso. *Parasite*, 2009, 16, 231-233.
- San Martin-Mouriz-Savani E., Gibrail de Oliveira-Camargo M.C., Russi de Carvalho M., Andrade-Zampieri R., Gonzaga-Dos Santos M., Nicoletti-D'Auria S.R., Shaw J.J., Floeter-Winter L.A. (2004) : The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix catus*) from Cotia County, Sao Paulo State. *Brazil. Vet. Parasitol.* 120, 229-233.
- Schlein Y., Warburg A., Schnur L.F., Gunders A.E. (1982): Leishmaniasis in the Jordan Valley. II. Sandflies and transmission in the central endemic area. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76, 582-586.
- Schlein Y., Yuval B., Jacobson R.L. (1989): Leishmaniasis in the Jordan Valley. Differential attraction of dispersing and breeding site populations of *Phlebotomus papatasi* (*Diptera: Psychodidae*) to manure and water. *J. Med. Ent.*, 26, 411- 413.
- Schlein Y. (1993): *Leishmania* and sandflies: interactions in the life cycle and transmission. *Parasitol. Today*. 1993; 9: 255-258.
- Sergent E.D., Sergent E.T. (1910) : Kala-Azar. Existence de la leishmaniose canine chez les chiens d'Alger. Première note. *Bull. Soc. Path. Exot.* 3, 510-511.
- Sergent E.E., Lombard J., 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. Pathol. Exot.* 5:93-98.
- Sergent E.D., Parrot I., Donatien A., Beguet M. (1921) : Transmission du clou de Biskra par le phlébotome *Phlebotomus papatasi* (Scop). *C. R. Acad. Sci.*, 173, 1030-1032.

- Sinton J.A. (1925): Notes on some Indian species of the genus *Phlebotomus*. Part XI. The role of insects of the genus *Phlebotomus* as carriers of disease with special reference to India. *Indian. J. Med. Res.* 12:701-729.
- Sinton J.A. (1928): The synonymy of Asiatic species of *Phlebotomus*. *Indian. J. Med. Res.*, 16, 297-324.
- Soto U.S.I., Lehmann T., Rowton E.D., Vélez I.D., Potter C.H. (2001): Speciation and population structure in morphospecies *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) as derived from the ND4 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18, 84-93.
- Tamimy H. (2011) : La leishmaniose viscérale infantile (A propos de 73 cas). Thèse de Doctorat en Médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès, Maroc. 142p.
- Tamura K., Dudley J., Nei Kumar S. (2007): MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24: 1596-1599.
- Theodor O. (1948): Classification of the Old World species of the subfamily *Phlebotominae* (Diptera: *Psychodidae*). *Bull. Ent. Res.*, 39, 85-115.
- Theodor O., Mesghali A. (1964): On the Phlebotomine of Iran. *J. Med. Entomol.* 1, 285–300.
- Tomás-Pérez M., Khaldi M., Riera C., Mozo-León D., Ribas A., Hide M., Barech G., Benyettou M., Seghiri K., Doudou S., Fisa R. (2014): First report of natural infection in hedgehogs with *Leishmania major*, a possible reservoir of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Algeria. *Acta Trop.* 2014 Jul. ;135 : 44-9.
- Tonnoir A.L. (1921) : Une nouvelle espèce européenne du genre *Phlebotomus* (*Phlebotomus ariasi*). *Ann. Soc. Ent. Belge.*, 61, 53-56.
- Tulasne L. (2009) : Actualités dans la lutte contre la leishmaniose canine. Thèse de Doctorat Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort. 128p.
- Université Médicale Virtuelle Francophone (U.M.V.F.) (2014) : Leishmaniose. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). 16p.
- Varani S., Cagarelli R., Melchionda F., Attard L., Salvadori C., Finarelli A.C., Gentilomi G.A., Tigani R., Rangoni R., Todeschini R., Scalone A., Di Muccio T., Gramiccia M., Gradoni L., Viale P., Landini M.P. (2013) : Varani Ongoing outbreak of visceral leishmaniasis in Bologna Province, Italy, November 2012 to May 20. *Eurosurveillance* Edition 2013. 3 : Volume 18/ Issue 29. Article 2.
- Veronesi E., Pilani R., Carrieri M., Bellini R. (2007): Trapping sand flies (*Diptera: Psychodidae*) in the Emilia-Romagna region of northern Italy. *J. Vector. Ecol.* 32: 313-318.

- Veronesi E., Pilani R., Carrieri M., Bellini R. (2009): Trapping sand flies (*Diptera: Psychodidae*) in the Emilia-Romagna region of northern Italy. *Journal of Vector Ecology* 322 p: 313-318.
- Vilela D.G. (2008): Analysis of Gene Expression in the *Leishmania* Life Cycle: *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* and *Leishmania* (Viannia) *peruviana* model. Thesis University Maastricht. 121 p:17.
- Wasserberg G., Yarom I., Warburg A. (2003): Seasonal abundance patterns of the sand fly *Phlebotomus papatasi* in climatically distinct foci of cutaneous leishmaniasis in Israeli deserts. *Med. Vet. Ent.* 17, 452-456.
- W.H.O. (2000) : *Leishmania* and V.I.H. co-infection. *Lepr. Rev.* 71, 104-5.
- Yaghoobi-Ershadi M.R., Javadian E., Tahuildar-Bidruni G.H. (1995): *Leishmania major* MON-26 isolated from naturally infected *Phlebotomus*.
- Zait H., Hamrioui B. (2009) : Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiqués au C.H.U. Mustapha d'Alger de 1998 à 2007. *Revue Francophone des Laboratoires*, mai 2009 - n°412. 33-39.
- Zait H., Ferhani Y., Achir I., Hamrioui B. (2012) : Étude de 71 cas de leishmaniose viscérale diagnostiqués au C.H.U. Mustapha d'Alger entre 1998 et 2009. *Médecine et maladies infectieuses* 42 (2012), 119-125.
- Zhioua E., Kaabi B., Chelbi I. (2007): Entomological investigations following the spread of visceral leishmaniasis in Tunisia. *Journal of Vector Ecology*, Vol. 32, no. 2:1-4.
- Zivkovik V. (1977) : Recherches sur les Phlébotomes (*Diptera, Psychodidae*) de Serbie avec étude particulière des régions à leishmaniose viscérale endémique. *In: Colloques Internationaux du C.N.R.S.. Paris/C.N.R.S.*, 239, 195-201.
- Zivkovik V., Miscevic Z. (1979) : Le cycle d'activité nocturne des phlébotomes (*Diptera: Phlebotomidae*) a la lumière artificielle dans les agglomérations. *Acta. Parasito. Iugos*, 10, 3-13.

Sites internet :

- <http://www.interieur.gov.dz/>
- <http://www.actualité-pharmacie.com/>
- <http://www.vet-nantes.fr/>

ANNEXE I

1- Cibarium inerme, soies des tergites abdominaux II et VI uniformément dressées. Style porteur de 4 ou 5 épines insérées à des niveaux différents et dépourvu de soie caduque :

Genre *Phlebotomus*.....2

Cibarium armé, soies des tergites abdominaux II à VI couchées ; chez le mâle, style porteur de 4 épines terminales :

Genre *Sergentomyia*.....12

Détermination des espèces du genre *Phlebotomus* mâles

2- Style à 4 épines2

-Sous-genre *Paraphlebotomus*5

-Style à 5 épines.....3

3- Style long à 5 épines courtes et spatulées, dont trois sont terminales ; paramère trilobé, lobe latéral armé de deux épines terminales :

-Sous-genre *Phlebotomus*4

Style trapu à 5 épines, dont 2 terminales, lobe latéral inerme :

-Sous-genre *Larroussi*.....7

4- Epine médiane du style plus rapprochée de l'épine basale que des épines terminales ; touffe de 12 soies longues et bien différenciées à l'apex du coxite ; petit tubercule basal du coxite portant plus de 6 soies :

Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi (Scopoli, 1786)

-Epine médiane du style à mi-distance entre l'épine basale et le groupe des épines terminales, ou plus près de ce dernier ; touffe de 6 ou 7 soies longues à l'apex du coxite ; petit tubercule basal du coxite portant 6 soies :

Phlebotomus (Phlebotomus) bergeroti (Parrot, 1934)

5- Valve pénienne en lame aigue, transparente, non recourbée à l'apex :

Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970)

-Valve pénienne recourbée en « bec de rapace » à l'apex.....6

6- Une seule épine terminale sur le style ; lobe latéral plus court ou égal au coxite ; à la base du coxite, présence d'un lobe court, trapu et nettement dilaté à l'extrémité :

Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri (Sinton, 1928)

Deux épines terminales sur le style ; lobe latéral plus long que le coxite : à la base du coxite, lobe de taille moyenne, peu élargi à l'apex, à soies courtes :

Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti (Parrot, 1917)

7- Valve pénienne bifide à l'apex :

Phlebotomus (Larrousius) perniciosus (Newstead, 1911)

-Valve pénienne simple à l'apex.....8

8- Valve pénienne pointue à l'apex.....9

-Valve pénienne arrondie à l'apex.....10

9-Valve pénienne régulièrement effilée, se terminant par une pointue longue, légèrement asymétrique :

Phlebotomus (Larrousius) longicuspis (Nitzulescu, 1930)

-Valve pénienne tronquée en biseau, se terminant par une pointe très courte, nettement asymétrique :

Phlebotomus (Larrousius) langeroni (Nitzulescu, 1930)

10- Bord dorsal de la valve pénienne porteur de 4 à 6 dents ; valve arquée et spatulée à l'apex:

Phlebotomus (Larrousius) perfiliewi (Parrot, 1930)

-Valve pénienne renflée en battant de cloche.....11

11- Coxite pourvu d'un placard de 30 à 45 soies :

Phlebotomus (Larrousius) ariasi (Tonnoir, 1921)

-Coxite pourvu d'un placard de 60 à 80 soies :

Phlebotomus (Larrousius) chadlii (Rioux, Juminer et Gibily, 1966)

12- Valve pénienne épaisse, digitiforme, arrondie à l'apex :

Genre *Sergentomyia*.....12

- Sous-genre ***Sergentomyia***.....13

-Valve du pénis triangulaire, en cône à apex pointu.....16

13- Style 5 à 7 fois plus long que large, soie non caduque très courte et insérée tout près des épines terminales :

Sergentomyia (Sergentomyia) fallax (Parrot, 1921)

-Style plus court et trapu.....14

14- Soie non caduque du style assez éloignée des épines terminales.....15

Soie non caduque du style très proche des épines terminales ; les quatre épines du style sont souvent disposées en deux groupes bien séparés ; cibarium armé de deux rangées de dents très courtes et aigues :

Sergentomyia (Sergentomyia) schwetzi (Adler, Theodor et Parrot, 1929)

15- Cibarium armé de dents disposées sur une ligne droite ou légèrement concave en arrière :

Sergentomyia (Sergentomyia) minuta parroti (Adler et Theodor, 1927)

-Cibarium armé de dents disposées sur un arc profondément concave en arrière ; tache cibariale pourvue d'un prolongement antérieur :

Sergentomyia (Sergentomyia) antennata (Newstead, 1912)

16- Valve péniennne en forme de cône très allongé.....17

-Valve péniennne en forme de cône court.....19

17- Dents cibariales très aiguës à pointes obliquement dirigées vers le centre, 12 à 14 dents :

Sergentomyia (Sintonius) tiberiadis (Adler, Theodor et Lourie, 1930)

-Dents cibariales mousses.....18

18- Cibarium armé de 20 dents mousses disposées sur une ligne légèrement convexe vers l'arrière, soie non caduque insérée au voisinage immédiat de l'apex du style :

Sergentomyia (Grassomyia) dreyfussi (Parrot, 1931)

-Cibarium armé de 30 à 35 petites dents monomorphes, rangées en palissade régulière suivant un arc de cercle légèrement concave vers l'arrière :

Sergentomyia (Parrotomyia) eremetis

19- Cibarium armé de 25 à 35 petites dents disposées par groupes de 4 ou 6 et d'une rangée antérieure de denticules punctiformes :

Sergentomyia (Sintonius) clydei (Parrot, 1928)

-Cibarium armé de deux ou trois dents courtes et fortes et d'une série de denticules fins disposés sans ordre :

Sergentomyia (Sintonius) christophersi

20- Pompe génitale dépourvue de pavillon

Sergentomyia (Parrotomyia) lewisi (Parrot, 1948)

ANNEXE II

Tableau 10 : Cas suspects de leishmaniose déclarés au niveau de diverses structures de santé de la Wilaya de Constantine (20011-2013).

Origine	Sexe	Age (Ans)	Lésion		
			Nombre	Siège	Description
Constantine	M	52	1	Avant bras	Erythémateuse, papulo-squameuse
	M	3	-	Joue	Croûteuse
	M	23	1	Avant bras	Nodulaire/Erythémateuse
	M	70	4	Dos/Jambe	Ulcéro- croûteuse
	F	40	1	Visage	Nodulaire
	M	34	1	Jambe	Ulcéro- croûteuse
	M	14 mois	1	Visage	Nodulaire
	M	46	1	Main	Croûteuse
	F	53	1	Avant bras	Ulcéro- croûteuse
	F	54	1	Avant bras	Erythémateuse
	M	2	1	Cou	Cutanéo-nodulaire
F	73	2	Avant bras	Uéro- croûteuse	
Zighoud Youcef	F	71	1	Main gauche	Dure, boursoufflée à bord inflammatoire
	M	32	1	Cheville	Nodulaire
	M	46	1	Jambe	-
Hamma Bouziane	F	13	1	Genou	Erythémato-croûteuse
	M	49	1	Joue	Inflammatoire/Furunculoseuse
	M	38	1	Joue	Ulcéro- croûteuse
Ain Smara	M	43	2	Cou	Nodulaire
Didouche Mourad	F	32	1	Joue	Vésiculo-croûteuse
Ibn Ziad	M	15	2	Jambe	Erythémateuse Squameuse
	M	23	1	Dos	Nodulaire
	F	18	1	Nez	Croûteuse
Ain Baida	M	45	1	Œil	Nodulaire
	F	36	2	Jambe	Squameuse/Croûteuse
Ouled Rahmoune	M	70	1	Jambe	Nodulaire/ Croûteuse
Ghelizane	M	21	1	Main	Croûteuse
Biskra	M	27	1	Nez/Front	-
Skikda	M	29	2	Joue	Nodulaire
	M	78	1	-	-
Grarem	M	27	1	Joue	Nodulaire
	F	16	1	Main	Nodulaire
Ferdjioua	F	19	1	Nez	Bourgeonnante squameuse
Ghardaia	F	4	1	Front	Erythémato-croûteuse
Teleghma	M	53	1	Jambe	Nodulaire/Croûteuse
Batna	M	25	1	Jambe	Ulcéro-croûteuse
Oued Seghin	M	44	1	Main	Erythémateuse/Fistuleuse
Ain Fakroun	M	37	1	Jambe	Ulcéro-croûteuse
Temmimoune	M	21	2	-	Ulcéro-croûteuse
Msila	M	25	1	Main	Nodulaire
Sétif	M	25	1	Jambe	Nodulo- croûteuse
Beni Oulben	F	13	1	Jou	Vésiculaire
Oum Bouaghi	M	22	1	Doigt	Croûteuse
	F	15	2	Bras/Joue	Nodulaire
	M	35	1	Visage	Ulcéro-croûteuse
	M	50	4	Jambe	Ulcéro-croûteuse
Mila	F	20	1	Main	Inflammatoire

2011-2012

	Adrar	M	21	3	Jambe	Croûteuse
		M	22	1	Avant bras	Nodulaire
	Alger	M	28	1	Jambe	Croûteuse
	Oued Athmania	F	36	1	Front	Vésiculo-squameuse
	El Harrouche	M	14	1	Front	Croûteuse
	Ain Mlila	M	6	1	Coude	Vésiculo-fistuleuse
2012-2013	Constantine	F	2	1	Joue	Nodulaire
		M	40	3	Bras	Lésions inflammatoires
	Didouche Mourad	F	60	1	Jambe	Ulcéro-croûteuse
	Beni Hamiden	F	30	1	Joue	Nodulaire/Inflammatoire
	Oued Seguin	M	37	5	Dos	Sèches/Cicatricielles
	Zighoud Youcef	F	33	1	Nez	Nodulo-inflammatoire, saigne au contact
		F	35	-	Joue	Contrôle
	Ben Hamidene	M	69	1	Nez	Erythémateuse
		M	70	1	Nez/Muqueuse	Inflammatoire
	Ain Kercha	M	52	2	Pieds	Ulcéro-croûteuse
	Oued El Athmania	M	51	3	Main	Ulcéro-croûteuse
	Mila	M	33	1	Pied	Ulcéro-croûteuse
		M	53	2	Main/Pied	Satellites surinfectée
		M	19	1	Œil	Ulcéro-croûteuse
		M	30	1	Front	Ulcéro-croûteuse
		F	16 mois	1	Front	Lésions inflammatoires
		F	8	1	Front	Ulcéro-croûteuse
	El Harroche	F	2	1	Joue	Nodulaire
	Ain Fakroun	M	14	1	-	Croûteuse sèche, pourtours inflammés
	Melha	F	15	1	Joue	Nodulaire
	Ferdjioua	M	-	1	Joue	Ulcéro-croûteuse
	Ain Beida	M	61	1	Oreille	-
	Teleghma	M	28	4	Jambe	Sèche, croûteuse
	Tolga	F	3	1	Menton	Lésion ulcéro- croûteuse
	Oum Bouaghi	M	35	1	Jambe	Ulcéro- croûteuse
	Ain Abid	M	18	1	Front	Ulcéro-croûteuse

ANNEXE III

Tableau II : Critères d'identification de *P. papatasi*, *P. perniciosus*, *P. perfiliewi*, *P. longicuspis*, *S. minuta* et *S. dreyfussi* (Parrot, 1934 ; Dedet et al., 1984).

Espèce	Critères d'identification
<i>P. papatasi</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Génitalia très développé : longueur du coxite et du style réunis dépassent la longueur du thorax. ▪ Style, long et grêle, porte cinq épines trapues : trois apicales et deux subterminales plus proches l'une de l'autre que des trois premières. ▪ Coxite, présente à sa base un petit lobe garni de quelques soies courtes et dans sa partie subterminale une douzaine de soies longues bien différenciées. <ul style="list-style-type: none"> - Paramère, caractéristique du Sous-genre, se compose de trois lobes : <ul style="list-style-type: none"> - lobe ventral court portant souvent à son extrémité distale une petite épine, - lobe médian, digitiforme, plus court que le lobe ventral, - lobe dorsal, plus long, nettement arqué et couvert de soies sur sa concavité. ▪ Lobe latéral portant à son extrémité distale deux courtes épines apicales spatulées.
<i>P. perniciosus</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Valve pénienne bifurquée à l'extrémité avec occasionnellement une petite dent surnuméraire. ▪ Fourche terminale très polymorphe « à pointes égales ou inégale et pourvues ou non de denticulations latérales ».
<i>P. perfiliewi</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Style à cinq épines: 2 apicales et 3 médianes (l'une plus grêle que les autres). Coxite portant, sur sa face interne, 16 à 20 soies dirigées ventralement, près de milieu du coxite et décalées vers la base. ▪ Valve pénienne à base large, présentant une face interne incurvée à son extrémité distale. ▪ Marge externe sombre et pourvue de 4 à 6 denticules acérés. Face interne constituée d'une membrane claire et translucide donnant un aspect tronqué à la valve. ▪ Paramères à aspect conique trapu, portant près de la base sur la face interne 5 soies rectilignes.
<i>P. longicuspis</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diffère par la morphologie de la structure terminale de la valve pénienne et par le nombre de soies sur la face intérieure du coxite. ▪ Valve pénienne simple, droite, pointue et effilée avec 18 à 31 soies sur le coxite de <i>P. longicuspis</i> typique. Pour l'espèce atypique, la valve pénienne est incurvée à son extrémité et possède 10 à 16 soies au niveau du coxite.
<i>S. minuta</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Style trapu, pourvu de quatre épines terminales groupées et d'une soie non caduque insérée à l'union des deux tiers proximaux et du tiers apical. ▪ Édéage court et robuste, se terminant en doigt de gant.
<i>S. dreyfussi</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>S. dreyfussi</i> est la seule espèce d'Afrique du Nord munie d'une rangée de 7 à 10 épines sur les fémurs des pattes postérieures. ▪ Armature cibariale comporte, en moyenne, 22 dents acérées, rangées en un arc concave vers l'avant. ▪ Style deux fois moins long que le coxite. ▪ Valves du pénis régulièrement effilées à l'apex.

ANNEXE IV

Tableau 12 : Tâches effectuées dans diverses institutions.

Tâches effectuées	Institution
*Traitement des phlébotomes	<i>Laboratoire de Biosystématique et Ecologie des Arthropodes. Université des Frères Mentouri, Constantine (Algérie).</i>
*Identification morphologique des phlébotomes	
*Extraction de l'ADN phlébotomien	<i>Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale à la Faculté de Médecine de Lyon (France).</i>
*PCR Genre phlébotomes	
*PCR Espèce phlébotomes	
*PCR prélèvements cutanés	

(*) : Tâches accomplies personnellement.

التشخيص الجزيئي لطفيليات اللشمانيا المتواجدة في نوع الفليبوطوم:

في طريق تراجع وباء اللشمانيا في منطقة قسنطينة ؟

يشكل مرض اللشمانيا واحدا من الأمراض الطفيلية ذات أعراض خارجية متنوعة. يتسبب في هذا المرض أوالي سوطية من نوع اللشمانيا الذي ينتقل إلى الإنسان والحيوان على حد سواء عن طريق لدغة حشرة ناقلية للمرض هي: أنثى ذباب الرمل (الفليبوطوم)، والتي تعد من أهم أنواع الحشرات الناقلة للأمراض خاصة اللشمانيا الذي يضرب بقرابة 350 مليون شخص في العالم. تبين لنا من خلال هذه الدراسة أن حملة إبادة نواقل اللشمانيا التي بادرت بها المصالح الصحية في كافة التراب الوطني، قد أعطت ثمارها لأن، وبالرغم من تواجد هذا المرض بنسب عالية خاصة في المناطق الريفية، إلا أنها تعرف تراجعاً ملموساً على المستوى الوطني. بالإضافة إلى التشخيص الجزيئي لطفيليات اللشمانيا المتواجدة في الحشرة الناقلة، تهدف هذه الدراسة إلى التشخيص الجزيئي لعينات جلدية لمصابين بهذا الداء بقسنطينة. فيما يخص الحشرة الناقلة، تم الإمساك بـ 5858 ذبابة رمل، من بينها 4360 ذكر و1498 أنثى. خضع الذكور لدراسات مرفولوجية بهدف التعرف على الفصائل المتواجدة. سمحت الدراسة المرفولوجية بالتعرف على نوع *Phlebotomus* الذي يمثل 93% من مجموع الذكور، على عكس نوع *Sergentomyia* الذي لا تتعدى نسبة تواجده 7%. فيما يتعلق بالفصائل المتعرف عليها، يتضح أن أكثرها تواجدا هي فصيلة *P. perniciosus* التي تمثل 59.4% من مجموع الذكور، تليها *P. longicuspis* بنسبة 24.7%. تعد *P. perniciosus*، *P. papatasi* و *S. dreyfussi* أقل الفصائل تواجدا ممثلة على التوالي 6.7%، 2.2% و 1.5% من مجموع الفئ. أما فيما يخص العينات الجلدية، تبين أن 45 عينة من بين 79 الخاضعة لتقنية PCR في الوقت الحقيقي، ذات نتيجة إيجابية. من الملاحظ أن هذه النسبة في تراجع بالنسبة للسنوات الماضية حيث سجل خلال سنة 2005 قرابة 30 227 حالة. فيما يتعلق بتشخيص اللشمانيا المتواجدة في الحشرة الناقلة عن طريق PCR في الوقت الحقيقي، تظهر النتائج أن 3 من أصل 60 PCR ذات نتائج إيجابية تبين من خلال تطابق حرارة الالتحام الناتجة مع حرارة الالتحام المرجعية لـ *L. infantum* ($84.1 \pm 0.4^\circ\text{C}$)، دلالة على وجود الطفيليات في الحشرة الناقلة، بينما لا تعطي تقنية PCR للفصيلة أي نتيجة إيجابية، الشيء الذي يمكن تفسيره بعدم وجود كمية كافية من مورثات اللشمانيا في الحشرات، مما يؤكد تراجع الوباء في منطقة قسنطينة.

الكلمات المفتاحية: لشمانيا - فليبوطوم - التشخيص الجزيئي - PCR في الوقت الحقيقي - قسنطينة.

Molecular Detection of *Leishmania* from the *Phlebotomus* genus: tendency towards leishmaniasis regression in Constantine ?

Leishmaniasis is a group of parasitic disease with a varied clinical expression caused by flagellate protozoa of the *Leishmania* genus. These diseases are transmitted to humans and animals by the sting of a vector insect, the female sandfly. Among the groups of dipteran disease vectors, *Phlebotominae* occupy a prime position and play a significant role in human pathology, such as leishmaniasis that affects nearly 350 million people worldwide. The vector control operation launched by health services throughout the country proves to be effective since despite the prevalence of the disease remains high especially in rural areas, leishmaniasis appears to be declining in Algeria. In this context, this study mainly concerns molecular detection of *Leishmania* from the vector. Furthermore, a molecular diagnosis has also been made on skin samples taken from patients in the region of Constantine. Concerning the vector, 5858 sandflies were captured, including 4360 males and 1498 females. Male specimens were identified based on their morphological. The morphological identification highlighted the presence of the *Phlebotomus* genus with a prevalence of 93% against 7% represented by the *Sergentomyia* genus. About the identified species, *P.perniciosus* is the most abundant with 59.4% of the male identified population followed by *P.longicuspis* with 24.7% of the workforce. *P.perfiliewi* is poorly represented by 6.7% of specimens followed by *P.papatasi* with 2.2% and 1.5% *S.dreyfussi*. Concerning skin samples, 45/79 (56.96%) collected samples were found positive by real-time PCR. This rate appears to be in sharp decline compared to previous years (alert peak of 30,227 cases in 2005). Concerning the detection of *Leishmania* from sandflies by RT-PCR, the results show that 3/60 PCR performed genus are positive with melting temperatures corresponding to that of the reference strain (84.1 +/- 0.4 ° C for *L. infantum*). This proves that the vectors were parasitized. On the other side, identification by RT-PCR species didn't give any results. This could be explained by the presence of an insufficient amount of leishmanian DNA in the vector, and therefore support the hypothesis of the regression of leishmaniasis in Constantine.

Key-Words: *Phlebotomus* - Molecular diagnostic - Real time PCR - Constantine.

FRAHTIA-BENOTMANE Khalida

Date de soutenance : 16 /06 /2015

Thème : Détection moléculaire des leishmanies à partir du genre *Phlebotomus* (Diptera, Psychodidae) : tendance vers la régression de la leishmaniose à Constantine ?

*Thèse de Doctorat en Science
Option : Entomologie*

Les leishmanioses représentent un groupe de maladies parasitaires d'expression clinique variée, dues à un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Ces affections sont transmises à l'Homme et aux animaux par la piqûre d'un insecte vecteur, le phlébotome femelle. Parmi les groupes de diptères vecteurs de maladies, les *Phlebotominae* occupent une place de premier choix et jouent un rôle important en pathologie humaine, telles que les leishmanioses qui touchent près de 350 millions de personnes dans le monde. La lutte anti vectorielle lancée par les services sanitaires à travers tout le pays s'avère efficace puisqu'en dépit de la prévalence de la maladie qui reste élevée principalement dans les régions rurales, la leishmaniose semble être en régression en Algérie. Dans ce contexte, cette étude vise, principalement, la détection moléculaire des *Leishmania* à partir du vecteur. Par ailleurs, un diagnostic moléculaire a, également, concerné des échantillons cutanés prélevés sur des patients de la région de Constantine. Concernant le vecteur, 5858 phlébotomes ont été capturés, dont 4360 mâles et 1498 femelles. Les spécimens mâles ont été identifiés sur la base de leurs caractères morphologiques. L'identification morphologique a mis en évidence la présence du genre *Phlebotomus* avec une prédominance de 93% contre 7% représenté par le genre *Sergentomyia*. Quant aux espèces identifiées, *P. perniciosus* est la plus abondante avec 59,4% de la population de mâles identifiée, suivie de *P. longicuspis* avec 24,7% de l'effectif. *P. perfiliewi* étant peu représentée avec 6,7% des spécimens suivis de *P. papatasi* avec 2,2% et *S. dreyfussi* avec 1,5%. Pour ce qui est des prélèvements cutanés, 45/79 (56,96%) échantillons collectés se sont révélés positifs en PCR en temps réel. Ce taux semble être en nette régression par rapports aux années précédentes (pic d'alerte de 30 227 cas en 2005). Concernant la détection, par RT-PCR, des leishmanies à partir des phlébotomes, les résultats montrent que 3/60 PCR Genre réalisées, sont positives avec des températures de fusion correspondant à celle de la souche de référence (84,1+/-0,4°C pour *L. infantum*). Ce qui prouve que les vecteurs étaient parasités, par contre, l'identification par RT-PCR Espèce, n'a aboutie à aucun résultat. Ce qui pourrait s'expliquer par la présence d'une quantité insuffisante d'ADN leishmanien présente chez le vecteur et par conséquence, corroborer l'hypothèse de la régression de la leishmaniose à Constantine.

Mots clés : *Phlebotomus* - Détection moléculaire - PCR en temps réel - Constantine.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biosystématique et Ecologie des Arthropodes

Président :	Mr. LOUADI K.	Professeur	Univ. des Frères Mentouri - Constantine
Rapporteurs :	Mme. MIHOUBI I.	Professeur	Univ. des Frères Mentouri - Constantine
	Mr. PICOT S.	Professeur	Univ. Claude Bernard-Lyon
Examineurs :	Mr. MOULAHM T.	Professeur	Univ. Rabeh Bitat - Constantine
	Mr. HARRAT Z.	Professeur	Institut Pasteur Algérie