

THESE

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

Centre de Recherche : GEOPAC

Structure de Recherche : Laboratoire de Géo-biodiversité et Patrimoine Naturel

Discipline : Biologie

Spécialité : Entomologie Médicale, Ecologie, Epidémiologie

Présentée et soutenue le 28/10/2023 par :

Fatima-zahra ABOU-ELAAZ

Ecologie des leishmanioses dans la région de Béni Mellal-Khénifra

JURY

Mohamed FEKHAOUI	PES, Université Mohammed V, Institut Scientifique, Rabat	Président
Aaziz OUATMANE	PES, Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal	Rapporteur/Examineur
Mohamed ARAHOU	PES, Université Mohammed V, Institut Scientifique, Rabat	Rapporteur/Examineur
Abdelaziz BENHOUSSA	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences, Rabat	Rapporteur/Examineur
Mohamed GHAMIZI	PES, Université Cadi Ayad, Faculté des Sciences, Marrakech	Examineur
Denis SERENO	EXPERT, Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France	Examineur
Souad GUERNAOUI	PH, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dher El Mahraz, Fès	Co-Directrice de Thèse
Oumnia HIMMI	PES, Université Mohammed V, Institut Scientifique, Rabat	Directrice de Thèse

Année Universitaire : 2023/2024

DEDICACES

A mes parents. A ceux qui m'ont donné la vie, et qui m'ont toujours tout donné sans jamais rien compter, les mots se font pauvres et impuissants pour vous exprimer ce que je ressens en écrivant ces quelques lignes.

A ma mère, qui n'a cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon père, qui a toujours été mon meilleur ami et mon confident. Ton optimisme et ton grand cœur m'ont appris l'essence de la vie. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

A mon mari et mon petit-fils pour vos encouragements, vos soutiens, vos aides et vos conseils tout au long de mon travail de recherche. Vous êtes la source de ma vie et de confiance.

A mes frères Selayman et Abdelkadir, pour vos efforts, votre générosité et vos conseils qui ont été pour moi une source de courage.

A ma famille

A mes ami(e)s

Je dédie ce mémoire.

REMERCIEMENTS

Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire ont été effectués sous la direction de Madame le professeur **Oumnia HIMMI**, au laboratoire Géo-biodiversité et Patrimoine Naturel (GEOPAC) à l'Institut Scientifique, Université Mohammed V de Rabat et réalisés sous la responsabilité scientifique de Madame le professeur **Souad GUERNAOUI**, Enseignante-chercheuse à la Faculté des Sciences Dhar El Mehrez, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès.

Mes premiers vifs remerciements sont adressés à Monsieur **Mohammed REGRAGUI**, Doyen de la Faculté des Sciences de Rabat, d'avoir accepté ma candidature pour passer un doctorat au CEDoc Sciences et Techniques

Je témoigne toute ma gratitude à Monsieur **Mohamed FEKHAOUI**, Directeur de l'Institut Scientifique, de m'avoir permis d'accéder au laboratoire de GEOPAC pour effectuer mes recherches de Doctorat. Je le remercie d'avoir accepté la présidence du jury de ma thèse.

Ma reconnaissance s'adresse à Madame **Oumnia HIMMI**, Professeur à l'Institut Scientifique de Rabat, d'avoir assuré la direction de cette thèse. Je la remercie pour son encadrement et sa gentillesse.

Ma profonde gratitude et mes remerciements vont tout naturellement à Madame le Professeur **Souad GUERNAOUI**, Professeur à la Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès. Son encadrement, sa connaissance ainsi que son expérience et ses conseils m'ont été d'une aide précieuse dans la réalisation de ce travail. Sa passion pour la recherche, sa compétence reconnue, ses scrupuleuses exigences de rigueur transmises avec fermeté et sans faille, m'ont permis de conduire cette étude à son terme.

Mon profond respect va à Monsieur **Mohamed GHAMIZI**, Professeur à la Faculté des Sciences Semlalia de Marrakech et Directeur du Muséum d'Histoire Naturelle de Marrakech qui m'a toujours soutenue et encouragée durant la réalisation de ce travail en me permettant de travailler dans son laboratoire. Je le prie de bien trouver ici l'expression de ma vive gratitude et je le remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie particulièrement, le Professeur **Denis SERENO**, Chercheur à l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) de Montpellier pour sa confiance, sa générosité et sa gentillesse et je le remercie vivement d'avoir accepté de juger cette thèse.

Je suis très honorée par la présence de Monsieur **Aaziz OUATMANE**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques, de Béni Mellal. Je le remercie vivement d'avoir accepté d'être parmi les rapporteurs et le jury de cette thèse.

Je tiens aussi à remercier Monsieur **Abdelaziz BENHOUSSA**, Professeur à la Faculté des sciences de Rabat, qui a bien voulu être rapporteur de cette thèse et de siéger parmi les jurys de cette thèse.

Je présente mes vifs remerciements à Monsieur **Mohamed ARAHOU**, Professeur à l'Institut Scientifique de Rabat et Vice-Directeur de cet établissement, d'avoir bien voulu être rapporteur de ce travail et de participer au jury de cette thèse.

Je tiens aujourd'hui à remercier Madame **Souad BOUHOUT**, Médecin spécialiste à la Direction d'Epidémiologie et de lutte contre les maladies du Ministère de la Santé, pour sa confiance en mettant à ma disposition les données relatives aux études épidémiologiques menées par son département.

Mes remerciements s'adressent au professeur **ABDELMAJID HADIOOUI**, Directeur du Laboratoire de biotechnologie et valorisation des ressources phyto-génétiques, Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal qui m'a fourni les conditions favorables pour réaliser mes manipulations.

Enfin à tous les membres de l'équipe de recherche au Muséum d'Histoire Naturelle de Marrakech, j'exprime toute ma gratitude pour leur disposition et leur soutien moral.

Mes sentiments les plus sincères d'amitié concernent mes amies **NADIA BENATTIK**, **FADOUH HASSNA** et **ZINEB DAHMANI** pour leur gentillesse, leur présence, leur serviabilité, leur amour, leur soutien et leur aide immense pendant les périodes difficiles. Qu'ils trouvent ici l'expression d'une amitié durable et d'une haute considération.

A titre plus personnel, je remercie toute ma famille en commençant par mes parents **Abderrazaq ABOU-ELAAZ** et **Saida EL OUAFA**, mon mari **TABAANDOUST Brahim**, mon petit-fils **TABAANDOUST Mohamed Sultan**, mes frères **Selayman** et **Abdelkabir**, ma tante **Aziza EL OUAFA**, mes oncles **Ismail** et **Jamal EL OUAFA**, mes chères copines **Aya** et **Hajar** pour leurs soutien inconditionnel. Merci pour vos sacrifices et vos encouragements. Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.

Mes remerciements s'adressent à toute la famille **ABOU-ELAAZ** et **EL OUAFA**, dont les noms n'ont pas été cités, mais qui demeurent dans ma pensée.

RESUME

Les leishmanioses sont des maladies à transmission vectorielles, dont l'agent pathogène est un protozoaire du genre *Leishmania* (*L.*), transmis par une piqûre infestante d'un insecte, le phlébotome femelle. Au Maroc, le premier cas dû à ce parasite signalé au Maroc a été enregistré dans la localité de Tanant (province d'Azilal) en 1987. Dans ce foyer, la maladie évolue toujours d'une façon stable. Pour réaliser ce travail, nous avons d'abord étudié l'épidémiologie de LC dans le foyer de Tadla-Azilal durant la période de 2009 à 2015. Cela a permis d'identifier les facteurs de risque leishmanien et d'obtenir des cartes montrant que la maladie migre vers les piémonts de la montagne du Haut-Atlas. Puis, nous avons étudié l'écologie des phlébotomes dans la région de Béni Mellal-Khénifra dans 34 stations, en utilisant les pièges adhésifs et en se basant sur la technique des intermédiaires-transects et ce entre mai et octobre 2017. En effet, 11 espèces appartenant aux genres *Phlebotomus* et *Sergentomyia* ont été recensées avec la prédominance de *P. sergenti*, *P. perniciosus* et *P. longicuspis*. La répartition spatiale de la faune varie d'une station à l'autre. De même l'activité saisonnière des espèces les plus abondantes a été étudiée et a montré des différences entre les stations. Finalement, nous avons étudié les génitalia et les ailes du vecteur *P. sergenti* en se basant sur des techniques morphométriques et géo-morphométriques respectivement pour les deux organes dans le foyer d'Azilal. L'étude morphométrique des génitalia nous a permis de caractériser trois morphotypes potentiels et des variations temporelles de leur longueur de coxite, ainsi que les longueurs de style et de coxite sont les caractères discriminants des sous-populations de *P. sergenti*. L'étude géo-morphométrique des ailes nous a permis de distinguer des populations de *P. sergenti*, mettant en évidence des variations phénotypiques spatiales concernant leur taille et leur forme. En plus, la longueur de l'aile, de la taille du centroïde, les distances alpha et bêta sont les caractères discriminants des sous-populations de *P. sergenti*.

Mots-clefs (5) : Leishmanioses, Ecologie, *Phlebotomus sergenti*, morphométrie, géo-morphométrie, Béni Mellal-Khénifra

Abstract

Leishmaniasis is a vector-borne disease whose pathogen is a protozoan of the genus *Leishmania* (*L.*), transmitted by an infesting bite of an insect, sand fly female. In Morocco, the first case of CL due to *L. tropica* was registered in the locality named Tanant (Azilal province) in 1987. So far, the disease is still endemic and largely widespread. To carry out this work, we studied the epidemiology of CL in Tadla-Azilal focus from 2009 to 2015. This allowed to identify leishmanial risk factors and to obtain maps showing that the disease migrates. Then, we studied the sandflies ecology in Béni Mellal-Khénifra region in 34 stations, using adhesive traps and based on interim-transects technique between May and October 2017. Indeed, 11 species belonging to the genera *Phlebotomus* and *Sergentomyia* were identified with the predominance of *P. sergenti*, *P. perniciosus* and *P. longicuspis*. The spatial distribution of the fauna varies from one station to another. Also, the seasonal activity of the three most abundant species was studied and showed differences between stations. Finally, we studied the *P. sergenti* complex using morphometric and geo-morphometric techniques based in genitalia and wings, respectively. The genitalia morphometric study permitted to characterize three potential morphotypes of *P. sergenti* and temporal variations of their coxite length. The style and coxite lengths allowed a clear discrimination of *P. sergenti* subpopulations. The wings geo-morphometric analyses allowed the presence of distinct *P. sergenti* populations, and spatial phenotypic variations concerning their size and shape. In addition, wing length, centroid size, alpha and beta distances are the discriminating characters of *P. sergenti* subpopulations.

Key Words (5): Leishmaniasis, Ecology, *Phlebotomus sergenti*, morphometry, geo-morphometry, Béni Mellal-Khénifra

AVANT PROPOS

Nom et prénom de l'auteur : ABOU-ELAAZ Fatima-Zahra

Intitulé du travail : Ecologie des leishmanioses dans la région de Béni Mellal-Khénifra.

Nom et Prénom des Directrices des travaux de recherche : GUERNAOUI Souad, HIMMI Oumnia.

Nom et Prénom du co-directeur des travaux de recherche : GHAMIZI Mohamed.

Laboratoires où les travaux ont été réalisés :

- 2017-2019 : Laboratoires « Génie Biologique » et « Biotechnologie et Valorisation des Ressources Phyto-génétiques », Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal, Maroc.
- 01/11/2019- 30/10/2020 : Muséum d'Histoires Naturelles, Faculté des Sciences, Semlalia, Marrakech, Maroc.

Début des travaux de recherche : janvier 2017

Rapporteurs :

- ✓ Mohamed ARAHOU, Institut Scientifique, Université Mohamed V, Rabat
- ✓ Abdelaaziz BENHOUSSA, Faculté des Sciences, Université Mohamed V, Rabat
- ✓ Aaziz OUATMANE, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal

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

Publications :

- **Abou-Elaaz F.Z., Outourakht A., Bouhout S., Himmi O., Guernaoui S., 2019.** Thirty years of cutaneous leishmaniasis in Tadla-Azilal focus, Morocco. *Parasite Epidemiology and Control*, 3 e00091, **IF: 2.59, Q2**

- **Abou-Elaaz F.Z., SERENO D., Himmi O., GHAMIZI M. & Guernaoui S., 2023.** Descriptive and Geometric Morphometry of the Wings of *Phlebotomus sergenti* Populations in Central Morocco". *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 17, 1, 15p.

Communications Internationales:

- **Abou-elaaz F.Z., Bouhout S., Benka E., Bahi L., Himmi O., Riyad M., Sereno D., Maaroufi A., Guernaoui S., 2017.** Trente ans de leishmaniose cutanée dans le foyer de Tadla-

Azilal, Maroc, Etude rétrospective et analyse du risque. Marseille les 4, 5 et 6 October 2017 à l'hôpital de la Timone, Marseille, France.

- **Abou-elaaz F.Z., Bouhout S., Benka E., Bahi L., Himmi O., Riyad M., Sereno D., Maaroufi A., Guernaoui S., 2017.** Trente ans de leishmaniose cutanée dans le foyer de Tadla-Azilal, Maroc, Étude rétrospective et analyse du risque. Congrès FSP/SFMM, Société Française et Parasitologie et Société Française de Mycologie Médicale. 29 au 30 Mars 2017. Toulouse, France

Travaux en cours de valorisation :

- **Abou-Elaaz *et al.*** (En préparation) : Space time variation in genitalia *Phlebotomus sergenti* species complex in Azilal focus of cutaneous leishmaniasis.

- **Abou-Elaaz *et al.*** (En préparation): Sand flies bionomics and repercussion on *Leishmania* transmission.

Projets :

- Approche intégrée pour la conservation de la biodiversité aquatique menacée du bassin de Sehb El Majnoute (Maroc).

Activités pédagogiques :

- Participation aux travaux pratiques d'écologie générale à la Faculté Polydisciplinaire – Béni Mellal
- Participation aux travaux pratiques de la biologie cellulaire à la Faculté des Sciences et Techniques – Béni Mellal
- Participation aux travaux pratiques de Notions et Techniques de base en microbiologie à la Faculté des Sciences et Techniques – Béni Mellal
- Participation aux travaux pratiques de faunistique à la Faculté Polydisciplinaire – Béni Mellal

Stages :

- Stage en Bio-Informatique à L'Institut de Recherche pour le Développement de Montpellier – France
- Stage au sein du laboratoire de Génie Biologique à la Faculté des Sciences et Techniques – Béni Mellal
- Stage au sein du Muséum des Histoires Naturelles à la Faculté des Sciences – Marrakech.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Forme du parasite <i>Leishmania</i> chez les phlébotomes (A: forme amastigote ; B: forme promastigote)..5	5
Figure 2. Cycle de transmission des leishmanioses par la piqûre d'une femelle de phlébotome infectée.....6	6
Figure 3. Répartition mondiale des leishmanioses (A) cutanée et (B) viscérale dans le monde.9	9
Figure 4. Phlébotome femelle gorgée (Originale).11	11
Figure 5. Morphologie du phlébotome adulte. (d'après Abonnenc, 1972; Léger & Depaquit, 2001).....14	14
Figure 6. Cycle évolutif d'un phlébotome (Chavy, 2019).16	16
Figure 7. Carte de la région de Béni Mellal –Khénifra (MI, 2015).28	28
Figure 8. Diagrammes ombrothermiques établis pour certaines stations de la région étudiée30	30
Figure 9. Stations d'échantillonnage dans la région de Béni Mellal-Khénifra33	33
Figure 10. Biotopes de capture dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra38	38
Figure 11. Dissection et montage des spécimens.40	40
Figure 12. Mesures effectuées sur le génitalia de <i>P. sergenti</i> (G : x400).44	44
Figure 13. Localisation des 17 points de repère de l'aile droite de <i>P. sergenti</i> collecté dans le foyer d'Azilal. ..45	45
Figure 14. Répartition des cas de leishmaniose cutanée chez les femmes et les hommes dans le foyer de Tadla-Azilal entre 2009-2015.52	52
Figure 15. Répartition de la leishmaniose cutanée selon l'âge dans la région de Tadla-Azilal de 2009 à 2015. .53	53
Figure 16. Boîtes à moustaches représentant la répartition d'âge des cas de la leishmaniose cutanée chez les deux sexes dans les provinces de 2009 à 2015.....54	54
Figure 17. Boîtes à moustaches représentant la répartition d'âge des cas de la leishmaniose cutanée chez les deux sexes dans les provinces de 2009 à 2015.....55	55
Figure 18. Répartition de la leishmaniose cutanée entre 2009 et 2015 selon les provinces de la région de Tadla-Azilal.56	56
Figure 19. Répartition des cas de la leishmaniose cutanée dans la région de Tadla-Azilal.....59	59
Figure 20. Nombre annuelle moyenne de cas de leishmaniose cutanée dans les différentes altitudes dans la région de Tadla-Azilal de 2009 à 2015.60	60
Figure 21. Mois de diagnostic des cas de LC à différentes altitudes dans le foyer de Tadla-Azilal entre 2009 et 2015.61	61
Figure 22. Genitalia mâle de <i>Phlebotomus papatasi</i> (G: x400).....65	65
Figure 23. Génitalia mâle de <i>Phlebotomus perniciosus</i> (G : x400).67	67
Figure 24. Génitalia mâle de <i>Phlebotomus longicuspis</i> (G : x400).69	69
Figure 25. Génitalia mâle de <i>Phlebotomus langeroni</i> (G : x400).70	70
Figure 26. Génitalia mâle de <i>Phlebotomus alexandri</i> (G : x400).72	72
Figure 27. Génitalia mâle de <i>Phlebotomus sergenti</i> (G : x400).74	74
Figure 28. Génitalia mâle de <i>Sergentomyia minuta</i> (G : x400).76	76
Figure 29. Génitalia mâle de <i>Sergentomyia fallax</i> (G : x400).77	77
Figure 30. Génitalia mâle de <i>Sergentomyia antennata</i> (G : x400).78	78
Figure 31. Génitalia mâle de <i>Sergentomyia dreyfussi</i> (G : x400).....79	79
Figure 32. Distribution de <i>P. papatasi</i> , <i>P. sergenti</i> et <i>P. alexandri</i> dans les stations prospectées.82	82
Figure 33. Distribution de <i>P. perniciosus</i> , <i>P. longicuspis</i> , <i>P. langeroni</i> et <i>P. mariae</i> dans les stations prospectées.83	83
Figure 34. Distribution de <i>S. dreyfussi</i> , <i>S. fallax</i> , <i>S. minuta</i> et <i>S. antennata</i> dans les stations prospectées.84	84
Figure 35. Abondance relative moyenne de <i>P. sergenti</i> , <i>P. perniciosus</i> et <i>P. longicuspis</i> dans les habitats domestique, péri-domestique et sauvage.90	90
Figure 36. Saisonnalité du complexe <i>P. perniciosus</i> dans les stations de la région de Béni Mellal-Khénifra de mai à octobre 2017.92	92
Figure 37. Saisonnalité de <i>P. sergenti</i> dans les stations de la région de Béni Mellal-Khénifra de mai à octobre 2017.93	93
Figure 38. Diagrammes ombrothermiques et saisonnalité de <i>P. sergenti</i> , <i>P. perniciosus</i> et <i>P. longicuspis</i> à Bzou (A), Afoufer (B), Foum Jamaa(C).94	94
Figure 39. Distribution des stations en catégories par les données de la faune phlébotomienne sur le plan factoriel F1-F2 de l'analyse factorielle des correspondances espèce/station.96	96

Figure 40. Distribution des densités des espèces sur le plan factoriel F1-F2 de l'analyse factorielle des correspondances.	96
Figure 41. Distributions de caractères morphométriques du style de <i>P. sergenti</i> collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.....	102
Figure 42. Distributions de caractères morphométriques du coxite de <i>P. sergenti</i> collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.....	103
Figure 43. Distributions de caractères morphométriques du lobe basal de <i>P. sergenti</i> collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.....	104
Figure 44. Distributions de caractères morphométriques de la valve de <i>P. sergenti</i> collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.....	105
Figure 45. Distributions de caractères morphométriques du filament et de la pompe génitaux de <i>P. sergenti</i> collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.....	106
Figure 46. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du style de <i>P. sergenti</i> collecté dans différentes stations du foyer d'Azilal, Maroc	108
Figure 47. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du coxite de <i>P. sergenti</i> collecté dans différentes stations du foyer d'Azilal, Maroc.	110
Figure 48. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du lobe basale de <i>P. sergenti</i> collecté dans différentes stations du foyer d'Azilal, Maroc	112
Figure 49. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques des valves de <i>P. sergenti</i> collecté dans différentes stations du foyer d'Azilal, Maroc.	114
Figure 50. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du filament et de la pompe génitaux de <i>P. sergenti</i> collecté dans différentes stations du foyer d'Azilal, Maroc.....	116
Figure 51. Caractéristiques de l'analyse en composante principale : (A) plan factoriel 1 et 2 regroupant 49,92 % de l'inertie totale (B) Analyse canonique de <i>P. sergenti</i> collectée dans le focus d'Azilal.	117
Figure 52. Distribution de la longueur du coxite de <i>P. sergenti</i> en fonction des dates de collecte dans le foyer d'Azilal, Maroc.....	119
Figure 53. Distributions de la longueur, la largeur et de la taille de centroïde des ailes mâles droites et gauches de <i>P. sergenti</i> capturés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.	123
Figure 54. Boîtes à moustaches représentant la longueur, largeur et la taille de centroïde des ailes mâles droites et gauches de <i>P. sergenti</i> dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.....	125
Figure 55. Distributions des distances α , β , δ , ε , θ , π et γ des ailes droites et gauches des mâles de <i>P. sergenti</i> capturés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.	126
Figure 56. Boîtes à moustaches représentant les distances α , β , δ , ε , θ , π et γ des ailes droites et gauches des mâles de <i>P. sergenti</i> dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.	128
Figure 57. Boîtes à moustaches représentant les longueurs, largeurs et les tailles de centroïde des ailes droites des mâles de <i>P. sergenti</i> dans chaque station de collecte dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.	129
Figure 58. Boîtes à moustaches représentant les distances α , β , δ , ε , θ , π et γ des ailes droites des mâles de <i>P. sergenti</i> dans chaque station de collecte dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.	130
Figure 59. Analyse canonique de la variation de la taille (A) (92,57% de l'inertie totale) et de la forme (B) (63,08% de l'inertie totale) des ailes de <i>P. sergenti</i> en fonction de l'origine géographique.	132
Figure 60. Arbre de classifications hiérarchiques à liaison unique selon (A) la taille et (B) la forme des ailes droites des mâles de <i>P. sergenti</i> capturés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.....	133
Figure 61. Superposition des configurations moyennes des ailes mâles droites de points de repère de <i>P. sergenti</i> capturés à Afouer (A), Tiski (B), El Kbab (C), Bzou (D), Fom Jamaa (E) et dans les autres stations (F) de la région d'étude.	134

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Genres des vecteurs et espèces de <i>Leishmania</i> dans l’Ancien et le Nouveau monde.....	10
Tableau 2. Vecteurs prouvés et suspectés des leishmanioses dans l’Ancien Monde	20
Tableau 3. Espèces du sous genre <i>Paraphlebotomus</i> responsables de la transmission de la Leishmanie.	22
Tableau 4. Pluviométrie annuelle (mm) à Béni Mellal et Kasba-Tadla pour la période 2005/2012. 30	
Tableau 5. Base de données détaillée des cas de leishmaniose cutanée dans la région de Tadla-Azilal en 2009.....	32
Tableau 6. Caractéristiques des stations dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.	36
Tableau 7. Répartition des cas de leishmaniose cutanée selon les localités entre 2009 et 2015 dans la région de Tadla-Azilal	58
Tableau 8. Inventaire des espèces phlébotomiennes collectées dans la région de Béni Mellal-Khénifra	63
Tableau 9. Caractéristiques générales de la faune phlébotomienne de la région étudiée au centre du Maroc.	81
Tableau 10. Effectif, abondance relative et densité de la faune phlébotomienne dans chaque station de la zone étudiée au centre du Maroc.....	86
Tableau 11. Indice de diversité Shannon-Weaver (H'), équitabilité (E) et richesse spécifique (S) de la faune phlébotomienne dans la région étudiée.	87
Tableau 12. Effectif, abondance relative et densité des espèces dans chaque station de collecte dans la région étudiée.	89
Tableau 13. Détails de la morphométrie du style de <i>P. sergenti</i> dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d’Azilal, Maroc.....	107
Tableau 14. Détails de la morphométrie du coxite de <i>P. sergenti</i> dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d’Azilal, Maroc.....	109
Tableau 15. Détails de la morphométrie du lobe basal de <i>P. sergenti</i> dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d’Azilal, Maroc.....	111
Tableau 16. Détails de la morphométrie des valves de <i>P. sergenti</i> dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d’Azilal, Maroc.....	113
Tableau 17. Détails de la morphométrie du filament et de la pompe génitaux de <i>P. sergenti</i> dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d’Azilal, Maroc.	115
Tableau 18. Détails de la morphométrie de la longueur du coxite de <i>P. sergenti</i> dans les différentes dates de collecte dans le foyer d’Azilal, Maroc.	118
Tableau 19. Comparaison des caractères morphométriques de <i>P. sergenti</i> entre l’Espagne, Pakistan, Maroc, Algérie et les sous populations du foyer d’Azilal.....	121
Tableau 20. Morphométrie des ailes de <i>P. sergenti</i> collectés dans la région de Béni Mellal-Khénifra.	124
Tableau 21. Caractéristiques numériques des distances α , β , δ , ε , θ , π et γ des ailes mâles (droites et gauches) et femelles droites de <i>P. sergenti</i> collectés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra	127

Table des matières

DEDICACES.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
RÉSUME.....	iv
AVANT PROPOS.....	v
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
INTRODUCTION.....	1
I. LEISHMANIOSES.....	4
1. Généralités.....	4
2. Parasite Leishmania.....	4
2.1 Taxonomie.....	4
2.2 Morphologie et cycle de transmission.....	4
2.3 Réservoirs.....	6
3. Classification et distribution géographique des leishmanioses.....	7
4. Co-infection Leishmania-virus de l'immunodéficience humaine (VIH).....	10
II. PHLÉBOTOMES.....	11
1. Généralités et rôle en santé publique.....	11
2. Taxonomie.....	12
3. Morphologie.....	12
4. Bio-écologie des phlébotomes.....	14
5. Ecologie et comportement.....	16
5.1 Habitat.....	16
5.2 Préférences trophiques.....	17
5.3 Locomotion et dispersion.....	18
5.4 Activité.....	18
6. Importance médicale des phlébotomes.....	19
7. Phlébotomes vecteurs de leishmanioses.....	19
8. Paraphlebotomus.....	21
III. LUTTE CONTRE LES LEISHMANIOSES.....	23
1. Traitement.....	23
2. Lutte anti-vectorielle.....	23
IV. PHLÉBOTOMES ET LEISHMANIOSES AU MAROC.....	24
1. Phlébotomes du Maroc.....	24
2. Leishmanioses au Maroc.....	24

2.1 LC à <i>L. major</i>	25
2.2 LC à <i>L. tropica</i>	25
2.3 LC à <i>L. infantum</i>	26
2.4 LV à <i>L. infantum</i>	26
CHAPITRE II: MILIEU, MATERIEL ET METHODES	28
I. MILIEU	28
1. Localisation.....	28
2. Caractéristiques générales.....	28
2.1 Géographie et géologie.....	29
2.2 Climatologie.....	29
2.3 Végétation.....	30
2.4 Population humaine.....	31
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES	31
1. Etudes épidémiologiques.....	31
2. Etudes entomologiques.....	32
2.1 Sur le terrain.....	32
2.2 Au laboratoire.....	39
2.3 Analyses des données entomologiques.....	40
3. Etude morphométrique des génitalia de <i>P. sergenti</i>	42
4. Etude géo-morphométrique des ailes de <i>P. sergenti</i>	44
4.1. Dissection des ailes.....	44
4.2.Préparation des ailes.....	44
4.3. Numérisation-Points de repère.....	45
4.4. Distances mesurées.....	45
III. ANALYSES BIO-STATISTIQUES	46
1. Analyses uni-variées.....	46
1.1. Paramètres de position.....	46
1.2. Paramètres de dispersion.....	46
2. Analyses bi-variées.....	47
2.1 Analyse de deux variables quantitatives.....	47
2.2 Analyse de deux variables qualitatives.....	47
2.3 Analyse d'une variable quantitative et une qualitative.....	47
3. Analyses multi-variées.....	48
3.1 Analyse en composantes principales (ACP).....	48
3.2 Analyse factorielle des correspondances (AFC).....	48
IV. ANALYSES GÉO-MORPHOMÉTRIQUES	49

1. Classification hiérarchique à liaison unique des ailes.....	49
2. Analyse superposition Procustes ou Procuste Généralisée	50
RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	51
CHAPITRE III: SITUATION ECO-EPIDEMIOLOGIQUE DE LA LEISHMANIOSE CUTANEE DANS LE FOYER DE TADLA-AZILAL.....	50
INTRODUCTION	51
I. FACTEURS DE RISQUE POPULATIONNEL.....	51
1. Sexe.....	52
2. Age.....	52
3. Structure de l'âge en fonction du sexe	53
4. Evolution de la structure d'âge en fonction des années	54
II. FACTEURS DE RISQUE SPATIAL.....	55
1. Les provinces à risques	56
2. Localités à risque	56
3. Dynamique spatiale de la maladie en fonction des années	56
4. Répartition de la maladie en fonction de l'altitude	60
III. FACTEURS DE RISQUE TEMPOREL	60
DISCUSSION	61
CHAPITRE IV	63
INVENTAIRE, DESCRIPTION ET INTERET MEDICAL DES ESPECES	63
I. GENRE <i>PHLEBOTOMUS</i> RONDANI ET BERTÉ, 1840	63
1. Sous genre <i>Phlebotomus</i> s.str.Rondani et Berté, 1840.....	64
1.1 <i>Phlebotomus papatasi</i> Scopoli, 1786.....	64
2. Sous genre <i>Larrousius</i> Nitzulescu, 1931.....	66
2.1 <i>Phlebotomus perniciosus</i> Newstead, 1911.....	66
2.2 <i>Phlebotomus longicuspis</i> Nitzulescu, 1930.....	68
2.3 <i>Phlebotomus langeroni</i> Nitzulescu,	70
2.4 <i>Phlebotomus mariae</i> Rioux, Croset, Léger et Bailly-Choumara, 1974	71
3. Sous genre <i>Paraphlebotomus</i> Theodor, 1948	71
3.1 <i>Phlebotomus alexandri</i> Sinton, 1928	72
3.2 <i>Phlebotomus sergenti</i> Parrot, 1917	73
II. GENRE <i>SERGENTOMYIA</i> FRANÇA ET PARROT, 1920	75
1. Sous genre <i>Sergentomyia</i> França et Parrot, 1920.....	75
1.1 <i>Sergentomyia minuta</i> parroti Adler & Theodor, 1927	75
1.2 <i>Sergentomyia fallax</i> Parrot, 1921	77
1.3 <i>Sergentomyia antennata</i> Newstead, 1912.....	78

2. Sous genre <i>Grassomyia</i>	79
2.1 <i>Sergentomyia dreyfussi</i> Parrot, 1933.....	79
CHAPITRE V: ECOLOGIE ET REPARTITION DES PHLEBOTOMES DANS LA REGION DE BENI MELLAL-KHENFRA	80
I. ANALYSE GÉNÉRALE	81
II. RÉPARTITION SPATIALE DES PHLÉBOTOMES	85
1. Répartition dans les stations.....	85
2. Répartition par espèce.....	87
3. Comportement des espèces vis-à-vis de l'anthropophilie.....	90
III. FLUCTUATIONS TEMPORELLES DES PHLÉBOTOMES DANS LA RÉGION ÉTUDIÉE.....	90
1. Activité saisonnière de <i>P. sergenti</i> , <i>P. perniciosus</i> et <i>P. longicuspis</i>	91
2. Impact du climat sur la saisonnalité des espèces	93
IV. TYPOLOGIE DE L'HABITAT DES PHLÉBOTOMES DANS LA RÉGION ÉTUDIÉE.....	94
DISCUSSION	97
CHAPITRE VI	100
ETUDE MORPHOMETRIQUE DES GENITALIA DE <i>P. SERGENTI</i>	100
INTRODUCTION	100
I. CARACTÉRISATION MORPHOMÉTRIQUE SPATIALE DES GÉNITALIA DE <i>P. SERGENTI</i>	100
1. distribution des caractères morphométriques.....	101
2. Caractérisation du morphotype de style.....	106
3. Caractérisation morphométrique du coxite	108
4. Caractérisation morphométrique du lobe basal.....	110
5. Caractérisation morphométrique des valves	112
6. Caractérisation morphométrique du filament et de la pompe génitaux	114
7. Morpho-typologie de <i>P. sergenti</i>	116
II. CARACTÉRISATION MORPHOMÉTRIQUE TEMPORELLE DE LA LONGUEUR DU COXITE ...	118
III. COMPARAISON AVEC LES RÉSULTATS ANTÉRIEURS	119
DISCUSSION	119
CHAPITRE VII: ETUDE GEO-MORPHOMETRIQUE DES AILES DE <i>P. SERGENTI</i>	122
INTRODUCTION	122
I. VARIATION DE LA TAILLE ET LA FORME DES AILES MÂLES DROITES ET GAUCHES DE <i>P. SERGENTI</i>	123
1. Caractérisation de la taille de l'aile de <i>P. sergenti</i>	123
2. Caractérisation de la forme des ailes de <i>P. sergenti</i> dans la zone étudiée	125
II. VARIATION SPATIALE DE LA TAILLE ET DE LA FORME DE L'AILE DE <i>P. SERGENTI</i> ...	129
III. MORPHO-TYPOLOGIE DE LA TAILLE ET DE LA FORME DES AILES DE <i>P. SERGENTI</i>	131
1. analyses en composantes principales de la taille et de la forme de <i>P. sergenti</i>	131

2. Classification hiérarchique selon la taille et la forme des spécimens de <i>P. sergenti</i>	132
3. Superposition des configurations	133
DISCUSSION	134
SYNTHESE ET CONCLUSION GENERALE	136
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	153
ANNEXES	177
ANNEXE I: MATRICE DE L'ACP DE GÉNITALIA DE <i>P. SERGENTI</i>	155
ANNEXE II: MATRICE DE L'ACP DE LA TAILLE ET LA FORME DES AILES DE <i>P. SERGENTI</i>	156
ANNEXE III: MATRICE DE L'AFC DES ESPÈCES PHLÉBOTOMIENNES.....	157
ANNEXE IV: MATRICE D'ANALYSE DE PROCUSTE GÉNÉRALISÉE	158
ANNEXE V: THIRTY YEARS OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN TADLA-AZILAL FOCUS, MOROCCO (PUBLICATION)	159
ANNEXE VI: DESCRIPTIVE AND GEOMETRIC MORPHOMETRY OF THE WINGS OF PHLEBOTOMUS SERGENTI POPULATIONS IN CENTRAL MOROCCO (PUBLICATION)	168

INTRODUCTION

Les phlébotomes (Diptera : Psychodidae) sont définis par des insectes très répandus dans le monde. Ils sont signalés par Sergent & Parrot pour la première fois (Dedet *et al.*, 1984). Les femelles sont hématophages et impliquées dans la transmission des parasites protozoaires appartenant au genre *Leishmania* causant les leishmanioses à l'Homme. Les conditions environnementales et climatiques expliquant la distribution de ces affections (Ashford, 2000).

Les leishmanioses constituent une maladie qui peut être classée en quatre formes : leishmaniose cutanée localisée (LCL) ; leishmaniose cutanée diffuse (LCD) ; leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) et leishmaniose viscérale (LV) (ANOFEL, 2014). La LC est la forme la plus répandue mais la plus grave est la LV, par le fait qu'elle est mortelle en absence de traitement (Institut de Pasteur, 2021). Au niveau mondial, 98 pays sont considérés comme étant des pays endémiques dont 71 sont endémique pour la LC et la LV (Ruiz-Postigo *et al.*, 2021).

Ces différentes formes des leishmanioses sont transmises par des phlébotomes spécifiques : dans l'Ancien Monde (Sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie), ces vecteurs sont du genre *Phlebotomus* et dans le Nouveau Monde (Amérique du nord, du sud et centrale), ils sont du genre *Lutzomyia* (Estevez, 2009; Dedet, 2009).

Dans le patrimoine Marocain, les deux formes endémiques des leishmanioses sont les LV et les LC. Les espèces des *Leishmania* responsables des LC sont *L. major*, *L. tropica* et *L. infantum* et *L. infantum* pour les LV. Depuis 1996, les leishmanioses sont des maladies à déclaration obligatoire (arrêté ministériel n° 683-95 du 31 mars 1995). Les LC causent un vrai problème majeur de la santé. Le vecteur prouvé responsable de la LC à *L. tropica* est *P. sergenti* (Al Zahrani *et al.*, 1988).

Le foyer de Béni Mellal-Khénifra connue comme étant un foyer endémique de LC. Elle représente le lieu où le premier cas a été notifié chez une fillette d'origine marocain, séjournée à Tanant (la province d'Azilal) et vivant en France en 1987 (Marty *et al.*, 1989). Depuis, les leishmanioses touchent des régions non endémiques ; ceci pourrait s'expliquer essentiellement par la dynamique spatiale du vecteur dans différentes zones.

En 1917, *P. sergenti* est décrit en Algérie par Parrot. Cette espèce est caractérisée par une large distribution qui regroupe les zones du sud de la Méditerranée, au nord de la Méditerranée (Portugal, Espagne, Silice), au Moyen-Orient, en Arabie, en Afghanistan, au Pakistan et dans les régions septentrionales de l'Inde. Cette grande répartition lui a donné un certain degré de variabilité intraspécifique (Depaquit *et al.*, 2002). En plus, sa répartition dépasse largement celle de son parasite (Depaquit *et al.*, 1998a).

La différenciation génétique de *P. sergenti* a révélé l'existence potentielle d'espèces cryptiques (Depaquit *et al.*, 2002 ; Yahia *et al.*, 2004 ; Barón *et al.*, 2008). Si les espèces cryptiques de *P. sergenti* sont prouvées, cela aurait certainement des implications très importantes en épidémiologie ainsi que dans les études expérimentales, comme le cas de *Lutzomyia longipalpis* (Warburg *et al.*, 1994). Pour cela, en plus des techniques biochimiques, les techniques morphométriques et/ou géo-morphométriques ont été utilisées dans les études liées à la différenciation des espèces et pour révéler le statut taxonomique de nombreux phlébotomes vecteurs (Depaquit *et al.*, 1998a ; Belen *et al.*, 2004 ; Dujardin, 2008 ; Prudhomme *et al.*, 2012 ; Oguz *et al.*, 2017).

Les techniques morphométriques géométriques ont été utilisées dans divers domaines tel que la biologie évolutive et la systématique (Corti *et al.*, 1998 ; Shipunov & Bateman, 2005). Elles sont utilisées pour résoudre des problèmes taxonomiques complexes (Matias *et al.*, 2001; Shipunov & Bateman, 2005), et pour distinguer des espèces qui n'ont pas été clairement séparées par des analyses morphologiques classiques (Prudhomme *et al.*, 2012 ; Oguz *et al.*, 2017).

Sur la base des données bibliographiques, il nous a paru important d'apporter des connaissances sur les leishmanioses dans le foyer classique de LC et d'étudier pour la première fois au Maroc le vecteur *P. sergenti* en se basant sur des approches morphométriques et géo-morphométriques. Pour ce raison, nous avons effectué une étude épidémiologique rétrospective de LC dans la région d'Azilal, une étude écologique pour inventorier les phlébotomes de la région de Béni Mellal-Khénifra et des études morphométrique et géo-morphométrique de *P. sergenti*.

Les objectifs de notre étude sont :

- Étude éco-épidémiologique rétrospective de la leishmaniose cutanée, afin de dresser les facteurs de risque dans le foyer d'étude
- Etudes entomologiques dans la région afin d'extraire les facteurs de risque ;
- Faire une typologie morphologique du complexe *P. sergenti*?

Ce travail est présenté en sept chapitres :

- Chapitre I : une synthèse de la littérature pour aborder quelques rappels sur les leishmanioses et les phlébotomes;
- Chapitre II : une présentation du foyer d'étude et du matériel et méthodes utilisés tout au long du travail ainsi que les outils qui ont permis l'analyse et le traitement des données, notamment pour les indices écologiques et les analyses statistiques ;
- Chapitre III : situation éco-épidémiologique de la leishmaniose cutanée dans le foyer de Tadla-Azilal entre 2009 et 2015;

- Chapitre IV : un inventaire, description et intérêt médical de chaque espèce phlébotomienne dans la région étudiée;
- Chapitre V : une étude écologique de la faune phlébotomienne du foyer étudié
- Chapitre VI : une analyse morphométrique des génitalia de *P. sergenti* ;
- Chapitre VII : une étude géo-morphométrique des ailes de *P. sergenti*.

Enfin, une discussion et une conclusion générale vont synthétiser le travail de recherche effectué.

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LEISHMANIOSES

1. GENERALITES

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires du système monocytes-macrophages, causée par des flagellés protozoaires appartenant des Kinetoplastida, du sous-ordre des *Trypanosomatina*, de la famille des *Trypanosomatidae* et du genre *Leishmania*. Elles sont transmises de vertébré à vertébré par la piqûre d'un phlébotome femelle infestante, appartenant au genre *Phlebotomus* et *Lutzomyia*.

Leishmania a été découvert par Sir William Leishman en 1900 à partir d'un frottis de rate d'un soldat mort de la fièvre dans un Dum-Dum en Inde. Le même parasite a été identifié dans une biopsie de rate par Charles Donovan, en 1903, sa découverte a été publiée. Le parasite fut nommé *Leishmania donovani* en leur honneur et la forme amastigote du parasite est communément appelée corps de Leishman-Donovan.

Chez l'homme, ces maladies correspondent à un groupe comprenant plusieurs formes: les leishmanioses viscérales (LV), les leishmanioses cutanées localisées (LCL) ou diffuses (LCD), et les leishmanioses cutanéomuqueuses (LCM). La LC représente la forme la plus commune, alors que la LV est la forme la plus grave, car elle touche les organes vitaux du corps et elle est mortelle en manque de traitement.

2. PARASITE LEISHMANIA

2.1 Taxonomie

Les leishmanies appartiennent au phylum Euglenozoa, sous-phylum Kinetoplasta, Classe *Trypanosomatidea*, Ordre *Trypanosomatida* et Famille *Trypanosomatidae*. Deux sous-genres du genre *Leishmania* existe, le sous genre *Leishmania* (se développe dans la partie intérieure de la région du pylore) dans l'ancien monde et le nouveau monde, responsable des formes viscérales et des formes cutanées et le sous genre *Viannia* dans le nouveau monde, responsable de leishmanioses dermatotropes.

Le genre *Leishmania* rassemble différentes espèces et sous genres d'importances vétérinaires et médicales avec une classification en évolution (Rioux *et al.*, 1986a). Actuellement, environ 30 espèces pathogènes du genre *Leishmania* sont recensées, dont près de 20 espèces infectent les mammifères (Ready, 2013), et beaucoup d'entre elles peuvent causer la leishmaniose humaine.

2.2 Morphologie et cycle de transmission

Il existe deux formes morphologiques de *Leishmania*; la forme promastigote du phlébotome, et la forme amastigote de l'hôte vertébré.

- **Forme amastigote** : la forme intracellulaire rencontrée chez l'Homme et les mammifères à l'intérieur des macrophages, des cellules de küpffer et à l'intérieur d'une vacuole

parasitophore. Elle parasite les cellules du système des phagocytes mononuclées. Elle a une forme arrondie de 2 à 6 μm , immobile, enveloppée d'une membrane bien déterminée, et un gros noyau (Killick-Kendrick, 1990). Ces parasites sont trouvées dans la peau, les nœuds lymphatiques, les cellules souches de la moelle osseuse et divers organes (le foie ou la rate) (Nozais, 1999) (Fig. 1A).

- **Forme promastigote** : Elle est fusiforme, la longueur et largeur sont entre 15 et 20 μm et de 1 jusqu'à 4 μm , respectivement. Elle est mobile grâce à un flagelle antérieur, libre dans le tube digestif de l'intestin du vecteur. La forme promastigote est remarquée seulement chez le vecteur et en culture in vitro à 26° C. Le noyau est approximativement central, le kinétoplaste (un réseau d'ADN circulaire à l'intérieur d'une grosse mitochondrie). Cette forme est présente dans le pharynx, l'intestin postérieur et quelquefois dans l'intestin moyen des phlébotomes infestés (Fig. 1B).

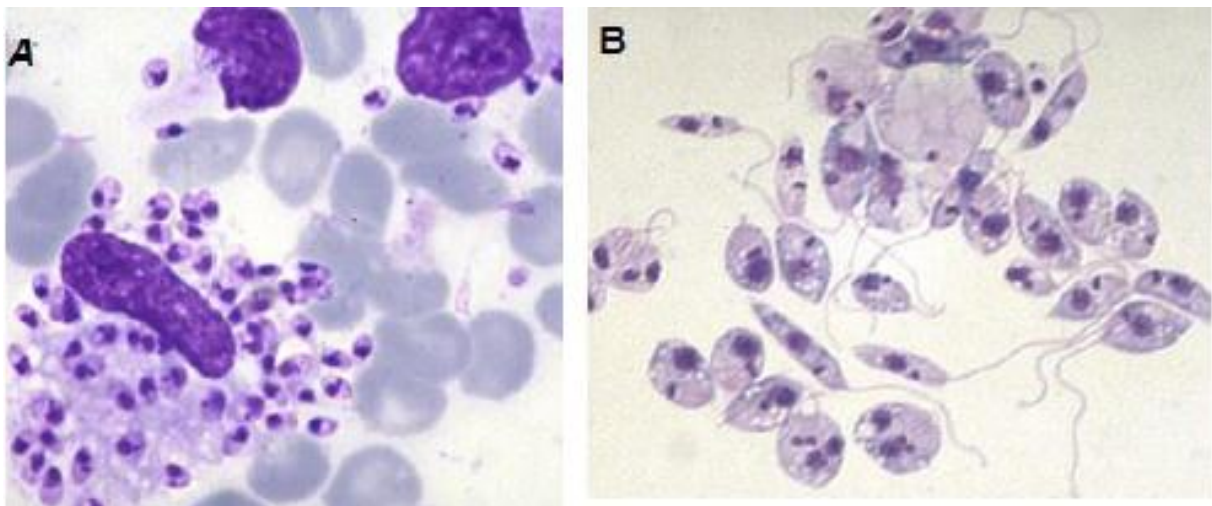


Figure 1. Forme du parasite *Leishmania* chez les phlébotomes (A: forme amastigote ; B: forme promastigote).

Le cycle de vie holométabole des phlébotomes comprend obligatoirement quatre étapes ; embryonnaire, larvaire, nymphal et imaginaire (Fig. 2). La femelle prend un repas sanguin pour obtenir les nutriments nécessaires à la maturation de ses œufs (Euzéby *et al.*, 1980).

Chaque cycle gonotrophique se divise en trois phases : (i) recherche de l'hôte afin d'effectuer un repas sanguin, (ii) digestion & maturation des œufs et (iii) l'oviposition. Ainsi, un cycle gonotrophique se déroule depuis le moment de l'absorption du sang jusqu'à l'oviposition.

Après la reproduction des œufs, la femelle refait un nouveau cycle et se met à la recherche de l'hôte. La copulation a lieu deux jours après l'émergence, avant ou après le repas sanguin ; elle a une durée entre 2 et 4 min et des fois plus longtemps. Entre 80 et 100 œufs sont pondus un par un sur différents

types de substrats dans des endroits mouillés qui forment les gîtes larvaires. Dans les conditions normales, la période entre la fin de la maturation des œufs et la ponte est inconnue (Abonnenc, 1972).

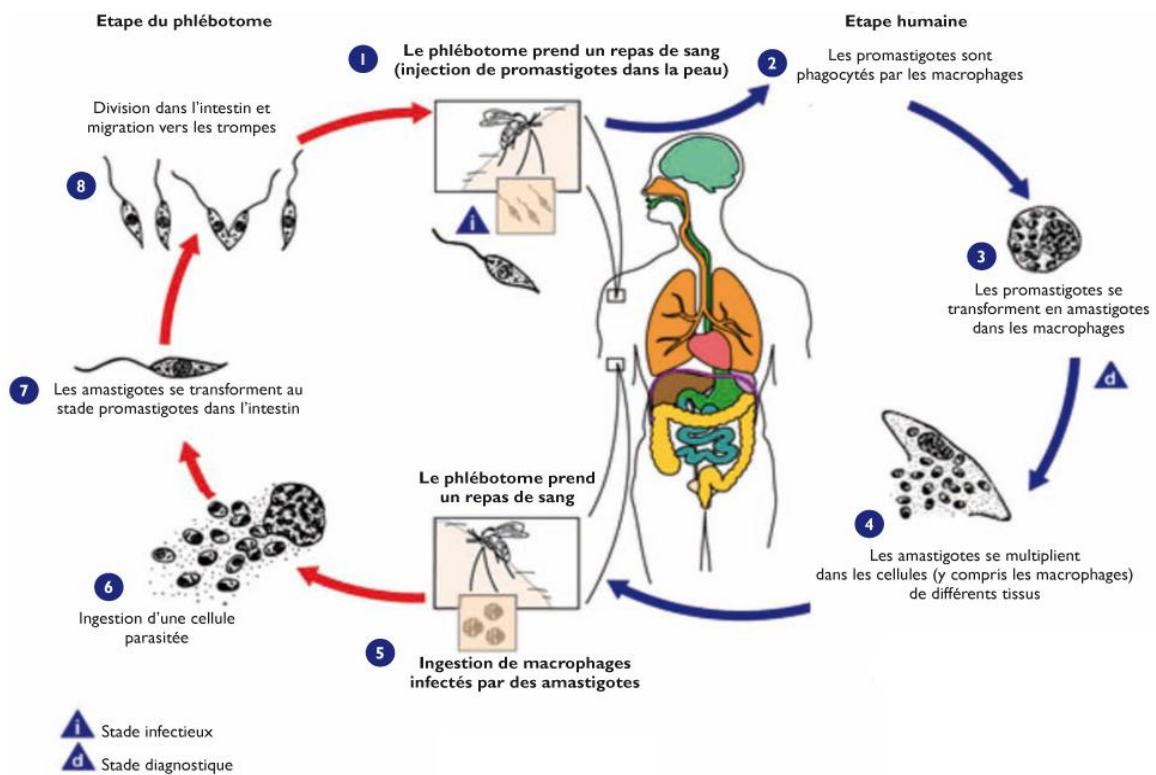


Figure 2. Cycle de transmission des leishmanioses par la piqûre d'une femelle infestée. (<http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis>)

1 Pendant un repas sanguin, le vecteur injecte les parasites sous forme promastigote dans les tissus 2 ceux-ci sont phagocytés par des cellules de la lignée microphagique de la peau 3 se transforment en amastigotes 4 s'ensuit une reproduction intracellulaire sous forme amastigote, des leishmanies conduisant à la rupture des macrophages. Les amastigotes ainsi libérés infestent les cellules voisines (5, 6) Phlébotomes sont infectés par l'ingestion de cellules infectées pendant les repas de sang 7 Dans l'intestin de phlébotome, les amastigotes se transforment en promastigotes 8 se multiplient et migrent vers les glandes salivaires d'où elle devient infestante, puis régurgitation de ces formes lors d'un prochain repas sanguin.

2.3 Réservoirs

L'activité des vecteurs aboutit à l'apparition saisonnière des leishmanioses et montre l'existence d'un réservoir du parasite *Leishmania* sur lequel l'insecte s'infeste avant de contaminer l'Homme sain. Si l'animal est une source d'infestation de phlébotomes dans l'environnement naturel et que le taux de détection des animaux infestés est élevé, il s'appelle « animal réservoir » (Ashford, 1996). On dit qu'un réservoir est bon quand il représente une infestation prolongée pour dessiner une vraie source d'infestation pour les phlébotomes (Lightburn *et al.*, 2002).

Certains mammifères sont responsables de l'entretien à long terme d'une population d'agents infectieux appelés hôtes réservoirs. En effet, ceux du *Leishmania* distinct en fonction des espèces du *Leishmania* et les régions. Ils peuvent être également des hôtes réservoirs accidentels (des mammifères dans la même zone peuvent être infestés) pour le parasite *Leishmania* qui peuvent être impliqués dans l'entretien des systèmes.

Deux grandes catégories de leishmanioses ont été décrites selon la source d'infestation humaine :

- Les leishmanioses zoonotiques dues à *L. major* : les animaux sauvages ou domestiques sont les hôtes réservoirs. L'Homme se contamine incidemment à partir des rongeurs sauvages ; Gebrilles, Meriones, *Psammomys*, et par l'intermédiaire de vecteurs très anthropophiles, *P. papatasi*.

- Les leishmanioses anthroponotiques dans laquelle l'Homme agit comme réservoir de parasite (contamination urbaine) ; dans cette condition, l'infestation humaine peut prendre un caractère endémo-épidémiologique. L'Homme est l'hôte réservoir dans la LC due à *L. tropica* de l'ancien Monde. L'intervention d'un réservoir animal n'est pas obligatoire pour la transmission à l'homme, à l'exception de certains foyers zoonotiques. Sinon, l'Homme reste donc l'unique réservoir du parasite.

- Les leishmanioses anthro-zoonotiques causées par *L. infantum*, et transmises à l'homme par l'intervention de vecteurs poly-hématophages appartenant au sous-genre *Larrousius* de l'ancien monde et *Lutzomyia longipalpis* du nouveau monde. D'autres réservoirs sauvages actifs dans des cycles selvatique à bas bruit, peuvent être impliqués dans le maintien du parasite.

Au Maroc, plusieurs espèces appartenant à différentes familles ont été rapportées dans des recherches (Echchakery *et al.* en 2015). Deux familles de rongeurs représentent une importance médicale : les Muridae et les Gebrillidae. Ces derniers sont représentés par deux genres incriminés dans la transmission de la leishmaniose :

- Genre *Meriones* avec trois espèces (*M. shawi*, *M. libycus* et *M. crassus*). *M. shawi* étant l'espèce la plus redoutable et la plus répandue au Maroc en particulier dans les zones présahariennes.

- Genre *Psammomys*, notamment l'espèce *P. obesus* qui est le réservoir de l'espèce *L. major* MON 25, très répandue au Maghreb et au Moyen Orient.

Au Maroc, l'infestation humaine par *L. major* est à partir du réservoir : *Meriones shawi*, dont l'infestation résistante toute la vie (1 à 3 ans). En 2017, la présence de *L. infantum* dans *M. musculus*, *R. rattus*, *R. novregicus* et *L. tropica* dans *M. musculus* a été détectée pour la première fois par l'application des analyses moléculaires (Echchakery *et al.*, 2017).

3. CLASSIFICATION ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DES LEISHMANIOSES

Afin de classer les leishmanioses, deux points ont été pris en compte : leurs manifestations cliniques et/ou leurs caractéristiques bioécologiques.

Les leishmanioses sont très communes (Fig. 3), connaissent une surface géographique circumterrestre et se répartissent sur trois continents dans l'ancien monde et le continent américain du nouveau Monde, (OMS, 2010).

Aujourd'hui, les leishmanioses touchent 98 pays. En 2020, elles sont responsables de plus de 208 000 nouveau cas de LC, et plus de 12 800 nouveaux cas de LV (Ruiz-Postigo *et al.*, 2021). Selon l'OMS, elles sont des maladies tropicales négligées.

En 2020, la région Méditerranéenne orientale et l'Algérie sont les points focaux éco-épidémiologique de la LC, puisqu'elles annoncent 79% de l'ensemble des cas. En plus, chacun de ces 7 pays (Afghanistan, Algérie, Brésil, Colombie, Irak, Pakistan et Syrie) enregistré plus que 6000 cas de LC.

Dans la même année, les régions les plus touchées par la LV sont la région africaine (34%), la zone de la Méditerranée orientale (29%), les régions des Amériques et de l'Asie du Sud-Est (16%, 18%, respectivement). Les trois focus éco-épidémiologiques pour la LV sont l'Afrique de l'Est; le sous-continent indien; et le Brésil. L'Éthiopie, l'Érythrée, la Kenya, le Brésil, l'Inde, le Soudan, l'Irak, le Népal, la Somalie, le Soudan du Sud, le Tchad et le Yémen, montrent 96% des cas de LV dans le monde.

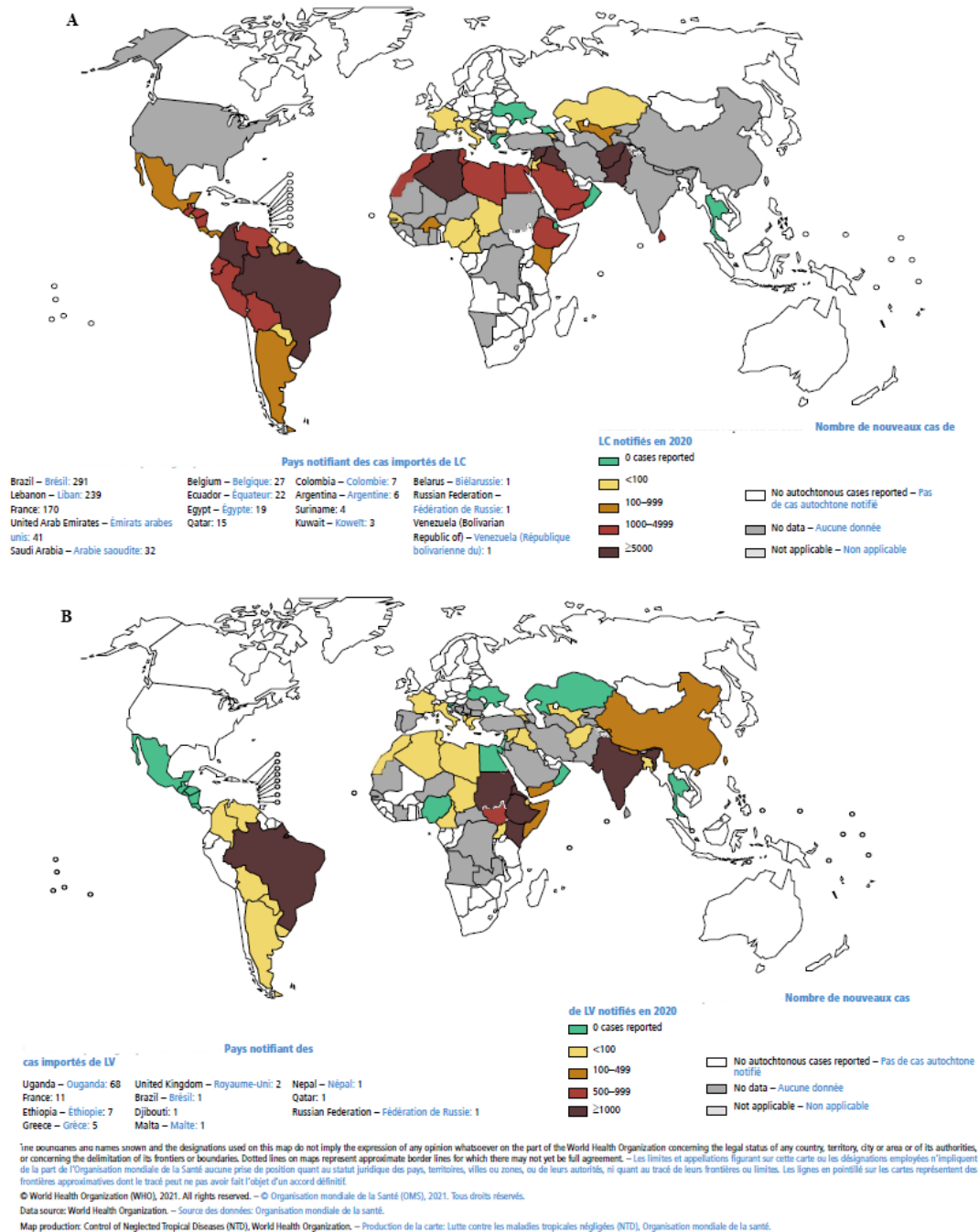


Figure 3. Répartition mondiale des leishmanioses (A) cutanée et (B) viscérale dans le monde. (Ruiz-Postigo *et al.*, 2021).

Les régions les plus infestées par la forme viscérale anthroponotique due à *L. donovani* sont le sous-continent indien et l’Afrique de l’Est (OMS, 2010). Alors qu’en Amérique du Sud et dans le pourtour méditerranéen, on trouve les espèces *L. infantum* ou *L. chagasi* qui cause la leishmaniose viscérale zoonotique.

Les différents types des leishmanioses sont causés par des espèces distinctes de parasites (Tab. 1), chacune étant associée à des hôtes donnés, mammifères réservoirs et phlébotomes vecteurs. Il y a une spécificité claire entre l’espèce de *Leishmania* et le vecteur d’un côté, et l’espèce de mammifère d’autre

côté. La coexistence de différents hôtes et parasites détermine la localisation géographique de la maladie, et le comportement et la distribution de ces hôtes déterminent les aspects écologiques du foyer naturel d'infection (Dedet, 2001).

Tableau 1. Genres des vecteurs et espèces de *Leishmania* dans l'Ancien et le Nouveau monde (Dedet, 2001).

	Leishmanioses de l'ancien monde	Leishmanioses du nouveau monde
Vecteur	Genre <i>Phlebotomus</i>	Genre <i>Lutzomyia</i>
Parasite	<p>Sous-genre <i>Leishmania</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>L. donovani</i> : LV, rarement LCL, PKDL et leishmaniose oro-nasale - <i>L. infantum</i> : LV, rarement LCL et leishmaniose oro-nasale - <i>L. major</i>, <i>L. tropica</i>, <i>L. killicki</i>, <i>L. arabica</i> : LCL - <i>L. aethiopica</i> : LCL, LCD - <i>L. siamensis</i> : LCL, LV 	<p>Sous-genre <i>Leishmania</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>L. chagasi</i> : LV, rarement LCL - <i>L. venezuelensis</i> : LCL - <i>L. mexicana</i>, <i>L. amazonensis</i> : LCL, LCD - <i>L. martiniquensis</i> : LCL <p>Sous-genre <i>Viannia</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>L. braziliensis</i> : LCL, LCM - <i>L. panamensis</i>, <i>L. guyanensis</i> : LCL, rarement LCM - <i>L. peruviana</i>, <i>L. naiffi</i>, <i>L. lainsoni</i>, <i>L. shawi</i>, <i>L. colombiensis</i> : LCL)

*LV: Leishmaniose Viscérale, LDPK: Leishmaniose Dermique Post Kala-azar, LCL: Leishmaniose Cutanée Localisée, LCM: Leishmaniose Cutanée Muqueuse, LCD: Leishmaniose Cutanée Diffuse.

4. CO-INFECTION LEISHMANIA-VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH)

La co-infection *Leishmania*/VIH est une affection très grave, fréquente contre laquelle il faut réagir rapidement et d'une façon urgente. Elle est le résultat du chevauchement croissant de la leishmaniose et le SIDA (Desjeux, 2001). Elle a été remarquée dans 42 pays (Ruiz-Postigo *et al.*, 2021). Ces deux infections conjuguées provoquent une double immunodéficience puisque le parasite *Leishmania* et le VIH détruisent les mêmes cellules. La LV est considérée comme un facteur majeur de mortalité chez les sujets co-infectés.

Au Maroc, concernant la co-infection LV/VIH, la zone de Souss-Massa apparaît en premier rang, puis la région de Marrakech-Safi, avec 24% et 18% de porteurs déclarés et enregistrés chez les services du Ministère de santé (2015), respectivement. En 2016, un cas de co-infection LC/VIH est déclaré dans le sud, près de la région de Souss-Massa dans lequel la LC à *L. major* est endémique (Ouadia *et al.*, 2016). En 2021, 4 cas détectés au nord et au sud-est (Jait *et al.*, 2021). Ce sont deux zones d'endémies de leishmaniose viscérale à *L. infantum*.

II. PHLEBOTOMES

1. GENERALITES ET ROLE EN SANTE PUBLIQUE

Les phlébotomes sont des Diptères Nématocères, de la famille des *Psychodidae* et la sous famille des *Phlebotominae*. La faune mondiale des phlébotomes consiste actuellement, en près de 700 espèces décrites (Killick-Kendrick, 1990). Elles sont très répandues dans toute la méditerranée, en Afrique et dans une grande partie du Moyen-Orient, notamment dans les régions tempérées et tropicales.

Ce sont des insectes holométaboles de petite taille, entre 1 et 3 mm de long, possédant un corps mince et allongé. Leur couleur va du jaune au noir, et leurs ailes sont velues. La tête forme un angle de 45° par rapport au corps, donnant à l'insecte une apparence de bosse (Fig. 4). Contrairement à tous les autres Diptères piqueurs, ils maintiennent leurs ailes relevées lorsqu'ils sont au repos. Les phlébotomes ont une activité nocturne et crépusculaire.

En plus des leishmanioses, plusieurs études effectuées dans le cadre d'enquête sur les maladies à transmission vectorielle, ont montré le rôle des phlébotomes dans la transmission des virus appartenant à des familles différentes ; *Phlebovirus*, *arbovirus* et *Vesiculovirus*.

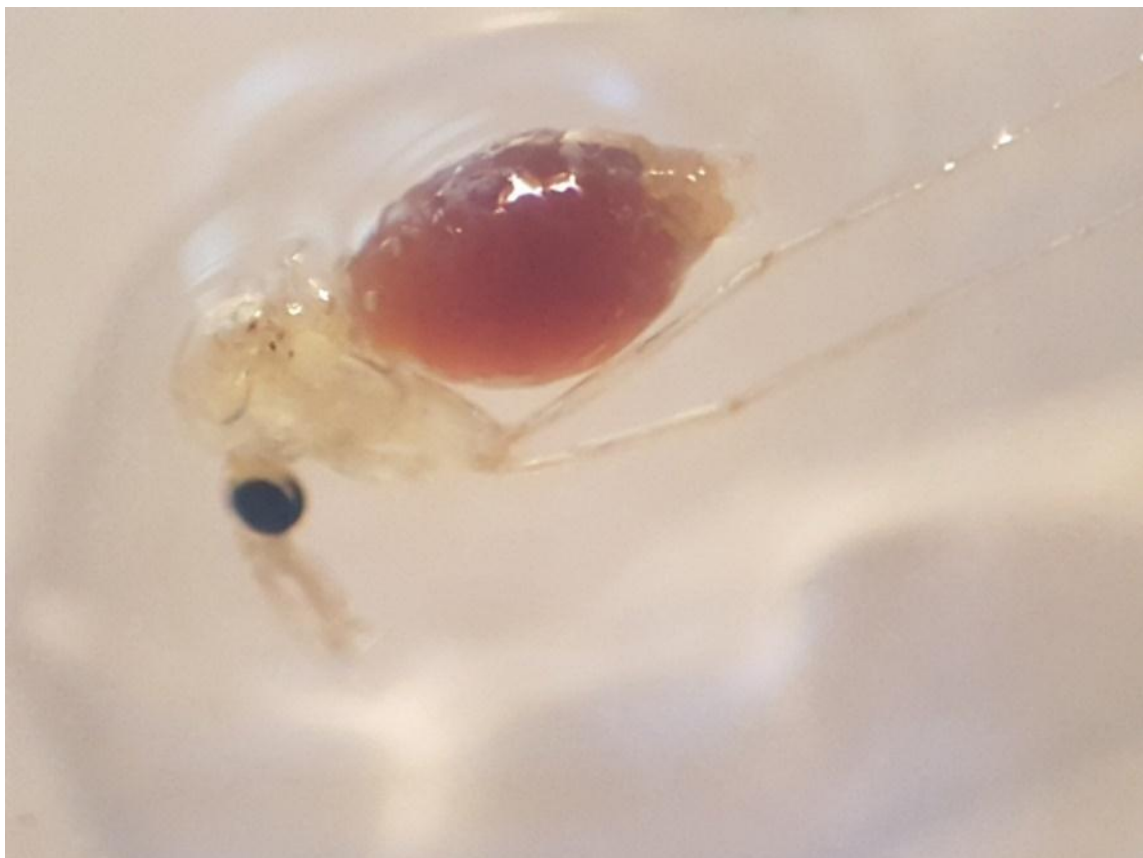


Figure 4. Phlébotome femelle gorgée (Originale).

2. TAXONOMIE

Les phlébotomes sont des Arthropodes appartenant aux Insectes, Diptera, Nématoda, *Psychodidae* (Bigot, 1945), et à la sous famille *Phlebotominae* (Depaquit *et al.*, 2008).

Leur classification n'a jamais acte l'unanimité parmi les spécialistes de la taxonomie car plusieurs systèmes de classification ont été proposés. En se basant sur la vision minimaliste, la sous famille des *Phlebotominae* comprend cinq sous-genres : *Phlebotomus*, et *Sergentomyia* dans l'ancien monde , *Lutzomyia*, *Brumptomyia* et *Warileya* avec un nouveau genre monospécifique *Chinius* (Leng, 1987) dans le nouveau monde. En 1991, Artemiev propose 24 genres en créant de nouveaux et en élevant certains sous-genres au rang de genre. Léger & Depaquit (1999) ont identifié 13 espèces sur la base des arguments morphologiques et biogéographiques.

Deux genres ; *Phlebotomus* et *Lutzomyia* dans l'ancien monde et le nouveau monde, respectivement, ont un intérêt médical. Dans l'ancien monde, le genre *Sergentomyia* comprenait des espèces qui peuvent piquer l'Homme et qui dans certains cas étaient responsables de la transmission des leishmanioses (Léger *et al.*, 1974).

3. MORPHOLOGIE

Pour reconnaître les phlébotomes adultes, le critère à prendre en compte, est une aile dressée, formant un angle de 45° avec l'abdomen au repos. Ces ailes sont couvertes de soies et quand ils viennent se gorger, ils se volent par petits sauts aux alentours de l'hôte avant de le piquer.

La tête (Fig. 5A) est constituée en grande partie d'une capsule chitineuse (épicrâne) avec des yeux composé de chaque côté. La zone frontale comporte deux antennes de 16 segments chacune, s'insérant à la région frontale. L'ensemble des pièces buccales forme une courte trompe. Seules les femelles ont des dents sur les mandibules. La tête est munie d'antennes, le proboscis est constitué d'une graine en six parties enveloppée dans le labium. Ces six parties sont : le labre épipharynx, l'hypopharynx, deux mandibules, deux mâchoires ou maxilles à la base desquelles se détachent les palpes maxillaires (Abonnenc, 1972).

Le thorax (Fig. 5B) est bien développé comme chez les autres diptères. Il est convexe et a 3 segments, tel que, le prothorax réduit, le mésothorax très développé, et le métathorax réduit dorsalement sur lesquels sont fixées ventralement trois paires de pattes articulées, relativement allongées, fines et couvertes de soies. Dorso-latéralement, il a des ailes et des balanciers ou haltères. Les ailes lancéolées déchiffrent sept nervures longitudinales et les nervures transverses, à côté de la base d'insertion.

L'abdomen est principalement cylindrique, se termine par un cône. Il est constitué de 10 segments dont le derniers sont transformés en segments génitaux. Les 7 premiers sont intangibles, chacun

portant une paire de cicatrices respiratoires. Le premier segment est très court avec une touffe de longues soies dressées sur son bord postérieur. Les six autres tergites présentent, soit des soies dressées comme ceux du premier tergite, soit des soies couchées, soit un mélange des deux. Les sternites sont moins développés que les tergites mais présentent également de fortes poils. Chez le mâle, l'armature génitale, génitalia ou terminalia (Fig. 5C) est constituée de trois paires d'extensions homologues : une paire de coxite sur lesquels s'articulent les styles ; une paire de pièces médianes, les paramères naissent à la base des coxites ; une paire d'élongations ventrales appelées lobes latéraux et enfin, de deux lames membraneuses, les lamelles sub-médianes entre lesquelles s'ouvre l'anus. Entre les paramères soudées à leur base de ces derniers, se trouve les fourreaux péniens protégeant deux filaments génitaux. Chez la femelle, l'appareil génital (Fig. 5D) interne se compose de trois organes pairs : deux ovaires ; deux glandes accessoires et deux spermathèques appariées, de taille et de forme différentes. Chacune des dernières formées d'une capsule chitineuse, de forme variée largement utilisée en systématique des femelles, suivie d'un conduit plus ou moins long, qui rejoint sa paire et s'ouvre dans l'atrium génital.

La morphologie des organes génitaux du mâle, des spermathèques et de l'armature buccale de la femelle varie et utilisée pour l'identification et la classification des espèces.

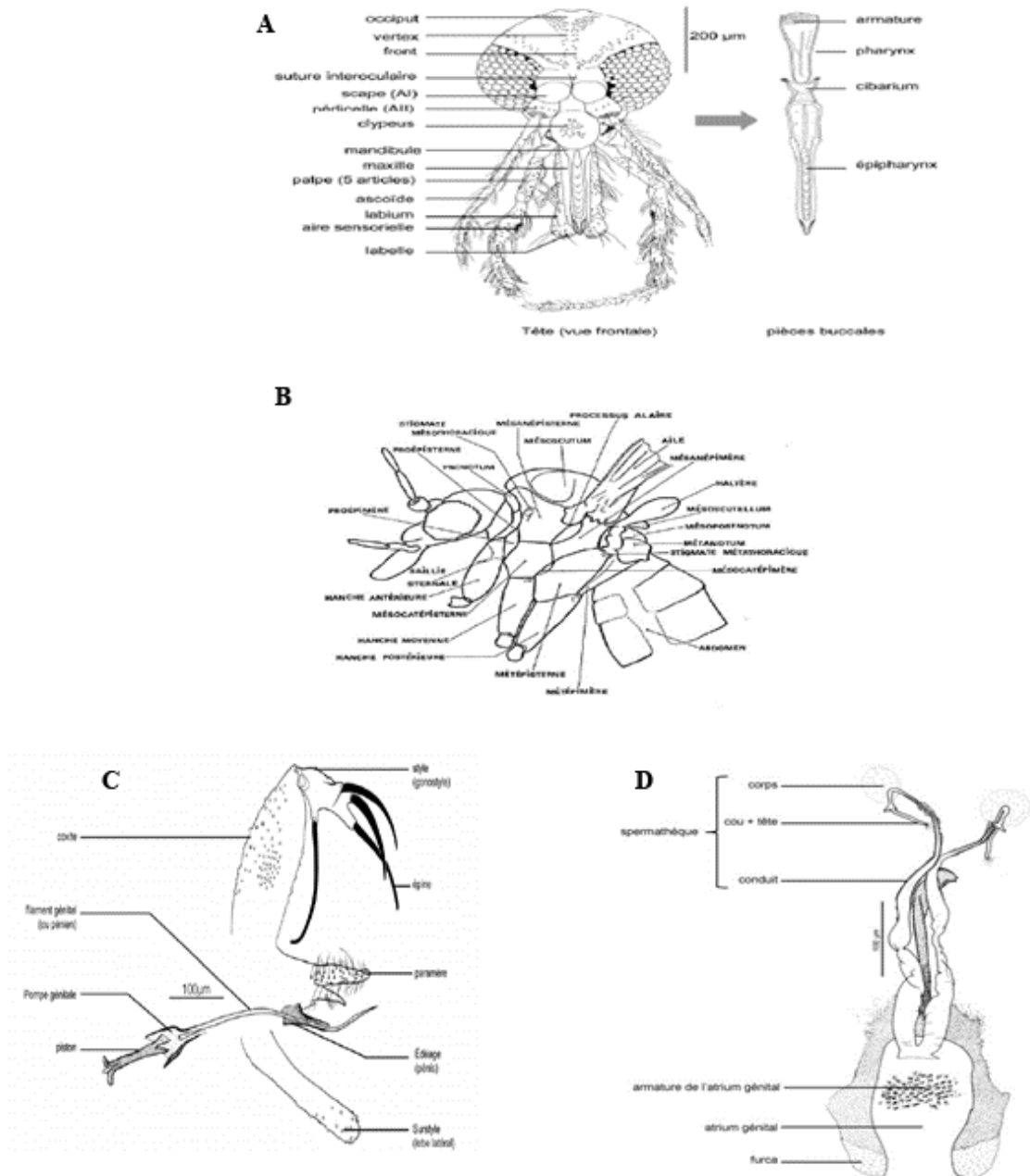


Figure 5. Morphologie du phlébotome adulte. (d'après Abonnenc, 1972; Léger & Depaquit, 2001).

4. BIO-ÉCOLOGIE DES PHLEBOTOMES

Les phlébotomes sont des insectes holométaboles qui subissent une métamorphose complète en passant par trois stades préalables: œuf, larve, nymphe et imago (Fig. 6).

- **Œuf** : seules les femelles sont hématophages. Elles piquent une variété d'hôtes pour obtenir les nutriments nécessaires à la formation des œufs. Le temps qui s'écoule entre l'ingestion du sang et la maturation des œufs dépend de l'espèce, la vitesse de digestion et de la température ambiante. Dans les colonies de laboratoire, il est de 4 à 8 jours (Killick-Kendrick, 1990). La ponte est induite

par la maturation des ovaires et la disponibilité des sites appropriés pour le développement des stades pré-imaginaux (Tesh & Guzman, 1996).

- **Développement larvaire et nymphal** : l'éclosion produit des larves qui passent par 4 stades larvaires avec trois mues, le quatrième donne naissance à une nymphe. Ces larves sont terrestres, sédentaires et rotifères. La larve du quatrième stade subit la nymphose et devient en nymphe, et enfin un adulte par une mue imaginale. La durée du développement est très variable et influencée par l'environnement. Les effets de la température et l'humidité sur la vie larvaire ont été étudiées par Theodor (1936). Les larves de *P. papatasi* meurent après une heure d'exposition à des températures de 40,5°C et 41°C. Les larves et les nymphes n'ont aucune protection contre la perte d'humidité et meurent de dessiccation si elles ne sont pas exposées à l'eau contenue dans l'air, même saturé.

A la fin de leur cycle de croissance, les larves du quatrième stade remontent à la surface, et cherchent un abri pour muer. La nymphose dure de 10 à 20 min. Après avoir effectué une nymphose par émergence lente de la nymphe par une ouverture longitudinale dans le thorax de la larve, une masse blanche jaunâtre d'environ 3 mm de long est formée

- **Emergence** : les adultes sortent de la pupa dans l'obscurité, après 7 à 10 jours. Les deux sexes peuvent être différenciés de l'aspect des organes génitaux externes. À la fin du stade nymphal, les mâles adultes émergent 24 à 48 heures avant les femelles et atteignent leur maturité sexuelle après 24 heures, lorsque les organes génitaux externes ont terminé une inversion de 180° (Lawyer & Perkins, 2000).

- **Diapause** : la diapause des œufs ou des larves peut être observée chez certaines espèces de phlébotomes afin de survivre à l'hiver. La diapause larvaire du 4^{ème} stade étant la plus fréquente (Ready, 2013).

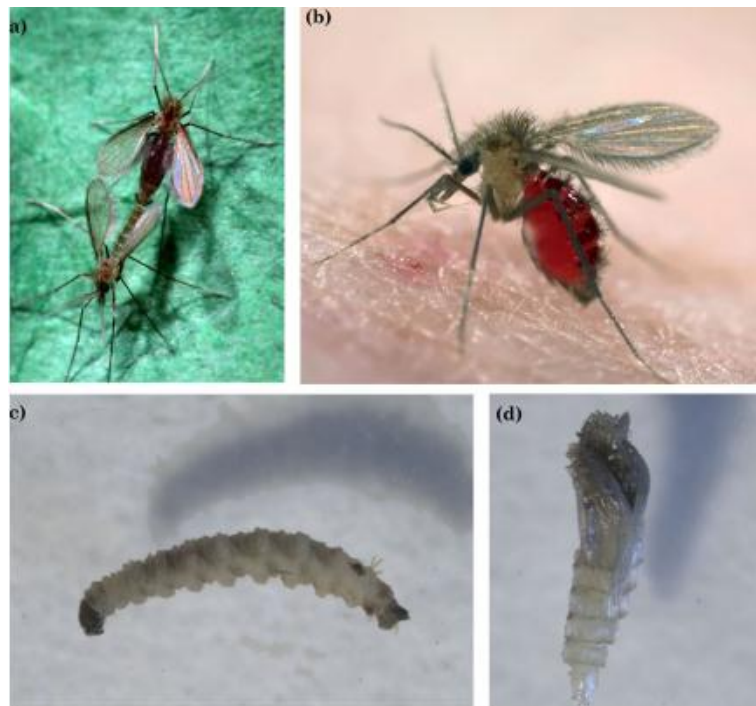


Figure 6. Cycle évolutif d'un phlébotome (Chavy, 2019).

5. ECOLOGIE ET COMPORTEMENT

5.1 Habitat

Durant le jour, les adultes se reposent dans des endroits sombres, suffisamment humides et à température constante tels que les crevasses des rochers, les terriers des rongeurs, des murs, des trous d'arbres et des abris d'animaux sauvages et domestiques qui sont des endroits calmes, sombres et humides etc... Ces gîtes de repos ne seront que temporaires car, pour l'oviposition, les femelles recherchent un nouvel environnement qui répond aux mêmes conditions que l'environnement dans lequel elles sont nées.

L'habitat des formes pré-imaginales des phlébotomes doit être étudié afin d'obtenir des informations sur leurs cycles de vie, la dynamique des populations et la composition physico-chimique des lieux de pontes. L'aperçue de ces formes dans l'endroit naturel est difficile et improductive. Des informations sur les habitats larvaires sont disponibles pour 15 des 29 espèces dans l'ancien Monde et 12 des 44 espèces du nouveau Monde. Ceci ne représente que 3% des espèces de phlébotomes connues (Boussa & Boumezzough, 2014).

Dans les pays du nouveau Monde à climat équatorial, les phlébotomes sont très abondants dans des conditions spécifiques où l'humidité et les températures élevées sont constantes, la matière organique en excès et une variété d'abris propice à la survie (Vasconcelos dos Santos *et al.* 2018).

Dans les environnements désertiques et semi-arides de l'ancien Monde, les phlébotomes vivent à proximité d'habitats larvaires appropriés contenant de la matière organique et de l'humidité (Blaustein *et al.* 2010 ; Müller *et al.* 2011).

La composition physico-chimique du sol joue une implication important dans la répartition de la faune phlébotomienne. En Inde, la détermination de l'aire de distribution des *P. argentipe* est basée sur le type du sol de la forêt (Lewis, 1971). *P. sergenti* préfère également un sol sableux (Boussa & Boumezzough, 2014).

Ces zones d'infestation qui rassemblent des facteurs biotiques et abiotiques requis par l'hôte et le vecteur, se produisent selon deux cycles de transmission (Vélez *et al.* 2017) :

- Cycle selvatique : l'infestation de l'être humain se produit quand il introduit en forêt et travaille à l'orée de forêt. Donc l'Homme est considéré comme un hôte casuel et non inclus dans le cycle de d'infestation ;

- Cycle rural et urbain : d'une façon indirecte, l'infestation se fait autour des maisons. Les animaux domestiques (chats, chiens) peuvent devenir des réservoirs pour l'Homme. L'être humain peut être le réservoir dans le cas de la LV.

5.2 Préférences trophiques

Les deux sexes de phlébotomes se nourrissent de fleurs et de jus de fruits et de miellat de pucerons. Ils peuvent pénétrer le parenchyme des feuilles pour sucer la sève. Le fructose est le principal sucre recherché (Léger & Depaquit, 1999).

Toutefois, selon l'espèce, les femelles ont généralement besoin d'un repas de sang par cycle trophique de reproduction. Elles piquent et se nourrissent à la fois d'humains et d'animaux. Les piqûres peuvent passer inaperçues car l'insecte est petit ou que l'hôte est endormi. En absence de la source du sang, certaines espèces peuvent produire une descendance de manière autogène (ovogenèse sans repas sanguin) (El Kammah, 1973 ; Srinivasan & Panicker, 1993). Les espèces du genre *Sergentomyia* ne vont pas loin pour la recherche de leur nourriture mais sucent le sang des hôtes des terriers ou des cavernes.

Des études ont indiqué l'aptitude des femelles du genre *Phlebotomus* à s'alimenter à partir d'Humain, de chiens, de chevaux, de bovins, d'ovins, de porcs, de rongeurs. Elles peuvent également prendre leur repas sanguin sur les oiseaux (Sharma & Singh, 2008). La sélection de l'hôte dépend essentiellement de la présence d'animaux à proximité du lieu d'habitat, la disponibilité de l'hôte l'emportant sur une préférence nutritionnelle réelle (Bongiorno *et al.*, 2003). C'est ce qu'on appelle le comportement opportuniste. De plus, si un dérangement est créé lors d'un repas sanguin, la femelle peut le compléter en transplantant le même individu ou un autre hôte (Dolmatova & Demina, 1971).

Dans leur recherche de l'hôte, les phlébotomes sont probablement guidés, en premier lieu par leur odorat, assez bien développé, les sites les plus propices aux piqûres sont, chez l'Homme, les parties du corps non couvertes (Lawyer & Perkins 2000) et chez les animaux, les zones les moins poilues (Léger

& Depaquit 1999). La recherche de l'hôte pour un repas sanguin est stimulée lorsque les conditions de climatiques et l'intensité lumineuse sont adéquates. La plupart des espèces anthropophiles se nourrissent pendant la soirée jusqu'à l'aube, lorsque les températures chutent et l'humidité relative augmente.

5.3 Locomotion et dispersion

Contrairement à d'autres Diptères tels que les moustiques, les phlébotomes ne volent pas très bien et des courtes distances de vol, habituellement inférieures à 1.5 km. Leur faible vitesse de vol les rend sensibles au vent et à la pluie (Colacicco-Mayhugh *et al.*, 2011), et ils ne peuvent se disperser que sur courtes distances, de 100 m à 1 km, en fonction de l'espèce et de l'environnement (Morrison *et al.*, 1993, Léger & Depaquit 1999, Casanova *et al.*, 2005, Sharma & Singh, 2008, Orshan *et al.*, 2016). Dans les conditions des endroits naturellement habitables, les phlébotomes n'ont pas besoin de voler sur de grandes distances. Toutefois, si les possibilités de se nourrir de sang dans les conditions naturelles sont limitées, les phlébotomes à jeun peuvent parcourir d'assez grandes distances. L'étude de la portée du vol des phlébotomes a une importance primordiale dans l'organisation des mesures de lutte contre les maladies qu'ils transmettent (Dolmatova & Demina, 1971).

5.4 Activité

a. Activité saisonnière

Les phlébotomes sont actifs toute l'année dans les pays tropicaux. Leur présence, leur densité, leur durée d'activité et leur disparition varient en fonction de la latitude, l'altitude, la saison et l'espèce (Abonnenc, 1972). La distribution saisonnière d'une même espèce est influencée par le climat. Dans les pays tempérés où les hivers sont sévères, les adultes disparaissent et seules les larves de 4^{ème} stade hivernante, assurent, grâce à une diapause hivernale la continuité du développement. Au Maroc, dans la région de Marrakech, l'activité des phlébotomes varie selon l'espèce et la saison (Guernaoui *et al.*, 2006b).

b. Activité journalière

L'activité des phlébotomes est nocturne ou crépusculaire. Elle commence tôt et s'arrête au lever du soleil. Il est probable que la baisse de la température et la levée de l'humidité lors du coucher du soleil soient les simulateurs de cette activité (Killick-Kendrick & Killick-Kendrick, 1999). L'activité des phlébotomes est affectée par plusieurs facteurs environnementaux. Les espèces peuvent changer l'heure de leur pic d'activité dans le même jour (Guernaoui *et al.*, 2006b). Ces changements sont dus à leurs préférences météorologiques, essentiellement la température et l'humidité relative (Guernaoui *et al.*, 2006b).

6. IMPORTANCE MEDICALE DES PHLEBOTOMES

Les phlébotomes sont connus comme vecteurs d'affections humaines, animales et même végétales. Le mâle ne joue aucun rôle vecteur dû à sa non-hématophagie, mais il peut transmettre à certaines plantes des agents parasitaires (Bounamous, 2010 ; Macfarlane et *al.*, 1969).

En plus, les phlébotomes sont des vecteurs de maladies étiologiquement distinctes notamment des arbovirus, la maladie de Carrion et les leishmanioses causées par des protozoaires appartenant au genre *Leishmania* (Frahtia-Benothmane, 2015).

7. PHLEBOTOMES VECTEURS DE LEISHMANIOSES

Les phlébotomes sont plus connus pour transmettre les parasites appartenant au genre *Leishmania*. Plusieurs espèces de *Leishmania* puissent être présentes dans la niche écologique d'une espèce de vecteur donnée, celle-ci ne transmettra pas forcément toutes les espèces de parasites au hasard. En effet, la relation vecteurs-parasites est spécifique (Killick-Kendrick, 1985). Parmi les cinq genres des *Phlebotominae*, seuls les *Phlebotomus* et *Lutzomyia* renferment des vecteurs prouvés ou suspectés de leishmaniose humaine (70 espèces dont 29 du genre *Phlebotomus* et 41 du genre *Lutzomyia*) (Killick-Kendrick, 1999). Le tableau 2 donne la liste des vecteurs probables ou prouvés des diverses formes cliniques de leishmaniose humaine dans l'Ancien monde.

Tableau 2. Vecteurs prouvés et suspectés des leishmanioses dans l’Ancien Monde (D’après Killick-Kendrick, 1999).

Formes cliniques de leishmaniose	Organisme causal	Vecteur prouvé ou probable	Lieux connus ou suspectés de transmission par la liste de vecteur
LV, LDPK, LON LV, LDPK LV	<i>L. donovani</i> s.l.	<i>P. orientalis</i> * <i>P. argentipes</i> * <i>P. martin</i> * <i>i</i> <i>P. celiae</i> * <i>P. alexandri</i> *	Ethiopia; Saudi Arabia; Yemen; Sudan Inde; Bangladesh; Népal Kenya; Ethiopie Kenya; Ethiopie Chine W. Méditerranéen
LV, LC	<i>L. infantum</i>	<i>P. ariasi</i> * <i>P. kandelakii</i> * <i>P. langeroni</i> * <i>P. longicuspis</i> <i>P. neglectus</i> * <i>P. perfiliewi</i> * <i>P. perniciosus</i> * <i>P. smirnovi</i> <i>P. tobbi</i> <i>P. transcausicus</i> <i>P. chinensis</i> <i>P. longiductus</i>	Egypte N. Afrique E. Méditerranéen Italie; Est Méditerranéen; Nord Afrique West et Centre Méditerranéen Chine; Kazakhstan Est Méditerranéen; Sicile Azerbaïdjan Chine Asie Centrale
LCA, LR	<i>L. tropica</i>	<i>P. sergenti</i> *	N. Afrique; Moyen Orient; Afghanistan,
LCZa**	<i>L. tropica</i>	<i>P. guggisbergi</i> * <i>P. aculeatus</i>	Iran; Transcaucasus; E. Méditerranée Kenya
LCZa**	<i>Leishmania sp</i>	Proche de <i>P. ariasi</i>	Kenya
LCZb**	<i>L. major</i>	<i>P. duboscqi</i> *	Namibia
LCZc & LCD	<i>L. major</i>	<i>P. papatasi</i> * <i>P. salehi</i> <i>P. caucasicus</i> <i>P. alexandri</i> <i>P. ansarii</i>	W. Afrique; Kenya; Ethiopie N. Afrique; Soudan; Asie Centrale; Proche et Moyen Orient; Subcontinent Indien NW de l’Inde; Iran Iran; Asie Centrale Turkménistan
LCZd & LCD**	<i>L. aethiopica</i>	<i>P. longipes</i> * <i>P. pedifer</i> *	Iran Ethiopie Kenya; Ethiopie

* Vecteur prouvé. LV: Leishmaniose Viscérale, LDPK: Leishmaniose Dermique Post Kala-azar, LON: Leishmaniose Oronasale, LC: Leishmaniose Cutanée, LCA: Leishmaniose Cutanée Anthroponotique, LR: Leishmaniose Récidivants, LCZ: Leishmaniose Cutanée Zoonotique, LCD: Leishmaniose Cutanée Diffuse.

** ; Les structures de foyers de la LCZ peuvent être caractérisées par leurs hôtes réservoirs : a- hyraxes sont les hôtes réservoirs possibles, b- les rongeurs Gerbillidés et Muridés sont les hôtes réservoirs, c- Seulement les Gerbilles et d- hydraxes sont les hôtes réservoirs.

8. PARAPHLEBOTOMUS

Le sous-genre *Paraphlebotomus* comprend 14 espèces (Tab. 3), dont seulement quatre espèces sont des vecteurs confirmés de *Leishmania spp* ; *P. alexandri*, *P. causicus*, *P. saevus* et *P. sergenti*. Cette dernière espèce est le plus important.

Jusqu'à ce jour, trois études moléculaires ont inclus suffisamment d'espèce de *Paraphlebotomus* dont le but est de fournir des hypothèses préliminaires sur sa systématique. La première étude moléculaire réalisée par Depaquit *et al.* (2000b) pour résoudre les relations phylogénétiques de *Paraphlebotomus*, en se basant sur les séquences d'ITS2, qui a été séquencée dans neuf espèces de sous genre concerné et deux espèces du sous genre *Phlebotomus*. En effet, *P. alexandri* apparaît comme le groupe frère de tous les autres *Paraphlebotomus*. Une deuxième étude est pour but de décrire la diversité des phlébotomes en utilisant le gène mitochondrial Cytochrome b (Cytb) pour cinq espèces de *Paraphlebotomus* (Krüger *et al.*, 2011). Ce travail a indiqué l'apparition du sous genre *Paraphlebotomus* comme un assemblage polyphylétique et *P. alexandri* regroupé avec une espèce de *Phlebotomus* (*P. papatasi*). La dernière étude effectuée a présenté des relations entre les espèces de *Paraphlebotomus* ont été mal résolues (Grace-Lema *et al.*, 2015).

Les *Paraphlebotomus* ont une répartition géographique limitée (Cunze *et al.*, 2019). *P. miereillae* au Kenya et dans le Sud de l'Ethiopie (Gebre-Michael & Balkew, 2002) ; *P. saevus* se présente dans la péninsule arabe et dans la Corne de l'Afrique ; *P. nuri* au Moyen-Orient et *P. gemetchi* est trouvée en Ethiopie (Gebre-Michael & Balkew, 2003). *P. chabaudi* et *P. riouxi* sont ibéro-maghrébins et *P. similis* se rencontre au nord-est du bassin méditerranéen et du centre de la Turquie (Kavur *et al.*, 2018), en Iran (Moin-Vaziri *et al.*, 2007) et en Ukraine (Koch *et al.*, 2017). *P. jacusieli* est répartie de l'Est de la Méditerranée à l'Est de l'Iran (Akhoundi *et al.*, 2013). *P. caucasicus*, *P. andrejevi* et *P. mongolensis* sont distribuées en Asie centrale et au Moyen-Orient, mais l'espèce *P. mongolensis* s'étend à la mer de la Chine orientale (Guan *et al.*, 2016). *P. kazeruni*, *P. alexandri*, et *P. sergenti* ont une large distribution. *P. sergenti* et *P. alexandri* s'étendent de l'Europe et l'Afrique du nord au Moyen-Orient et l'Extrême-Orient. *P. kazeruni* est une espèce relativement rare, identifiée en Iran, Turquie, le Sud d'Algérie et au Pakistan (Toprak & Ozer, 2005 ; Benellal *et al.*, 2013 ; Ali *et al.*, 2016)

Au Maroc, cinq espèces du sous genre *Paraphlebotomus* sont identifiées ; *P. alexandri* (Sinton, 1928) ; *P. chabaudi* (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970) ; *P. kazeruni* (Theodor et Mesghali, 1964), *P. riouxi* (Depaquit, Léger et Killick-Kendrick, 1998) et *P. sergenti* (Parrot, 1917).

P. alexandri est un vecteur de leishmaniose viscérale (Michelle *et al.*, 2010). Il a été remarqué au sud du pays (Bailly-Choumara *et al.*, 1971), dans le Haut-Atlas (Guernaoui *et al.*, 2006a), à Essaouira, Sefrou et Tinghir (Faraj *et al.*, 2013).

P. chabaudi n'a jamais été prouvé comme un vecteur de *Leishmanie*. Killick-Kendrick (1990), le suspecte de transmettre *L. tropica*. Cette espèce a été signalée pour la première fois par Rioux *et al.* (1975), puis par de nombreux auteurs dans différents région du Maroc (Guernaoui *et al.*, 2005a ; Kahime *et al.*, 2015 ; Zouirech *et al.*, 2018).

En 1986, *P. kazeruni* n'a aucun rôle dans la transmission de *Leishmanie*. Il a été trouvé au sud du Maroc (Rioux *et al.*, 1986e). En 2015, il a été signalé au centre et au sud-ouest mais avec un nombre de spécimens très faible (Kahime *et al.*, 2015).

Depaquit *et al.* (1998b) ont été signalés *P. riouxi* comme présente au Maroc en analysant des spécimens de *P. chabaudi* collecté au Maroc et en Algérie.

P. sergenti est le seul vecteur prouvé de *L. tropica* (Guilvard *et al.*, 1991). Cette espèce est commune (Bailly-Choumara *et al.*, 1971 ; Rioux *et al.*, 1984). Elle est récoltée à Chichaoua, Moulay Yacoub, Sefrou, Azilal, et plusieurs zones marocaine (Guernaoui *et al.*, 2005b ; Laouiti *et al.*, 2014 ; Talbi *et al.*, 2015 ; Zouirech *et al.*, 2013, 2015 ; Kahime *et al.*, 2015, El Miri, 2021).

Tableau 3. Espèces du sous genre *Paraphlebotomus* responsables de la transmission de la *Leishmanie*.

Espèces	Espèce <i>Leishmania</i> transmise (suspectée ou prouvée*)	Références
<i>P. alexandri</i>	<i>L. donovani</i> , <i>L. infantum</i> *	Guan <i>et al.</i> , 1986, 1991
<i>P. andrejevi</i>	<i>L. major</i>	Noronov <i>et al.</i> , 1987
<i>P. caucasicus</i>	<i>L. major</i> *	Yaghoobi-Ershadi <i>et al.</i> , 1994
<i>P. chabaudi</i>	/	/
<i>P. gemetchi</i>	/	/
<i>P. jacusieli</i>	/	/
<i>P. kazeruni</i>	<i>L. major</i>	Haouas <i>et al.</i> , 2017
<i>P. mireillae</i>	/	/
<i>P. mongolensis</i>	/	/
<i>P. nuri</i>	/	/
<i>P. riouxi</i>	/	/
<i>P. saevus</i>	<i>L. tropica</i> *	Gebre-Michael <i>et al.</i> , 2004
<i>P. sergenti</i>	<i>L. tropica</i> *, <i>L. aethiopica</i> *	Gebre-Michael <i>et al.</i> , 2004
<i>P. similis</i>	/	/

III. LUTTE CONTRE LES LEISHMANIOSES

Dans le but de lutter contre les leishmanioses, des stratégies ont été mises en place. Certaines stratégies ont comme objectif le traitement de personnes atteintes de leishmanioses et d'autres visent la lutte anti-vectorielle.

1. TRAITEMENT

Le traitement anti-leishmanien parfait doit être efficace, sûr, facile à administrer et abordable. Dans la pratique, un tel médicament n'existe pas.

L'amphotéricine est indiquée pour traiter les leishmanioses viscérales et muqueuses ou résistantes aux antimonies. La pentamidine est un médicament des leishmanioses cutanées et cutané-muqueuses dans le nouveau monde (Maltezou, 2010) avec un taux de guérison comparable à celui des antimoniaux pentavalents (Soto *et al.*, 1994, Soto-Mancipe *et al.*, 1993). La miltefosine est utilisée pour traiter les maladies causées par les protozoaires, particulièrement impliquée dans la synthèse des phospholipides de *Leishmania*.

Au Maroc, un seul traitement gratuit disponible quel que soit la forme de leishmaniose ; antimoniate de méglumine (Glucantime®). Selon la taille, le nombre de lésion et son positionnement, leur utilisation pourrait être intraveineuse ou intra-lésionnelle. Deux injections par semaine pendant un mois sont nécessaires (DELM, 2010).

2. LUTTE ANTI-VECTORIELLE

Afin de consolider les aptitudes des programmes de la santé et améliorer la coopération dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle, l'OMS a élaboré une stratégie pour gérer la lutte anti-vectorielle. Il s'agit dans un premier temps d'une lutte personnelle par le biais des moustiquaires à mailles fines contenant des insecticides d'une période large, et l'élimination des pertes, résidus, matières organiques ou autres sur lesquels les phlébotomes s'installent. Dans un deuxième temps, c'est la lutte collective. Dans ce cas, il faut réagir sur :

- sécuriser le réservoir du parasite en diagnostiquant et en traitant les patients, en dépistant la leishmaniose canine, en éradiquant les rongeurs dans leurs habitats et en assurant la capture, l'emballage et l'élimination des pertes solides et liquides et de la litière.
- le parasite par le diagnostic positif de l'infestation et son traitement. Comme la lutte contre le réservoir, la lutte contre le parasite se base sur le dépistage des cas de leishmaniose qui repose sur l'échantillonnage et le dépistage sélectif du suc cutané de leishmanies soit un dépistage sélectif lors des tournées de surveillance menées par les infirmiers itinérants et dans les centres de santé fixes soit par le biais d'un dépistage de la population dans les cas détectés ou d'enquête autour des flambées épidémiques.

- le vecteur en se basant sur l'élimination des gîtes larvaires, la lutte imagocide (aspersions intradomiciliaires d'un insecticide).

Toutes ces prophylaxies vont défendre contre les picotements des vecteurs et diminuer la densité de ces derniers et donc la relation vecteur-Homme.

IV. PHLEBOTOMES ET LEISHMANIOSES AU MAROC

1. PHLEBOTOMES DU MAROC

Les travaux sur les phlébotomes font l'objectif de plusieurs auteurs. Après Delanoë (1916), Vialatte et Parrot (1921), Ristorcelli (1939, 1940, 1941, 1945, 1947), une synthèse géographique et bioclimatique des données existantes sur les phlébotomes au Maroc et de leurs propres recherches entre 1965 et 1970 a été réalisée par Bailly-Choumara *et al.* (1971). Au début des 1970, la situation leishmanienne au Maroc est devenue alarmante, et a conduit au développement d'un programme de recherche Maroc-Français afin d'analyser les différents foyers leishmaniens (Rioux *et al.*, 1975, 1977, 1984, 1986c, 1997). Après les travaux de Rioux au Maroc, ceux de Guernaoui *et al.* (2005a, 2006a, 2006b) ont permis d'actualiser les données dans le sud-ouest marocain et sur la base des observations de Benabdennbi *et al.* (1999), la distribution des *Larroussius* est modifiée. Dans le but d'actualiser la liste des phlébotomes du Maroc et de déterminer l'effet de certains facteurs écologiques sur leur répartition, d'autres études effectuées (Faraj *et al.*, 2013, El Miri *et al.*, 2013, Ouanaimi *et al.*, 2015, Zarrouk *et al.*, 2015). Plusieurs études biochimiques réalisées pour définir les populations des phlébotomes marocains (Depaui *et al.*, 1998a ; Benabdennbi *et al.*, 1999 ; Yahia *et al.*, 2004 ; Guernaoui *et al.*, 2020).

Présentement, une liste des phlébotomes marocains inclut 24 espèces, réparties en deux genres : 14 espèces du genre *Phlebotomus* et 10 espèces du genre *Sergentomyia* (Faraj & Himmi 2020).

2. LEISHMANIOSES AU MAROC

En 20^{ème} siècle, les leishmanioses sont éprouvées au Maroc. Les leishmanioses viscérale et cutanée, sont abondamment dans le patrimoine (Rioux, 1999). La première observation de Kala-azar à Tanger a rapporté en 1913 par Remlinger, avec des observations ultérieures à Meknès, Ouazzane, Rif et Arfoud (Remlinger, 1926). En 1974, Cadi Soussi, Lahrech et Bourdillon ont étudié la distribution géographique des leishmanioses concernées (Sedik, 2007). Entre 1980 et 1986, les recherches ont été menées en collaboration avec l'équipe du laboratoire d'Ecologie Médicale et de pathologie Parasitaire de la Faculté de médecine de Montpellier, une série d'études éco-épidémiologiques a été réalisée suite à une épidémie à Tata. A partir de 1989, la coopération entre le ministère de la santé et une équipe de Montpellier s'est consolidée pour l'analyse éco-épidémiologique des foyers de leishmanioses (Etat

d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires, 1993). Depuis 1993, le programme national de lutte contre les leishmanioses mise en place par la Direction de l'épidémiologie et de la lutte contre les Maladies est rentré dans une phase préalable permettant un bon suivi de la situation épidémiologique des leishmanioses dans toutes les régions marocaines (Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires, 1993). Depuis, les leishmanioses sont devenues des maladies à déclaration obligatoire (arrêté ministériel n° 683-95 du 31 mars 1995), et restent un majeur problème sanitaire (Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires, 1993).

Les leishmanioses sont des maladies provoquées par trois espèces présentant une diversité génétique et des modalités épidémiologiques complexes.

2.1 LC à *L. major*

La LC à *L. major* ou leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ), responsable de la forme humide (rurale), elle est connue par quelques cas sporadiques (Guessous-Idrissi *et al.*, 1997). Son aire de distribution s'étale de la côte atlantique au sud de l'Anti-Atlas (région d'Akka) jusqu'à la région d'Oujda, en passant par les zones sahariennes au sud du haut de l'Anti-Atlas et à l'est du moyen Atlas avec un climat aride ou péri-aride (Rioux *et al.*, 1986a).

L'analyse enzymatique des isolats obtenus au début de l'épidémie a signalé que *L. major* Mon-25 (Maazoun *et al.*, 1986), impliqué dans tout le Maghreb.

Ils ont montré que le vecteur *P. papatasi* est porteur de promastigotes de *L. major* (Rioux *et al.*, 1986b). la saison d'infestation s'étend de juillet à octobre avec une tendance à l'augmentation à la fin de la saison chaude. La transmission à l'homme se fait à partir d'une seule source : *Meriones shawi* reste infecté à vie (1-3 ans). Ce rongeur vit en contact étroit avec l'Homme dans les forêts de palmiers. Son infection est caractérisée par une longue tolérance terminée par une phase de dissémination, hautement infestante pour le vecteur ce qui a conféré à *M. shawi* le statut de « vrai réservoir » de *L. major* (Rioux *et al.*, 1982).

2.2 LC à *L. tropica*

Le premier cas de LC causé par *L. tropica* ou la LC anthroponotique (LCA), a été identifié en France en 1987 chez un enfant marocain séjournant à Tanant (Marty *et al.*, 1989). Depuis lors, les leishmanioses dues à *L. tropica* ont continué à émerger. Un grand foyer allant d'Azilal au centre à Essaouira à l'Ouest et Agadir-Guelmim au Sud, a été identifié (Guilvard *et al.*, 1991). D'une manière générale, La LC à *L. tropica* s'étend de la région d'Agadir à l'Ouest à la zone autour du plateau de Rifain de Taza à l'est en passant par la pente occidentale des montagnes de l'Atlas jusqu'à la région du

centrale (Guessous-Idrissi *et al.* 1997, Bichichi *et al.*, 1999, MSP (2001 et 2003), Rhajaoui *et al.*, 2004, Guernaoui *et al.*, 2005b) et dans le nord (El Miri *et al.*, 2016).

Le principal hôte porteur est l'être humain et le seul vecteur prouvé est *P. sergenti* (Guilvard *et al.*, 1991; Al Zahrani *et al.*, 1988).

L'identification des souches isolées chez l'homme, le chien et le vecteur *P. sergenti* a révélé un polymorphisme enzymatique dans ces leishmanies. 7 zymodèmes de *L. tropica* ont été mis en évidence: *L. tropica* MON102, MON107, MON-109, MON-112, MON-113, MON-122 et MON-123 (Pratlong *et al.*, 1991). Seuls MON-102, MON-107, MON-109, MON-112 et MON-113 ont été écartés chez l'homme (Rhajaoui, 2011). Au Maroc, *L. tropica* connaît un polymorphisme par rapport aux autres espèces *L. major* et *L. infantum*.

La LC à *L. tropica* MON 102 est une anthroponose sévissant souvent sous forme de poussées épidémiques, mais ça n'exclut pas l'existence, de cas sporadiques de LC sèche dans plusieurs provinces marocaines. Ce maintien persistant du parasite, dans ces localités, pourrait conduire à une épidémie chez l'homme si les conditions éco-épidémiologiques sont favorables (Rhajaoui, 2011). Les vecteurs de la LC à *L. tropica* dépend des zymodèmes en circulant. Ils ont été démontré que *P. sergenti* transmet les zymodèmes MON-102, MON-107, MON-122 et MON-123 (Guilvard *et al.*, 1991). Alors, MON-109, MON-102 et MON-113 n'ont pas été isolés à partir de ce vecteur, ce qui suggère que d'autres vecteurs peuvent être présents (Rhajaoui, 2011).

2.3 LC à *L. infantum*

Cette espèce est responsable de cas sporadiques de LC caractérisés par des lésions ulcéreuses ou – lipoïdes uniques, évoluant sur nombreux mois (au moins deux ans) (Rioux *et al.*, 1996). La majorité de ces cas ont été recensés dans la province de Sidi Kacem. Cette forme a été rapportée pour la première fois en France (Rioux *et al.*, 1980). Depuis, cette forme a été trouvée dans la plupart des foyers à LV canine et humaine survenant dans la région méditerranéenne (Dereure *et al.*, 1986).

Au Maroc, *L. infantum* MON-24 est à l'origine de la LC humaine dans le sud (Rioux *et al.*, 1996), et le nord du pays (Lemrani *et al.*, 1999). Des recherches moléculaires, effectuées en 2007 par Rhajaoui *et al.* ont montré que la maladie est causée par *L. infantum*. La plupart de ces cas ont été marqués dans le district de Sidi Kacem (Rhajaoui *et al.*, 2007).

2.4 LV à *L. infantum*

Au Maroc, le complexe *P. perniciosus* et *P. ariasi* sont suspectés de transmettre *L. infantum* responsable de la leishmaniose viscérale humaine et canine (Rioux *et al.*, 1984, Killick-Kendrick, 1990). Les souches isolées appartiennent aux zymodèmes MON-1 (Dereure *et al.*, 1986). Le chien est le réservoir connu de MON-1.

La forme viscérale à *L. infantum* existe sous forme sporadique avec prédominance au niveau des régions humides et subhumides sur les montagnes du Rif et du pré Rif, qui constituent le prolongement du grand foyer du pourtour méditerranéen.

Le rôle vectoriel de *P. ariasi*, *P. perniciosus* et *P. longicuspis* est démontré dans le nord du Maroc : *P. ariasi* à Taounate (Hamdani, 1999), *P. longicuspis* à Sefrou (Es-Sette *et al.* 2014) et *P. perniciosus* à Taza (Mhaidi *et al.*, 2018).

CHAPITRE II
MILIEU, MATERIEL ET METHODES

I. MILIEU

1. LOCALISATION

La zone de Béni Mellal-Khénifra est située au centre du Maroc, bordée au nord par la zone de Rabat-Salé-Kenitra, au nord-est par la zone de Fès-Meknès, la zone de Draa-Tafilalt au sud et sud-ouest et par les zones de Casa-Settat et Marrakech-Safi à l'est.

D'une superficie égale 28 374 km², elle occupe 3,95% du territoire marocain et comprend 5 provinces : Azilal, Béni Mellal, Fquih Ben Saleh, Khénifra et Khouribga (Fig. 7).

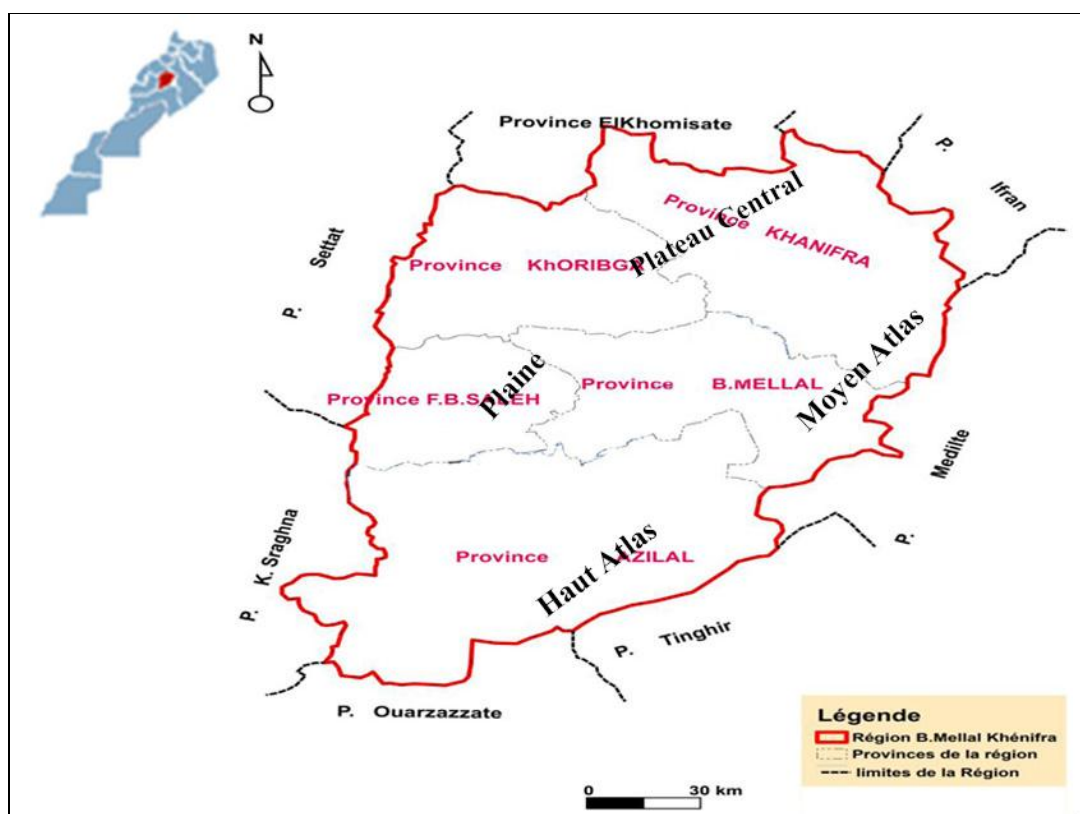


Figure 7. Carte du milieu concernée (MI, 2015).

2. CARACTERISTIQUES GENERALES

La zone de Béni Mellal-Khénifra présente un intérêt stratégique, soit par son poids démographique et économique, soit par son double rôle ; d'un côté dans l'aménagement du territoire national et la caractérisation des espaces voisines, d'autre côté.

Elle est située entre l'Atlas et les provinces littorales atlantiques. Par cette position, elle est connue par une richesse naturelle fortement diversifiée (hydraulique et forestière), un potentiel agricole des occasions offertes par l'activité minière (Phosphates, Barytine, fer, zinc, ...), et des grands plans structurants.

2.1 Géographie et géologie

La zone de Béni Mellal-Khénifra est connue par l'existence de quatre grands ensembles géographiques; la montagne; le piémont, le plateau des phosphates et la plaine de Tadla.

Sur le plan géologique, elle est riche en ressources minières, tels que les gisements de phosphates, barytine, plomb, zinc, pyrophyllite, fluorine, fer, antimoine, argent et cuivre (Ministère d'Intérieur, 2015).

2.2 Climatologie

Le climat est continental avec deux grands types :

- un climat humide dans les sommets du Haut-Atlas et certains pics du Moyen-Atlas ;
- un climat semi-aride dans les plaines.

Les diagrammes météorologiques de quelques stations de la zone étudiée sont présentés dans la figure 8.

La température moyenne est de 18°C avec des températures de 0°C à plus de 40°C. En automne et en hiver, il y a la neige et du gel , tandis qu'en été, la température augmente sous l'effet des vents du sud-ouest-est « chergui ».

A Béni Mellal, les températures moyennes en janvier est de 7,8 °C et de 27,8°C en juillet. A Azilal, le mois le plus froid est janvier (5,2 °C) et le plus chaud est juillet (23,9°C).

Les précipitations annuelles moyennes varient considérablement dans la zone d'étude. En 2012, la province de Béni Mellal a enregistré environ 291 mm. En revanche, la province d'Azilal a enregistré 450 mm avec des chutes de neige plus importantes, ce qui a permis d'améliorer des niveaux d'eau des réservoirs. A Khouribga et Kasba-Tadla ont enregistré des précipitations annuelles moyennes de 278 mm et 334 mm, respectivement (Tab. 4).

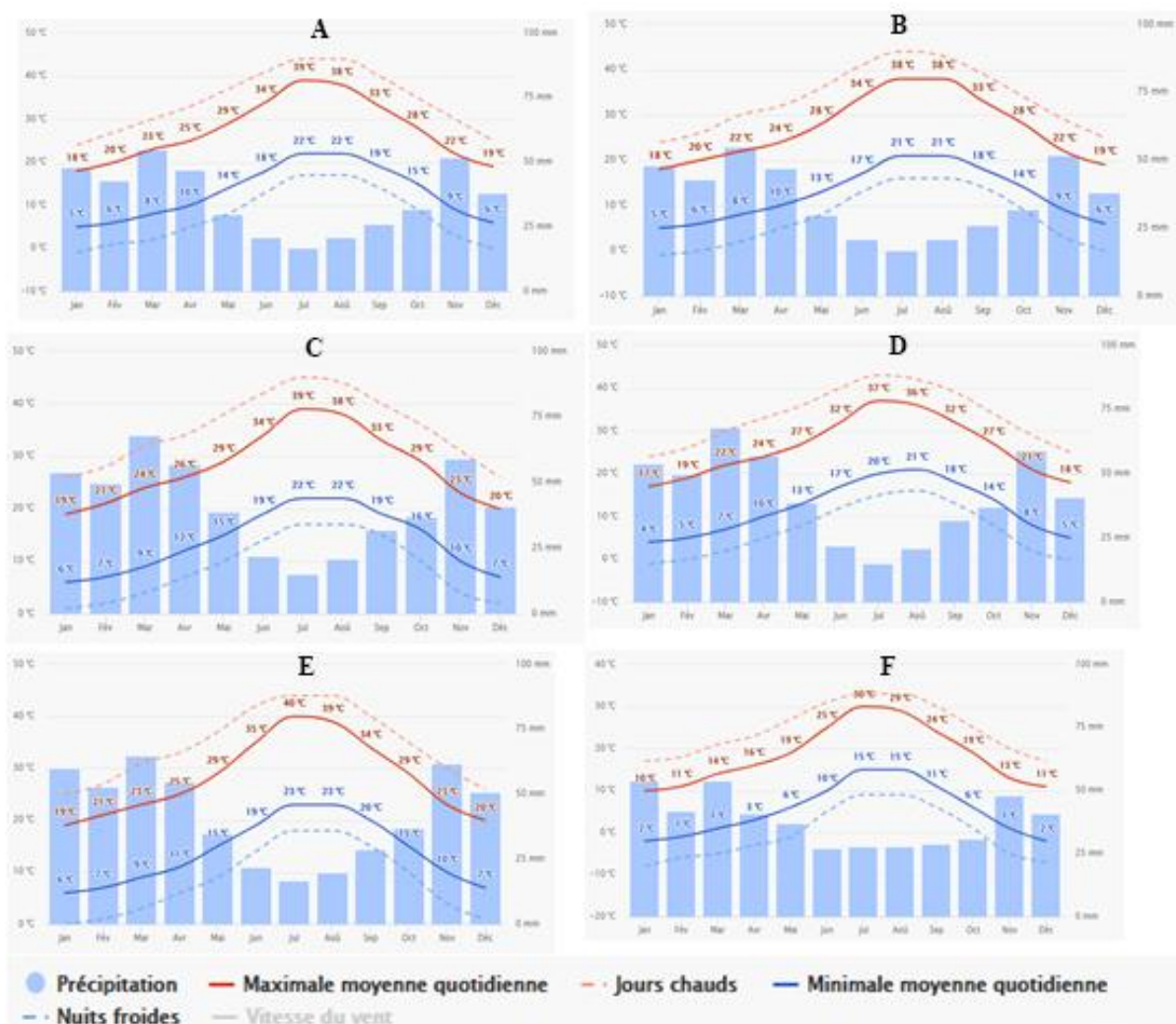


Figure 8. Diagrammes ombrothermiques établis pour certaines stations de la région étudiée (A : Béni Mellal, B : Afouer, C : Bzou, D : Foug Jamaa, E : Tadla, F : EL Kbab). (Données fournies par <http://www.meteoblue.com>)

Tableau 4. Pluviométrie annuelle (mm) à Béni Mellal et Kasba-Tadla pour la période 2005/2012. (Source : Annuaire Statistique Régionale, 2016)

	2005-2006	2006-2007	2007-2008	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2011-2012
Béni Mellal	346.4	180.3	265.4	460.3	480.8	424.8	291
Kasba-Tadla	374.2	188.9	256.2	525.4	604.7	439.7	334

2.3 Végétation

La végétation de Béni Mellal-Khénifra est constituée essentiellement de forêts qui occupent une surface d'environ 531,445 Ha. Ces forêts produisent en moyenne 70,000 stères de bois de chêne de qualité chaque année. Néanmoins, plusieurs compositions ouvertes et des groupes de *Acacia*

gummifera et *Zizyphus (Z.) lotus*; régionalement en groupement avec le thuya, l'oléastre et l'Euphorbe ont été fortement dégradées.

2.4 Population humaine

Selon l'HCP (2016), 2520776 habitants en 2014 dans la région. Cette population constituée majoritairement des populations des provinces d'Azilal, Béni Mellal et Khouribga.

Béni Mellal-Khénifra est une région à dominance rurale, avec une urbanisation de 49,16%. Le taux d'urbanisation est de 69.68% à la province de Béni Mellal, 61.58% à la province de Khouribga et 59.2% à la province de Khénifra. Dans les zones rurales, l'habitat est organisé en villages et douars dont la structure spatiale est hétérogène.

2.5 Activités économiques

Parmi les activités économiques présentes dans la région, on trouve le secteur agricole avec une superficie de terres de 984397 Ha pour la production des céréales, de cultures maraîchères, d'arboriculture et de la betterave sucrière. La production industrielle et artisanale avec des produits de tissage, armurerie traditionnelle et poterie, compte plus de 18300 artisans. Diverses formes de tourisme (montagne, vert, rural et aventure), plusieurs usines hydrauliques de la production d'énergie électrique et de grands plans structurants caractérisent la région. Celle-ci est connue également par une production très importante des minerais.

II. MATERIEL ET METHODES

1. ETUDES EPIDEMIOLOGIQUES

Les données représentées dans cette étude rétrospective rassemblent tous les cas de la LC dans la région de Tadla-Azilal de 2009 jusqu'à 2015. Elles sont originaires de la Direction de l'Epidémiologie et de la Lutte contre les Maladies de Rabat. En notant, qu'aucune différenciation n'était faite entre les espèces de *Leishmania* causant la LC.

L'analyse épidémiologique est pour objectif de caractériser le risque leishmanien. Les facteurs de risque explorés sont d'ordre populationnel, spatial et temporel.

Pour chaque patient, des informations concernant le sexe, l'âge, l'emplacement géographique et les mois du diagnostic ont été notées dans une base de données (Tab. 5).

D'abord, nous avons analysé les facteurs de risque populationnel concernent la répartition de la maladie chez le sexe masculin et féminin, selon l'âge, la structure d'âge en fonction du sexe et des années. Puis le risque spatial qui concerne la distribution du nombre de cas de la maladie dans les différentes provinces, localités, sa dynamique spatiale pour chaque année et sa répartition selon les

altitudes. Finalement le risque temporel, en analysant le nombre de cas de la maladie dans différentes altitudes en fonction du mois de diagnostic.

Les résultats épidémiologiques sont traités selon la nature d'analyse, une analyse descriptive sur Microsoft Excel 2010, SPSS version 17.0 et STATISTICA et une analyse spatio-temporelle par le logiciel ArcGIS version 10.3.

Tableau 5. Base de données détaillée des malades atteints de la leishmaniose cutanée dans le focus de Tadla-Azilal en 2009.

N°	Ordre	Province	Commune	Secteur	Localité	Nom et prénom	Âge	Sexe	Type de dépistage	Date de diagnostic	Mois de Dc	Trimestre de Dc	Résultat
68		Azilal	Bni Hassane	Bni Hassane	Ait alikadour	AARAB Hakima	2	F	P	30/01/2009	1	1	P
69		Azilal	Bzou	Oued laabid	MOGHYAY	AGHAOUI Sara	2	F	P	22/01/2009	1	1	P
70		Azilal	Afourer	Afourer	Afourer centre	ANOURI Dumaima	1	F	P	06/01/2009	1	1	P
71		Azilal	Afourer	Afourer	Duarallegh	AROM	1	M	P	06/01/2009	1	1	P
72		Azilal	Bni Hassane	Bni Hassane	Ait oujaïda	ASLACUI Dusama	1	M	A	10/01/1900	1	1	P
73		Azilal	Afourer	Afourer	Anfegue	AYATI Oussama	1	M	P	06/01/2009	1	1	P
74		Azilal	Ben elouidane	Ben elouidane	Ait iaaza	AZDOUD Iliass	3	M	P	15/01/2009	1	1	P
75		Azilal	Bni Hassane	Bni Hassane	Aitbouchou	BAJDI	1	M	P	15/01/2009	1	1	P
76		Azilal	Foum jemaâ	Foum jemaâ	Ait Chalha	BAKHSASS Med	1	M	P	22/01/2009	1	1	P
77		Azilal	Bzou	Bzou	NZALA BUJNIBA	BENAZIZI Ikrem	13	F	P	29/01/2009	1	1	P
78		Azilal	Bzou	Bzou	MAZDZ	BENAZZI Sohali	2	F	P	13/01/2009	1	1	P
79		Azilal	Bzou	Bzou	BAHI	BOUSSAIRI WIAAM	4	F	P	13/01/2009	1	1	P
80		Azilal	Ouaouizerth	Ouaouizerth	IAAMDOUM N	BOUYZARIG ANE Faïd	12	M	P	29/01/2009	1	1	P
81		Azilal	Afourer	Afourer	Taoughiste	BOUYZAR NE Imane	1	F	P	06/01/2009	1	1	P
82		Azilal	Foum jemaâ	Foum jemaâ	Mellah	CHAIBI Meriem	1	F	P	29/01/2009	1	1	P
83		Azilal	Tanant	Tanant	Skoura	CHIBAB Mahdi	4	M	P	05/01/2009	1	1	P
84		Azilal	Bzou	Bzou	MAZDZ	DAAGAZE Khadja	1	F	P	09/01/2009	1	1	P
85		Azilal	Bzou	Bzou	BAHI	ELBAHI FATI	60	F	P	20/01/2009	1	1	P
86		Azilal	Bzou	Bzou	BAHI	ELFACHTAL WISSAL	1	F	P	06/01/2009	1	1	P
87		Azilal	Foum jemaâ	Foum jemaâ	Igouramen	ELGHAZI Hamza	4	M	P	20/01/2009	1	1	P
88		Azilal	Afourer	Afourer	Ait amou	HAMIOUI	3	M	P	06/01/2009	1	1	P

2. ETUDES ENTOMOLOGIQUES

Dans le but de déterminer la répartition des phlébotomes, d'estimer les facteurs de risque et de décrire l'ensemble des caractéristiques écologiques et éthologiques des phlébotomes. La collecte des vecteurs s'est étalée entre mai et octobre 2017 dans les différentes stations échantillonnées dans milieu d'étude.

2.1 Sur le terrain

a. Stations d'étude

Les captures sont effectuées dans 34 stations réparties sur les 4 provinces du foyer de Béni Mellal-Khénifra pendant la saison d'activité des phlébotomes Celle-ci commence au mois d'avril jusqu'à novembre selon les espèces (Fig. 9). Les caractéristiques géographiques de chaque station échantillonnée figurent sur le tableau 6.

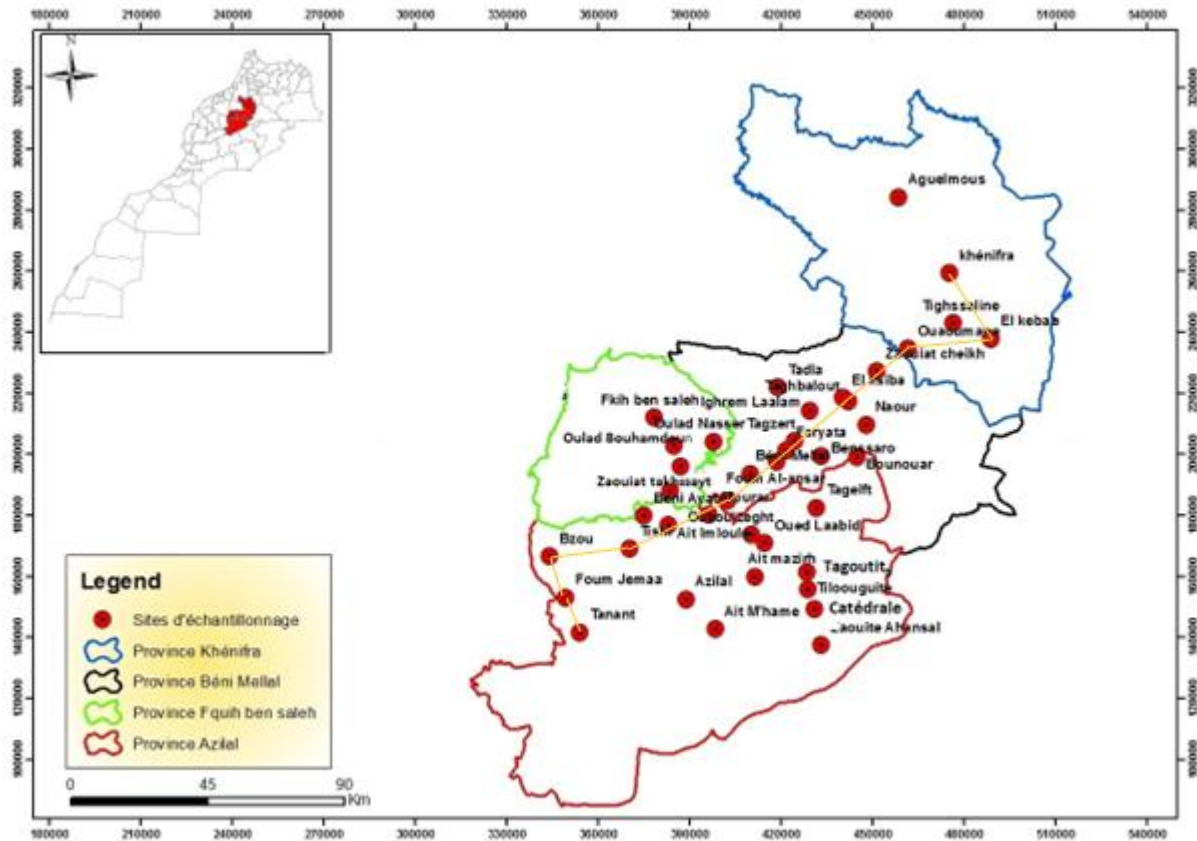


Figure 9. Stations d'échantillonnage dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

b. Méthode de piégeage

La collecte des phlébotomes passe d'abord par une méthode des itinéraires-transects : transect vers le Moyen-Atlas et l'autre vers le Haut-Atlas (Fig. 10 : les deux transects en jaune). Nous avons effectué deux séries d'échantillonnage afin d'étudier la distribution spatio-temporelle des phlébotomes dans le foyer de l'étude. (1) un échantillonnage globale sur l'ensemble de la région pour déterminer la composition spécifique des phlébotomes et la distribution spatiale des espèces selon les biotopes (2) un suivi de l'activité des espèces d'une façon bimensuelle pendant toute la période de capture, afin d'étudier les fluctuations saisonnières des vecteurs et de prospecter le ou les vecteur(s) potentiels de LC.

La technique d'échantillonnage choisi est celle des pièges adhésifs. Cette technique bien ajustée à l'inventaire qualitatif et quantitatif des phlébotomes (Rioux *et al.*, 1967). C'est une technique qui permet la récupération des espèces morts et peu sélective des insectes. La préparation du piège consiste à imbiber des papiers blanc A4, d'huile de ricin, et ensuite mettre dans un sachet fermé puis les placer dans une étuve à 50°C pendant une nuit, afin d'imprégner le papier.

Sur le terrain, les pièges sont déposés la matinée et/ou l'après-midi et relevés après 1 ou 2 nuitées de capture. Nous avons installé plus de 30 pièges dans chaque station. Les pièges ont été groupés par biotope sur une feuille sur laquelle doit être mentionné au crayon, le numéro du biotope, le nombre des

pièges déposés et le nom de la station, puis en les groupant dans un sachet. Le dépouillement des papiers est exécuté rapidement pour éviter la détérioration des spécimens capturés à cause de développement de champignons. Il est réalisé par une seringue imbibée d'éthanol. Les spécimens sont conservés dans des flacons bien étiquetés (la date de capture, la station et le type de biotope). Les spécimens sont conservés dans l'éthanol 96% pour les études entomologiques et moléculaires.

Cette technique présente plusieurs avantages : c'est une méthode rentable et qui ne différencie pas entre les deux sexes. Elle permet une capture synchronique dans diverses stations et n'est pas affectée par les préférences trophiques, photo-tactique ou anémochorique des espèces.

Le piégeage adhésif a un seul inconvénient c'est qu'il permet la récupération des spécimens morts et parfois en mauvais état.

Tableau 6. Caractéristiques des stations dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

Stations	Latitude	Longitude	Altitude	Population (Habitants) (HCP, 2017)	Urbanisation
Béni Mellal	32°20'32"		507	192 676	U
Foum An Anceur	32°22'24"	06°22'32'	696	18 412	R
Fariata	32°24'32"	06°15'41'	728		R
Tagzert	32°26'08"	06°13'46'	933	19 936	R
Ighram Laalam	32°31'32"	06°12'01'	592		R
Taghbalout	32°33'12"	06°09'00'	1155		R
El Ksiba	32°33'54"	06°00'48'	1216	20 001	Ur
Zaouiat Cheikh	32°38'38"	06°01'58'	738	25 388	U
Naour	32°28'49"	05°55'01'	1599	5 999	U
Tadla	32°35'44"	05°56'51'	507	47 343	U
Afourer	32°13'00"	06°16'10'	491	21 382	U
Béni Ayyat	32°13'13"	06°30'00'	535	22 900	R
Tiski	32°06'44"	06°34'56'	677	6 147	R
Bzou	32°05'09"	06°46'12'	429	14 072	R
Foum Jamaa	31°57'54"	07°03'18'	813	9 873	R
Tanant	31°51'47"	06°59'26'	592	10 706	R
Oued Laabid	32°07'59"	06°56'22'	798		R
Ait Mazigh	32°04'31"	06°18'08'	1106	3 330	R
Ouaouizerth	31°51'00"	06°21'12'	867	14 570	R
Tagoutite	--	06°55'59--			R
Tilouguitte	32°01'23"	06°12'53--	1156	10 544	R
Cathédrale	--	06°06'15'	804		R
Zaouiat Ahansal	31°49'59"	06°28'14'	1629	10 657	R
Ait Mhammed	31°52'33"	06°34'22'	1714	23 696	R
Azilal	31°57'53"	06°41'25'	1384	38 520	U
Fquih Ben Salah	32°30'03"	07°12'18'	434	102 019	U
Oulad Naceur	31°54'58"	--	616	28 438	R
Oulad Bouhammdoun	--	--	--	--	R
Zaouiat Takhssayt	--	05°48'23'	--	--	R
Ouaoumana	32°42'39"	05°39'09'	725	8 849	R
Tighssaline	32°46'32"	05°31'01'	899	15 204	R
El Kbab	32°44'27"	05°39'41'	1119	15 178	R
Khénifra	32°56'02"	05°50'33'	899	117 510	U
Aguelmous	33°09'02"		1161	35 626	R

• R: rural, U: Urbain

c. Choix de stations

Dans le but d'étudier les phlébotomes dans toute la région d'étude, nous avons effectué des piégeages dans 34 stations, en utilisant la méthode des itinéraires-transects.

Le choix de la région a été désigné en tenant compte deux intérêts :

- **intérêt épidémiologique:** les stations les plus touchées par la LC, telle que Béni Mellal, Afourer, Bzou, Foum Jamaa, Tanant et Tiski...
- **intérêt écologique:** la région se positionne dans quatre grands ensembles géographiques; et possède des zones avec des étages bioclimatiques différents; avec une biodiversité floristique et des milieux à différents altitudes.

d. Choix de biotopes

Différents types de biotopes ont été échantillonnées pour collecter les phlébotomes.

Trois types de biotopes ont été choisis (Fig. 10) :

- **Biotopes domestiques:** les pièges sont installés dans les maisons ;
- **Biotopes péri-domestiques:** les pièges ont été déposés au voisinage de la population en dehors des maisons, proches des fermes, des ruines ;
- **Biotopes sauvages :** les pièges sont installés dans des zones lointaines des habitations humaines et écuries.

La pose de pièges a été réalisée avec deux types de rythme :

- rythme bimensuelle dans 6 stations : Tadla, Béni Mellal, Afourer, Bzou, Foum jamaa et Tanant ;
- rythme mensuelle dans 4 stations : Tiski, Zaouiat cheikh, El Kbab et Khénifra ;
- des stations échantillonnées seulement une seule fois : le cas de toutes les autres stations pour avoir un inventaire exhaustif des phlébotomes dans le foyer d'étude.

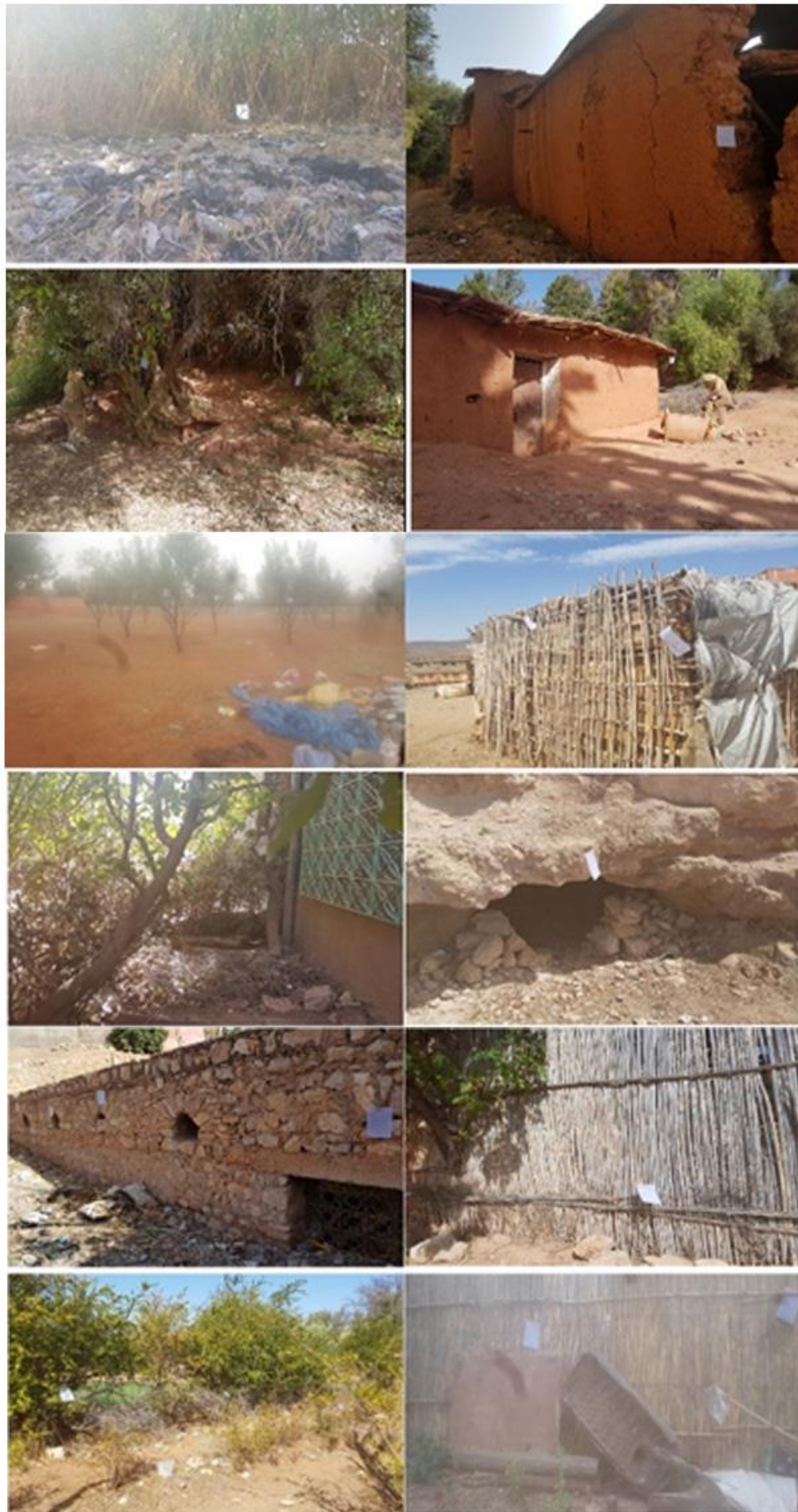


Figure 10. Biotopes de collecte dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra

2.2 Au laboratoire

a. Dissection des phlébotomes

Sous la loupe binoculaire, la dissection a été réalisée selon la technique de Rioux (1986) (Fig. 11). D'abord, nous avons déposé les phlébotomes en disposition latérale dans le baume du Canada. Puis, en détachons la tête des autres parties du corps grâce à des munitives. Afin d'observer facilement les armatures cibariale et pharyngienne du spécimen, la face ventrale de la tête est mise en position haute pour les *Sergentomyia* ou en position basse pour les *Phlebotomus*. Ensuite, les pattes sont écartées ventralement et les ailes dorsalement.

Pour les phlébotomes mâles, nous ouvrons attentivement l'appareil génital afin d'observer les caractères nécessaires à l'identification de l'espèce concernée.

Pour les phlébotomes femelles, nous avons basé sur la dissection du génitalia pour extraire les téguments qui enclosent la fuca.

Chaque échantillon a été monté sur une lame dans une goutte de baume du Canada et laissé à sécher pendant quelques jours à température ambiante.



Figure 11. Dissection et montage des spécimens.

b. Identification

L'identification des espèces est basée :

- pour les mâles sur la forme des valves péniennes, le nombre et la position d'épines sur le génitalia et le nombre de soies apicales sur le coxite;
- pour les femelles sur la forme de spermathèque, l'armature du pharynx, la forme et le nombre de dents du cibarium.

L'identification a été effectuée, à partir des clés d'identification élaborées par Léger *et al.* (1983), le MSP (1997), Benabdennbi & Pesson (1998), Depaquit *et al.* (2000a), et Kakarsulmankel (2004a, 2004b), Pesson *et al.* (2004) et Guernaoui (2006).

2.3 Analyses des données entomologiques

Pour caractériser la faune phlébotomienne, nous avons estimé plusieurs indices écologiques, il s'agit de :

a. Densité

La densité (D) est un paramètre important permettant de quantifier le risque leishmanien. Elle est exprimée par l'effectif de l'espèce concernée dans la station par m² de piège et par nuit de piégeage (Dajoz, 1985).

Pour calculer la surface piégée, il faudra prendre en considération que les deux côtés du piège sont fonctionnels.

(Surface piégée= la surface de piège * nombre de piège utilisée dans la station * 2).

b. Abondance relative (AR%)

L'AR est le rapport entre le nombre d'individus de l'espèce (ni) et le nombre total d'individus N de toutes les espèces recensées. Cela permet de définir la place occupée par chaque espèce dans le peuplement.

AR= ni/N*100 où ni est le nombre d'individus de l'espèce i et N est le nombre total d'individus de toutes les espèces incluses.

c. Fréquence d'occurrence (Constance)

La constance (C%) est le rapport entre le nombre de relevés contenant l'espèce étudiée (Pi) et le nombre total de relevés (P), exprimée en pourcentage (Dajoz, 2006).

C (%) = pi/P*100 avec C est la fréquence (%), Pi représente le nombre de relevés contenant l'espèce i, et P est définie le nombre total de relevés.

Bigot et Bodot (1973) distinguent cinq catégories d'espèces selon leur constance :

- C=100% → Espèce omniprésente.
- 50%<C <100% → Espèce constante.
- 25%<C <49% → Espèce accessoire.
- 10%<C <24% → Espèce accidentelle.
- C<10% → Espèce très accidentelle (sporadique).
-

d. Richesse spécifique totale

La richesse spécifique (S) totale est le nombre d'espèces comptées au moins une fois dans N relevés. Elle permet de déterminer l'importance numérique des espèces présentes. Plus il y a d'espèces, plus les relations entre ces espèces et leur environnement sont complexes. Cependant, la richesse spécifique n'est qu'une première approche de la diversité, car elle ne tient pas compte des différences entre les nombres des espèces.

e. Indice de diversité de Shannon-Weaver (H')

Il mesure la biodiversité du milieu et quantifie son hétérogénéité, ce qui permet l'observation de l'évolution dans le temps (Dajoz, 1975).

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left(\frac{N_i}{N} \right) * \text{Log}_2 \left(\frac{N_i}{N} \right) \text{ avec } N_i \text{ est le nombre d'individus d'une espèce } i, N \text{ est le nombre}$$

total des individus toutes espèces comptées et S représente la richesse spécifique.

Lorsque tous les individus sont de la même espèce, l'indice de diversité est de 0. Cet indice fluctue généralement entre 0.5 et 4.5 (Faurie *et al.*, 2003). La valeur de H' dépend du nombre d'espèces présentes, de leurs proportions relatives, de la taille de l'échantillon (NT) et de la base du logarithme.

f. Equitabilité de Pielou (équi-répartition)

Elle est définie par le rapport de la diversité observée (H') et la diversité maximale (H' max = $\text{Log}_2 S$). Elle permet d'estimer et de comparer la diversité.

$E = H' / \text{Log}_2 S$ avec H' est l'indice de Shannon et S est le nombre total des espèces recensées.

Cet indice varie de 0 (espèce dominant → déséquilibre dans la distribution taxonomique) à 1 (toutes les espèces d'abondance identique → espace écologique plein)

3. ETUDE MORPHOMETRIQUE DES GENTALIA DE *P. SERGENTI*

Son objectif est de caractériser les potentiels morphotypes du génitalia de *P. sergenti* ainsi que leurs variations spatio-temporelles à méso-échelles dans le foyer classique de *L. tropica*. Pour cela nous avons mesuré dix-neuf caractères morphologiques (Fig. 12). Il s'agit de :

- Style :

- ✓ Longueur
- ✓ Largeur médiane
- ✓ Distance entre la base du style et la première épine
- ✓ Distance entre la base du style et la deuxième épine
- ✓ Distance entre la base du style et la troisième épine

- Coxite :

- ✓ Longueur
- ✓ Largeur médiane
- ✓ Largeur de la base

- Lobe basal :

- ✓ Longueur
- ✓ Largeur médiane

- ✓ Largeur de la base
- ✓ Distance entre la base du coxite et le lobe basal
- ✓ Nombre de soies du lobe basal
- **Valves :**
 - ✓ Longueur
 - ✓ Largeur médiane
 - ✓ Largeur de la base
- **Filament génital :**
 - ✓ Longueur
- **Pompe génitale :**
 - ✓ Longueur
 - ✓ Largeur médiane

Ces caractères ont été mesurés à l'aide du logiciel Gryphax 12.0 et photographiés en utilisant la loupe ; CH 9435 ; Leica Microsystems, Wetzlar, Allemand numérique en connexion avec l'ordinateur. Toutes les mesures sont en micromètres.

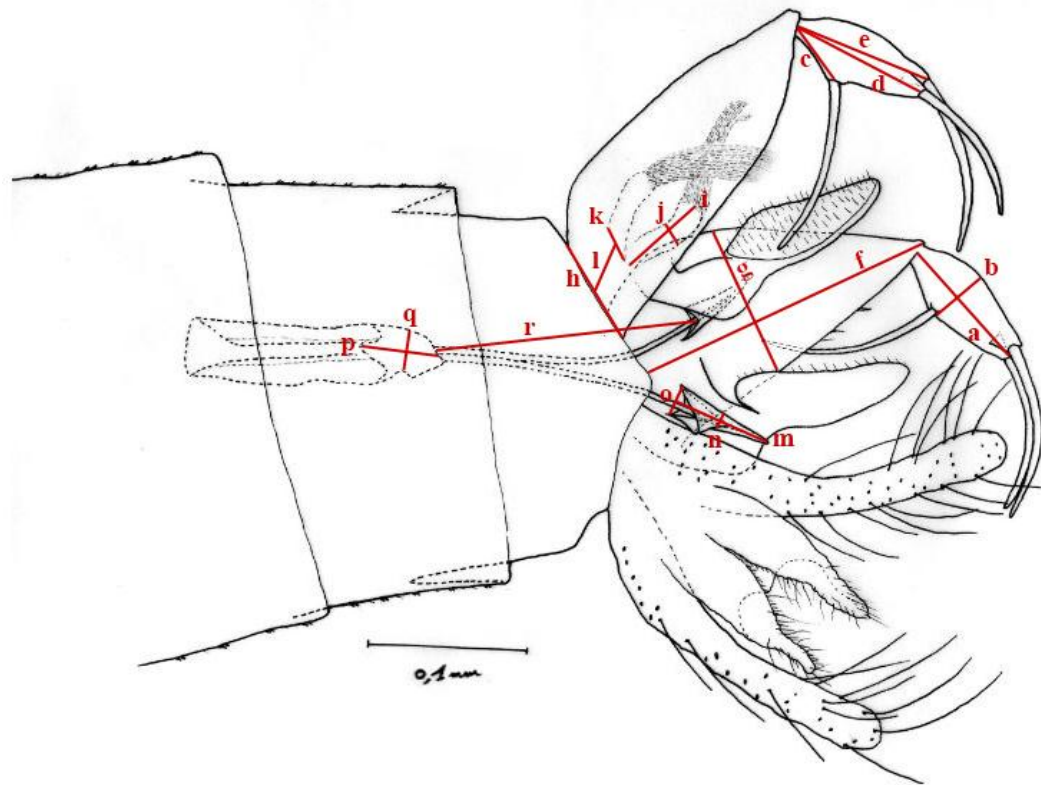


Figure 12. Mesures effectuées sur le génitalia de *P. sergenti* (G : x400).

*Style: **a**: Longueur; **b**: Largeur médiane; **c**: Distance entre la base du style et la 1^{ère} **d**: 2^{ème} et **e**: 3^{ème} épines, **Coxite**: **f**: Longueur; **g**: Largeur médiane; **h**: Largeur de la base, **Lobe Basal**: **i**: Longueur; **j**: Largeur médiane; **k**: Largeur de la base; **l**: Distance entre la base du coxite et le lobe basal. **Valve**: **m**: Longueur; **n**: Largeur médiane; **o**: Largeur de la base, **Pompe génitale**: **p**: Longueur; **q**: Largeur médiane, **Filament génital**: **r**: Longueur.

4. ETUDE GEO-MORPHOMETRIQUE DES AILES DE *P. SERGENTI*

Notre étude géo-morphométrique a pour objectif d'étudier les morphotypes des ailes de *P. sergenti* et leurs variations spatiales dans le foyer d'Azilal. Pour cette raison, nous avons étudié la forme et la taille des ailes.

4.1. Dissection des ailes

La dissection des ailes a concerné les ailes mâles droites et/ou gauches et les ailes femelles droites. Elle est faite sous la loupe binoculaire avec de munitities. Les ailes sont séparées soigneusement de toutes les autres parties de chaque spécimen.

4.2. Préparation des ailes

Après la dissection, les ailes sont soumises à un traitement spécifique pour une bonne vision des veines. Il s'agit d'une coloration selon la technique de Belen *et al.* (2004), avec quelques modifications du temps (en divisant le temps déterminé par Belen *et al.* 2004 par 2): les ailes ont été maintenues dans 5% de KOH pendant 10 min pour éliminer les poils, lavées dans l'éthanol à 95% pendant une durée

inférieure à 10 s , puis lavées dans l'eau distillée. Les ailes ont été mises dans le bleu de méthylène pour une durée de 10 minutes puis relavées à nouveau dans l'eau distillée et l'éthanol. Le montage a été fait dans le baume de Canada sur des lames marquées.

4.3. Numérisation-Points de repère

Au total 17 points de repère ont été sélectionnés. Ces points situés aux intersections des nervures des ailes avec la marge des ailes et aux intersections des nervures transversales avec les veines principales.

Le choix des points de repère est basé sur la méthode de Passerat De Silans *et al.* (1996) et Galati *et al.* (2017). La position de 17 points de repères sur l'aile a été numérisée (Fig. 13).

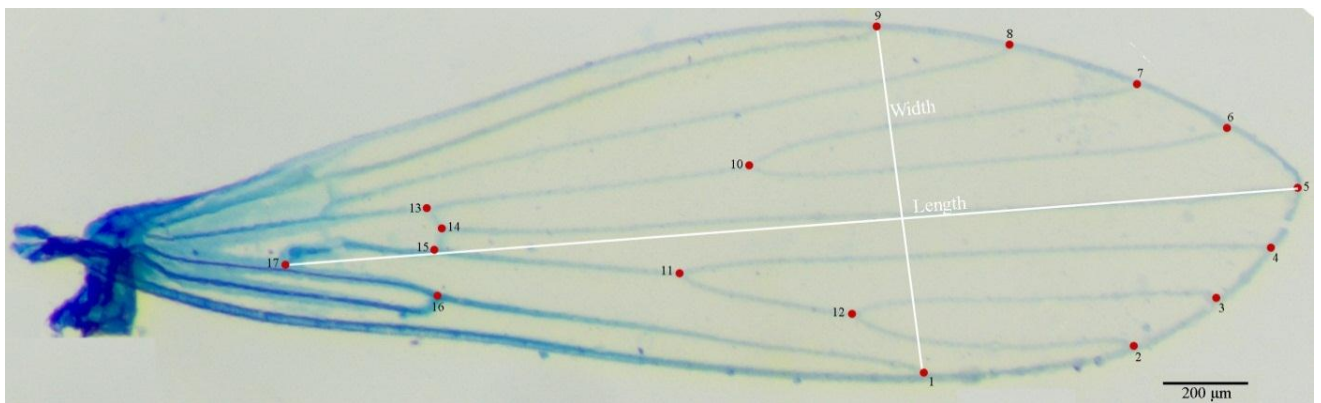


Figure 13. Localisation des 17 points de repère de l'aile droite de *P. sergenti* collecté dans le foyer d'Azilal.

4.4. Distances mesurées

Chaque distance définie l'intervalle entre deux points de repères est mesurée pour la taille et la forme de chaque aile de chaque spécimen. L'analyse de la taille a concerné la longueur (5-17), la largeur (1-9) et la taille du centroïde (CS), qui est définie par la racine carrée de la somme des distances au carré entre chaque point de repère individuel et le centre de la configuration des points de repères (Dujardin, 2008).

L'analyse de la forme a concerné les sept distances (Passerat De Silans *et al.*, 1996, Galati *et al.*, 2017):

- α : entre 2 et 12;
- β : entre 12 et 11;
- δ entre 1 et 11;
- ε : entre 3 et 12;
- θ : entre 4 et 11;
- π entre 10 et 11;
- γ : distance entre les points de repère 11 et 14.

Les mesures ont été faites sur toutes les lames qui ont été prises en photos. Les photographies ont été intégrées dans le logiciel tps-UTIL 1.74, avec 17 points de repères situés aux intersections des nervures des ailes avec la marge des ailes et aux intersections des nervures transversales avec les veines principales, en utilisant le logiciel tps-Dig 2 version 2.30.

III. ANALYSES BIO-STATISTIQUES

Elles concernent :

- l'étude de la distribution de la maladie ;
- l'étude de la distribution spatio-temporelle des espèces ;
- l'étude morphométrique des génitalia de *P. sergenti* ;
- et l'étude géo-morphométrique des ailes de *P. sergenti*.

Les analyses bio-statistiques regroupent les analyses uni-variées, bi-variées et multi-variées.

1. ANALYSES UNI-VARIEES

Pour chaque variable, nous avons calculé les paramètres suivants :

1.1. Paramètres de position

- la moyenne arithmétique : quotient de la somme de toutes les valeurs de la série par le nombre total. $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ avec n est l'effectif total, et x_i est l'effectif de l'individu i
- le mode: la valeur de plus grand effectif ou la plus grande fréquence.
- la médiane : la valeur qui divise la population étudiée en deux sous-ensembles de même effectif (si le nombre d'observations n est pair, la médiane est la demi somme des termes de rang n et n+1).
- le minimum: plus petite valeur de l'ensemble de données.
- le maximum: plus grande valeur de l'ensemble de données.
- les quartiles : les valeurs qui divisent la série statistique en quatre parties égales ; Q1, Q2 et Q3.
Q1 : signifie que 25% des observations sont inférieures ou égales à Q1.
Q2 : 50% des observations sont inférieures ou égales à Q2.
Q3 : la plus petite valeur de la série (75% des valeurs soient inférieures ou égales à Q3).

1.2. Paramètres de dispersion

- la variance : la moyenne des carrés des écarts par rapport à la moyenne. En termes mathématique, elle peut être considérée comme une mesure utilisée pour caractériser la distribution ou la variance d'un échantillon par rapport à une tendance centrale. Sa formule est :

$$s^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 .$$

Avec n : effectif total,
 x_i : moyenne observée,
 \bar{x} : moyenne globale.

- l'écart-type : représente la racine carrée de la variance. C'est la mesure de dispersion la plus habituellement utilisée en statistique lorsque la moyenne est utilisée pour calculer la tendance centrale. Il mesure la variance autour de la moyenne.

$$\sigma = \sqrt{s^2} \text{ avec } s^2 : \text{ la variance de la série statistique.}$$

Toutes les analyses uni-variées sont réalisées à l'aide du Microsoft Excel 2010.

2. ANALYSES BI-VARIEES

Dans ce type d'analyse, nous avons basé sur la corrélation, les rapports de corrélation, le test khi deux et le test student t.

2.1 Analyse de deux variables quantitatives

Cette analyse est basée sur la corrélation. Cette dernière caractérise la présence ou l'absence d'une relation entre deux échantillons de valeurs obtenues à partir du même groupe de sujets. Le coefficient de corrélation quantifie cette relation par le signe de la corrélation (positif ou négatif), et l'intensité de la corrélation.

2.2 Analyse de deux variables qualitatives

Pour quantifier la liaison entre deux variables qualitatives, l'indicateur fondamental est le test khi deux. Il est intéressant de vérifier si ces variables aléatoires sont indépendantes c'est-à-dire si elles ont une influence l'une sur l'autre. Le test khi deux est calculé selon la formule suivante :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Avec K représente le nombre de catégories distinctes,

O_i est la valeur observée pour la i° catégorie,

E_i est la valeur attendue pour la i° catégorie.

2.3 Analyse d'une variable quantitative et une qualitative

Pour cette analyse, un paramètre appelé le rapport de corrélation est calculé. Ce rapport mesure l'intensité de la relation. On décompose la variation en variation intergroupe et intragroupe.

Afin de déterminer la valeur du rapport de corrélation, il nous faut calculer :

- variance intragroupe est la variance causée par les différents individus qui composent un groupe.
- variance intergroupe est la variance causée par les différents échantillons

Outre, les rapports de corrélation, nous avons utilisé le test t student ; un test statistique comparant les moyennes de deux groupes d'échantillons. L'objectif est de déterminer si les moyennes des deux groupes sont statistiquement significativement différentes.

Toutes les analyses bi-variées sont réalisées sous Microsoft Excel 2010 et SPSS version 17.0.

3. ANALYSES MULTI-VARIEES

Comme dans de nombreux domaines, les observations peuvent être classées dans des tableaux de données. Au fur et à mesure que le nombre de dimensions et d'éléments augmentent, leur interprétation devient de plus en plus complexe. Les méthodes d'analyse des données multi-variées dites des méthodes multidimensionnelles, permettent d'extraire les tendances les plus remarquables, de les hiérarchiser et d'éliminer les effets marginaux ou transitoires qui perturbent la perception globale des faits. Ces méthodes comprennent l'analyse en composantes principales (ACP) et l'analyse factorielle des correspondances (AFC).

3.1 Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP est une méthode conçue pour mettre en évidence les relations caractéristiques entre toutes les variables.

il s'agit d'une méthode statistique qui peut être utilisée pour explorer des données sur des variables dites multi-variées. Elle permet d'extraire et de visualiser les informations importantes contenues dans les tableaux de données multi-variées. L'ACP synthétise ces informations en plusieurs nouvelles variables appelées composantes principales.

Durant nos analyses, l'ACP est utilisée dans les études morphométriques de génitalia de *P. sergenti* pour déterminer le(s) caractère (s) le (s) plus discriminant (s) et la répartition des spécimens dans un plan factoriel en se basant sur plusieurs variables. La matrice utilisée figure dans l'annexe I.

Dans les études géo-morphométriques des ailes de *P. sergenti*, l'ACP a pour objectif de définir les morphotypes de l'espèce concernée. La matrice utilisée figure dans l'annexe II.

3.2 Analyse factorielle des correspondances (AFC)

L'AFC est l'un des moyens les plus efficaces d'interpréter et de traiter ces tableaux de données. Elle permet d'obtenir un résumé global tout en conservant le plus d'informations possible.

Selon Legendre & Legendre (1984), l'analyse factorielle des correspondances est une méthode descriptive qui peut être utilisée pour traiter des variables qualitatives et semi-quantitatives. Elle

fournit donc à la fois, une analyse des variables et une analyse de la distribution des individus. L'AFC est essentiellement une représentation graphique d'un tablea de contingences (Legendre & Legendre, 1998).

Cette analyse est faite dans l'étude écologique pour déterminer les préférences habitats des espèces phlébotomiennes. La matrice utilisée figure dans l'annexe III.

Les analyses multi-variées ont été exécutées dans les logiciels STATISTICA 10 et SSPSS 17.0.

IV. ANALYSES GEO-MORPHOMETRIQUES

Les méthodes géo-morphométriques concernent l'analyse de la taille en se basant sur la longueur, la largeur et la taille de centroïde et l'analyse de la forme des ailes en se basant sur les sept distances (α , β , δ , θ , ϵ , π , et γ) de *P. sergenti* dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

Durant cette analyse, nous avons réalisé également des classifications hiérarchiques à liaison unique pour la taille et la formes des ailes droites mâles et des configurations des ailes en se basant sur la forme.

1. CLASSIFICATION HIERARCHIQUE A LIAISON UNIQUE DES AILES

Cette classification se faite selon la méthode de Ward. Elle fournit une typologie des spécimens en classes homogènes en une hiérarchie de partition. Son objectif étant d'élaborer la meilleure structure des éléments à classifier et donc d'identifier des groupes similaires dans un ensemble d'objets.

La méthode de Ward est la méthode la plus courante. Elle consiste à réunir deux clusters dont le regroupement minimise l'inertie entre les classes. Les distances de Ward sont utilisées pour la distance entre les deux classes et la distance entre leurs centres de gravité au carré, pondérées par la taille des deux clusters.

La distance euclidienne (type de distance le plus couramment utilisé) est supposée. Il s'agit d'une distance géométrique dans un espace multidimensionnel.

$$\text{Distance (x,y)} = \{ \sum i (x_i - y_i)^2 \}^{1/2}$$

Cette méthode tend à réunir des ensembles représentant de petites classes. Elle peut regrouper des données provenant d'échantillons, de points ou autre, e, commençant par une méthode hiérarchique aléatoire et en terminant par un dendrogramme ou un arbre de classification à différents niveaux.

Parmi ses avantages, c'est la méthode la mieux adaptée aux variables qualitatives plutôt que binaires et l'interprétation du saut Ward est plus nette que celle obtenue par la méthode de liaison complète.

Les inconvénients de cette méthode c'est le faite qu'elle a tendance à combiner des clusters avec un petit nombre d'observations et elle est très sensible aux valeurs aberrantes (Milligran, 1980).

Les analyses multi-variées sont réalisées à l'aide du logiciel STATISTICA 10.

2. ANALYSE SUPERPOSITION PROCUSTES OU PROCUSTE GENERALISEE

Afin de se concentrer sur l'étude de la forme des ailes des spécimens, l'objectif était de trouver les translations, les rotations et les transformations de taille qui minimisent la distance la plus petite entre deux séries de points de repère.

Les coordonnées brutes de chaque photographie d'aile ont d'abord été alignées par translation, mise à l'échelle et rotation pour correspondre les unes aux autres par cette analyse de Procrustes. Cette procédure élimine les effets de position, d'échelle et d'orientation, les coordonnées de Procrustes des points de repère d'une configuration représentant la forme sans la taille du centroïde. Les différences de position entre chaque point de repère homologue représentent les différences de conformation des deux objets. Ces différences peuvent être visualisées et sont analysées statistiquement.

Dans notre étude, les logiciels utilisés pour réaliser l'analyse de superposition Procrustes, les logiciels tps-UTIL 32 version 1.74 et tps-Dig 2 version 2.30 (Rohlf & Slice 1990) pour obtenir les coordonnées de chaque point de repère (matrice en annexe IV), et le logiciel Past3 version 1.0.0.0 afin d'obtenir des configurations.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE III

SITUATION ECO-EPIDEMIOLOGIQUE DE LA

LEISHMANIOSE CUTANEE DANS LE FOYER DE

TADLA-AZILAL

INTRODUCTION

Les infections à transmission vectorielle sont des maladies infectieuses transmises par des vecteurs. Ces vecteurs sont généralement des arthropodes hématophages qui transmettent activement (mécaniquement ou biologiquement) des agents infectieux d'un vertébré à un autre. Il s'agit essentiellement d'insectes et d'acariens hématophages. Ils transmettent des maladies bactériennes, virales et parasitaires.

Les leishmanioses sont l'une des maladies à transmission vectorielle et elles sont devenues très répandues ces dernières années (OMS, 2019). Elles sont causées par des protozoaires, du genre *Leishmania*, transmises d'un vertébré à autre par une piqûre d'une femelle phlébotome infestée.

Selon les estimations (OMS, 2019), les leishmanioses touchent 98 pays dans la région tropicale et subtropicale, avec 12 millions de personnes atteintes. Plusieurs manifestations cliniques existent. Les plus répandues sont : la LC, LCM et la LV.

La leishmaniose cutanée représente la forme la plus abondante (OMS, 2019).

La surface de distribution de la maladie s'étale de plus en plus. Ceci est à cause des changements climatiques, et surtout de l'action anthropique. D'ailleurs, la répartition des leishmanioses est directement liée à l'état environnemental (Ashford, 2000).

Au Maroc, les leishmanioses sont des maladies à déclaration obligatoire (arrêté ministériel n° 683-95 du 31 mars 1995). Les leishmanioses cutanées posent un problème majeur où 2813 cas enregistrés en 2015 (MSP, 2016, Kahime *et al.*, 2016).

Les LC dues à *L. tropica* sont transmises par *P. sergenti* (Guilvard *et al.*, 1991, Protlong *et al.*, 1991). En 1989, le premier foyer de LC est recensé dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra, exactement à Tanant (Marty *et al.*, 1989). Jusqu'à présent, la LC demeure endémique et largement répandue.

Notre étude est pour objectif de d'analyser la situation éco-épidémiologique après trente ans de transmission active, d'extraire les facteurs de risques favorisant la distribution spatio-temporelle de la maladie, et d'interpréter la propagation de la maladie dans le foyer classique de LC à *L. tropica* et dans les régions voisines.

I. FACTEURS DE RISQUE POPULATIONNEL

Nous avons analysé la distribution de la maladie pour le sexe, l'âge, et la structure de l'âge chez les deux sexes et de l'âge au cours du temps.

1. SEXE

La LC a infecté les deux sexes ; 47% sont des masculins et 53% sont du sexe féminin (Fig. 14). Donc le sexe féminin est le plus touché.

Notant que d'après le test khi deux, la différence entre les hommes et les femmes est statistiquement significative (χ^2 calculé (= 7,58) < χ^2 critique (= 1,64) (P < 0,05).

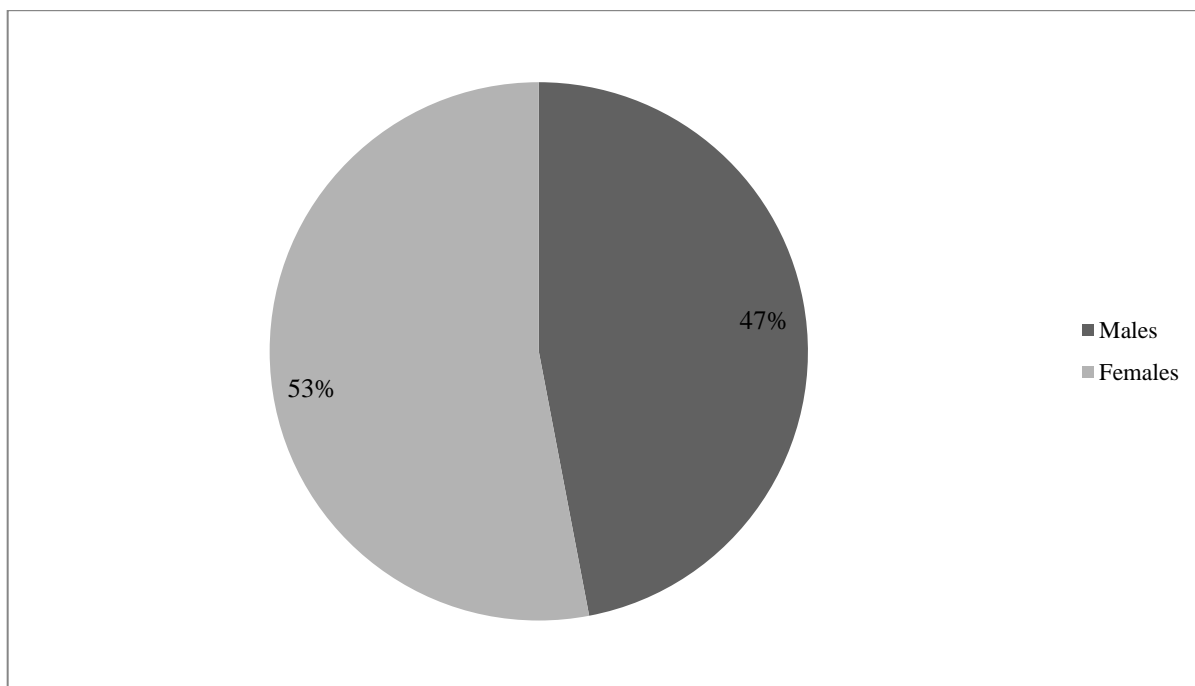


Figure 14. Répartition des cas de leishmaniose cutanée chez les femmes et les hommes dans le foyer de Tadla-Azilal entre 2009-2015.

2. AGE

Les cas concernés par la LC dans la région de Tadla-Azilal entre 2009 et 2015 ont un âge d'un an à 90 ans avec une moyenne de $51,58 \pm 23,71$ ans. L'âge le plus touché est d'un à 10 ans (2942 cas), soit 75% de l'ensemble (Fig. 15).

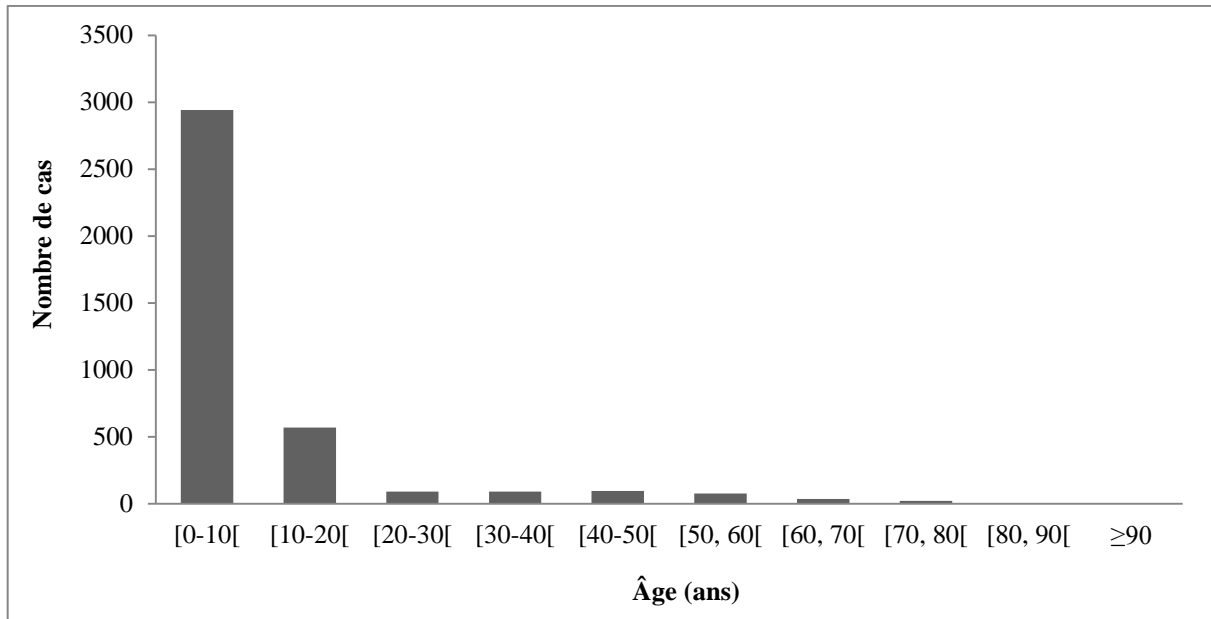


Figure 15. Répartition de la leishmaniose cutanée selon l'âge dans le foyer de Tadla-Azilal de 2009 à 2015.

3. STRUCTURE DE L'AGE EN FONCTION DU SEXE

Pour voir si la structure d'âge est la même chez les sexes féminin et masculin, nous l'avons étudié et comparé dans la population des trois provinces de la région chez chaque sexe. La figure 16 représente les boîtes à moustaches de la structure d'âge de chacun de deux sexes.

Les boîtes à moustaches sont très comparables. Il se peut qu'il y ait une liaison mais faible entre les deux variables.

Pour confirmer cette hypothèse, on procède à une décomposition de la variance pour calculer le rapport de corrélation dans chaque province. En effet, le rapport de corrélation entre les sexes et l'âge était de 0,15, 0,17 et 0,23 dans les provinces d'Azilal, de Béni Mellal et de Fquih Ben Salah, respectivement.

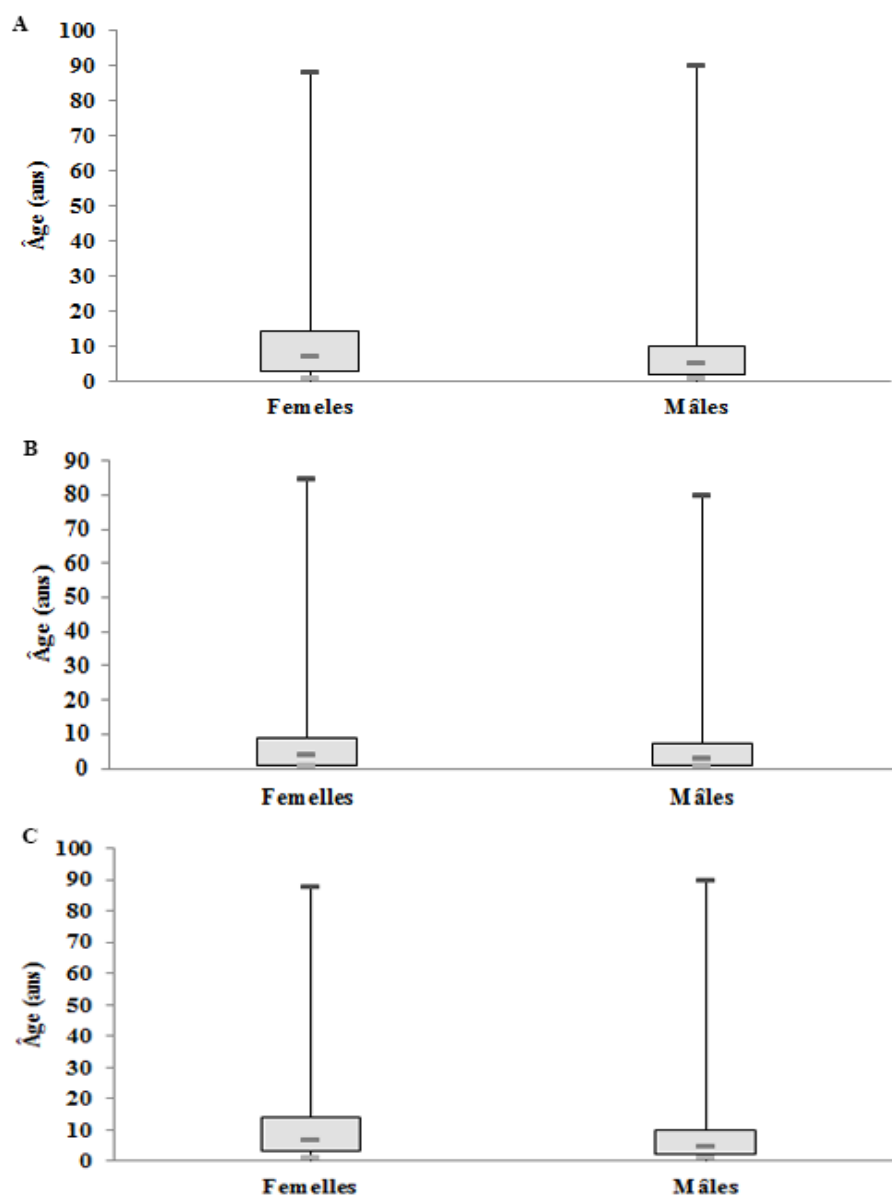


Figure 16. Boîtes à moustaches représentant la répartition d'âge des cas de la leishmaniose cutanée chez les deux sexes dans les provinces de 2009 à 2015. A : Azilal, B: Béni Mellal et C: Fquih Ben Salah.

4. EVOLUTION DE LA STRUCTURE D'AGE EN FONCTION DES ANNEES

Elle est importante de voir si l'âge à risque est le même en fonction des années et donc si on peut suspecter l'existence d'un phénomène d'acquisition d'une immunité naturelle. Pour cela, nous avons analysé la structure d'âge des cas de la LC selon les années. La figure 17, regroupe les boîtes à moustaches correspondantes qui paraissent différentes. Ce qui veut dire que les tranches d'âge à risque varient d'une année à l'autre.

À Azilal, la tranche d'âge était relativement la même (Fig. 17A). À Béni Mellal et Fquih Ben Salah, les âges sont plus grandes (Fig. 17B, 17C). Les rapports de corrélation entre l'âge et l'année étaient

0,28, 0,41 et 0,39 dans les provinces d’Azilal, de Béni Mellal et de Fquih Ben Salah, respectivement. Dans la province d’Azilal, la variation des fluctuations d’âge a diminué après chaque année. Cela pourrait être dû à l’acquisition du système immunitaire. De plus, dans les deux provinces (Béni Mellal et Fquih Ben Salah), la grande différence d’âge pourrait être due à la nouvelle installation de LC.

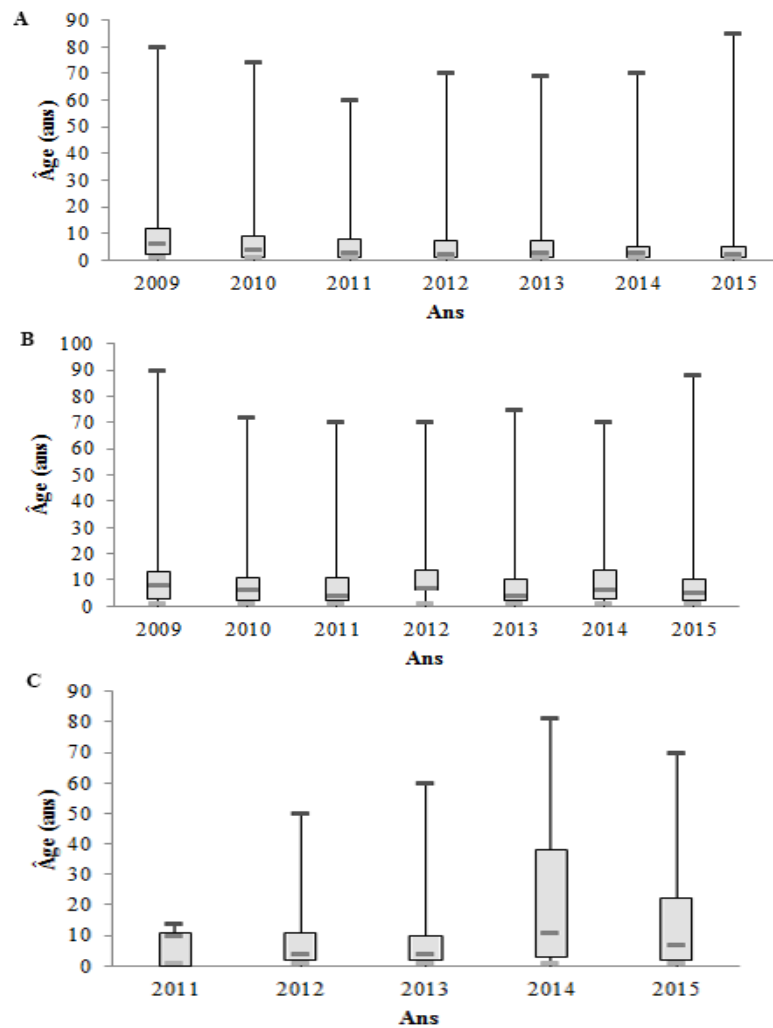


Figure 17. Boîtes à moustaches représentant la répartition d’âge des cas de la leishmaniose cutanée chez les deux sexes dans les provinces de 2009 à 2015. A : Azilal, B : Béni Mellal et C : Fquih Ben Salah.

II. FACTEURS DE RISQUE SPATIAL

Le risque spatial concerne la distribution des cas en fonction des provinces, des localités et la de la dynamique spatiale.

1. LES PROVINCES A RISQUES

La distribution des cas selon les provinces (Fig. 18), montre que la province d'Azilal est plus touchée. Elle regroupe 80,21% des cas enregistrés, suivi par la province de Béni Mellal (15%), puis la province de Fquih Ben Salah (5%).

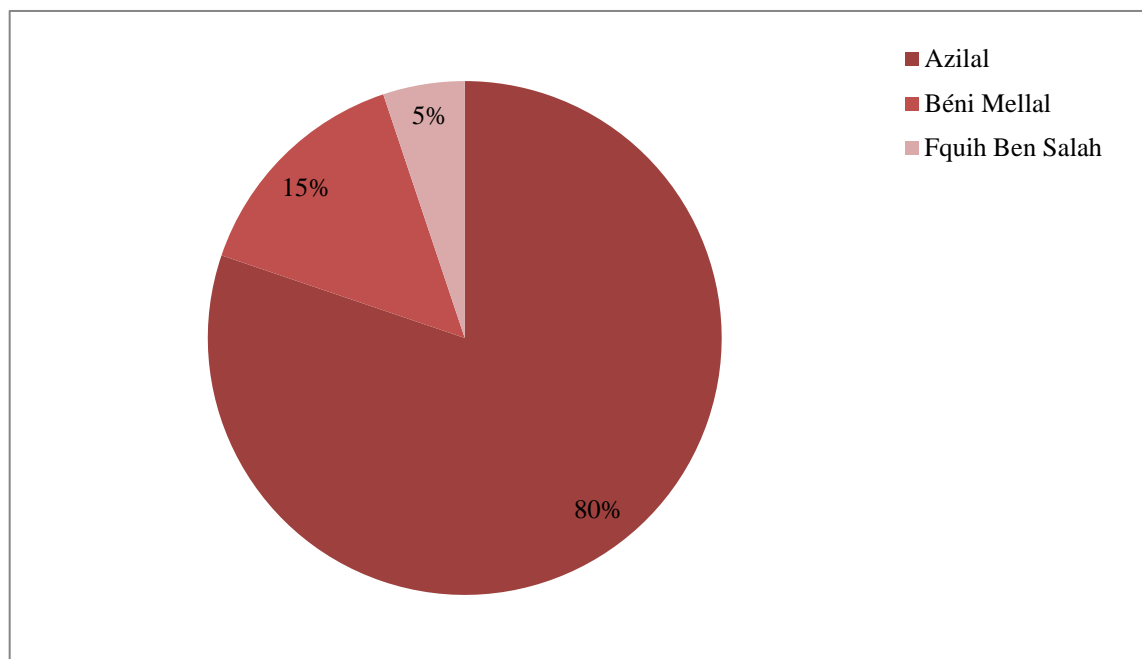


Figure 18. Répartition de la leishmaniose cutanée entre 2009 et 2015 selon les provinces du foyer de Tadla-Azilal.

2. LOCALITES A RISQUE

La répartition de la maladie en fonction des localités dans le foyer de Tadla-Azilal est présentée dans le tableau 7.

Nous remarquons que dans la province d'Azilal, les localités les plus touchées sont : Bzou (489 cas), Afourer (433 cas), Foum Jamaa (386 cas) et Tanant (207 cas). A Béni Mellal, les localités de Zaouiat Cheikh (202 cas) et de Béni Mellal (90 cas) sont les plus concernées.

3. DYNAMIQUE SPATIALE DE LA MALADIE EN FONCTION DES ANNEES

Pour évaluer la dynamique spatiale de la maladie entre les localités, nous avons dressée des cartes avec le logiciel ArcGIS pour chacune des années de 2009 à 2015.

D'après les figures A, B, C, D, E, F et G (Fig. 19), la dynamique spatiale de la maladie variait selon les années :

- En 2009, pour la première fois, la LC est apparue dans la province de Béni Mellal, elle est enregistrée dans les zones montagneuses ;

- En 2010, la propagation de la maladie continue de la province d'Azilal aux nord-ouest de la province de Fquih Ben Salah et aux localités montagneuses du sud-est ;
- De 2011 à 2012, la situation est stable. Entre 2013 et 2014, une diminution du nombre de cas de la maladie est remarquable avec une recolonisation des zones endémiques et une augmentation du nombre de cas en 2015 ;
- En 2015, elle est enregistrée dans 25 secteurs et 210 localités. A Azilal, la maladie est largement répandue (703 cas).

En général, la dynamique spatiale de LC dans le foyer de Tadla-Azilal montre une apparition de la maladie dans les provinces de Fquih Ben Salah et de Béni Mellal en 2009 et 2011, respectivement. De plus, la migration de la maladie vers les zones du piémont de la montagne.

Tableau 7. Répartition des cas de leishmaniose cutanée dans différentes localités entre 2009 et 2015 dans la région de Tadla-Azilal

Province	Localités	Années							Total
		2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
Azilal	Afourer	145	61	44	42	51	51	39	433
	Ait Attab	5	16	11	5	10	32	13	92
	Ait Majden	8	16	1	5	3	0	9	42
	Azilal	5	9	12	3	0	0	0	29
	Bzou	85	90	45	67	90	62	50	489
	Bni Hassane	53	62	26	23	11	0	19	194
	Bin Elouidan	11	8	8	8	2	0	2	39
	Beni Ayyat	35	2	0	0	0	0	0	37
	Demnate	2	8	4	6	1	0	4	25
	Foum jamaa	41	51	33	40	58	69	94	386
	Timouilte	28	21	19	14	1	0	7	90
	Tabia	10	29	17	25	4	0	24	109
	Tiski	20	50	40	21	12	0	35	178
	Taounza	4	7	17	18	9	0	9	64
	Tilouguite	2	0	13	4	4	0	1	24
	Tibihite	3	0	0	10	0	0	0	13
	Ouaouizrt	87	23	19	19	26	28	4	206
	Tanant	33	38	35	31	23	21	26	207
	My Aissa Ben Driss	5	0	1	0	0	0	0	6
	Sidi Ali Ben Brahim	0	4	1	4	4	0	18	31
Tanfarda	0	12	24	6	1	0	3	46	
Tidli	0	28	6	2	6	6	0	48	
Tislit	0	11	0	5	0	0	0	16	
Bouchiba	0	0	10	2	5	0	4	21	
Béni Mellal	Foum oudi	0	0	14	11	19	0	0	44
	Foum Al-Anser	7	16	9	6	7	1	5	51
	Béni Mellal	13	17	22	9	13	6	10	90
	Fariyata	1	3	1	8	1	3	4	21
	Tagzirt	2	7	3	7	4	8	2	33
	Tanougha	7	11	10	12	13	8	12	73
	Tadla	1	0	0	1	0	0	0	2
	Zaouiat cheikh	47	19	17	26	43	19	31	202
Fquih Ben Salah	Ouled Ayyad	16	5	14	29	40	32	33	169
	Had Boumoussa	0	1	1	0	0	6	4	12
Total		676	625	477	469	461	352	462	3522

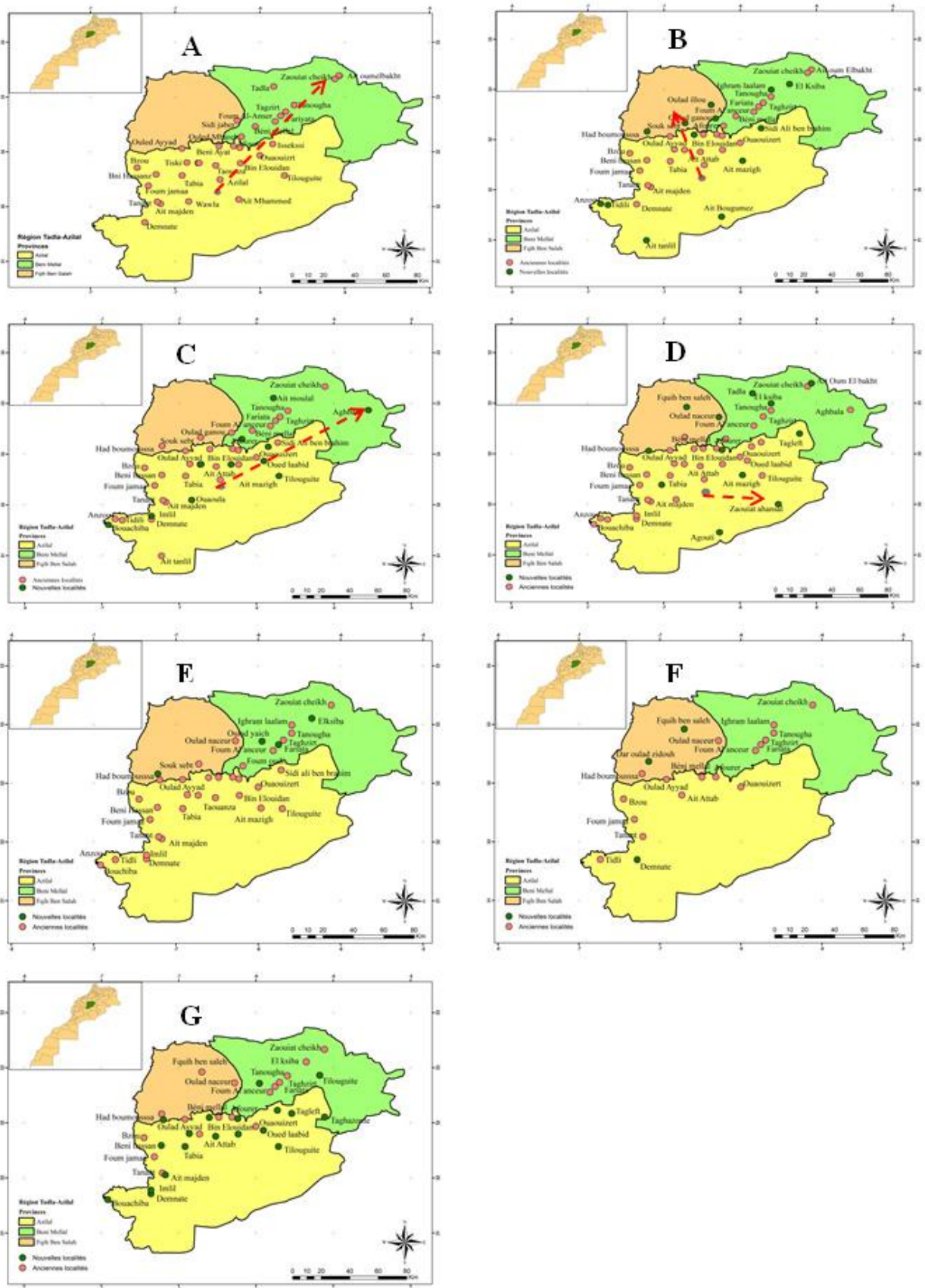


Figure 19. Répartition des cas de la leishmaniose cutanée dans le foyer de Tadla-Azilal. A : 2009, B: 2010, C: 2011, D: 2012, E: 2013, F: 2014, G: 2015.

4. REPARTITION DE LA MALADIE EN FONCTION DE L'ALTITUDE

Le risque spatial concerne également la distribution de la maladie dans le foyer d'étude en fonction de l'altitude (Fig. 20). Deux zones très répandues pour la LC ont été remarquées ; une située entre 400 m et 500 m, et la deuxième de 800 m à 900 m. La LC est observée également dans les zones entre 500 m et 800 m.

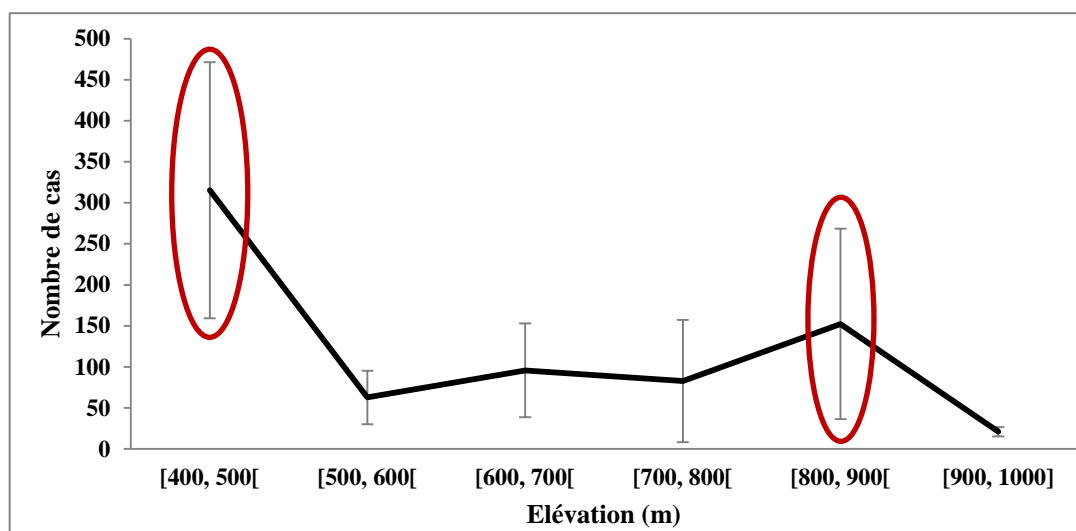


Figure 20. Nombre annuelle moyenne de cas de leishmaniose cutanée dans les différentes altitudes dans la région de Tadla-Azilal de 2009 à 2015.

III. FACTEURS DE RISQUE TEMPOREL

Pour estimer la période à risque de la maladie par rapport au temps, nous avons analysé le nombre de cas enregistré de 2009 à 2015 dans les altitudes du foyer d'étude selon le mois du diagnostic (Fig. 21).

La durée du diagnostic était longue, variait de 9 à 10 mois dans les localités situées entre 500 m et 800 m (Tabia, Tiski, Zaouiat Cheikh, Ait Attab). Les cas ont commencé à apparaître en octobre jusqu'à juin-juillet. Contrairement, cette période a été courte, à Bzou et Afourer (de décembre à mai-juin), Tanant, et Ouaouizerth (de février à juin). Cela pourrait être lié à la saisonnalité des populations vectrices de LC dans ce foyer.

Localités	Élévation (m)	Mois											
		D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Bzou	429												
Afourer	491												
Tabia	559												
Tiski	677												
Zaouiat Cheikh	716												
Ait Attab	796												
Foum Jamaa	813												
Tanant	885												
Ouaouizerth	861												

— Période de diagnostic — Maximum de cas de LC — Minimum de cas de LC Absence de diagnostic

Figure 21. Mois de diagnostic des cas de LC à différentes altitudes dans le foyer de Tadla-Azilal entre 2009 et 2015.

DISCUSSION

Le foyer de Tadla-Azilal est un ancien foyer de *L. tropica* au Maroc. Il représente le premier endroit où ce parasite a été signalé au Maroc, précisément à Tanant (province d’Azilal) en 1987 (Marty *et al.*, 1989). La leishmaniose cutanée évolue d’une façon stable dans ce foyer.

L’analyse rétrospective de la maladie entre 2009 et 2015, nous a permis de caractériser le risque leishmanien à savoir le risque populationnel, spatial et temporel. D’abord, les analyses du premier niveau de risque ont trouvé que les femmes sont plus infestées par la LC que les hommes. Les mêmes résultats obtenus dans les foyers de Chichaoua (Guernaoui, 2006), El Haouz (Ramaoui *et al.*, 2008), et Sidi Kacem (El Miri *et al.*, 2016) ainsi que dans autres pays comme le sud de l’Iran (Khosravani *et al.*, 2016). Ceci pourrait être lié aux activités domestiques des femmes qui sont, contrairement aux hommes, tout le temps exposées au vecteur.

L’analyse de l’âge a montré que tous les âges sont concernés mais les tranches les plus touchées sont celles de moins de 10 ans. Ceci dépend de l’état immunitaire des enfants (Özkeklikçi *et al.*, 2016; Shirzadi *et al.*, 2015). Les résultats sont semblables à ceux trouvés à Chichaoua, et El Haouz par Guernaoui, (2006) et Ramaoui *et al.*(2008). Ceci pourrait être expliqué par la capacité péri-domiciliaire de vecteur *P. sergenti* à transmettre *Leishmania*

La structure d’âge varie en fonction du sexe et également d’une année à l’autre. Cette différence pourrait être expliquée par une éventuelle acquisition d’immunité au cours des années. Ceci a été déjà remarqué dans le foyer de Chichaoua.

Dans le but de comprendre comment se fait la dissémination du parasite et par conséquent de la LC, nous avons analysé la dynamique spatiale de la maladie en fonction des localités de 2009 à 2015. Cette analyse montre une apparition de la maladie dans les provinces de Fquih Ben Salah et Béni Mellal en

2009 et 2011, respectivement. Dans la province d'Azilal, il y a une endémie stable dans les zones où la maladie est très ancienne. D'une façon générale, nous observons que la maladie migre vers les piémonts du Haut-Atlas.

Les résultats de l'analyse spatiale montrent que la province d'Azilal est la province à risque. La distribution de la LC dans cette province a intéressé essentiellement les localités de Bzou, Afourer, Fom Jamaa et Tanant. De plus, deux zones altitudinales sont largement répandues pour la LC ; une de 400 m à 500 m et l'autre entre 800 m et 900 m. Entre 500 m et 800 m, la période de diagnostic commence en octobre et se termine en juin-juillet. Elle est courte à Bzou, Afourer, Tanant et Ouauizerth. Cela pourrait être lié à la saisonnalité des populations vectrices de LC dans le foyer de Tadla-Azilal

CHAPITRE IV
INVENTAIRE, DESCRIPTION ET INTERET
MEDICAL DES ESPECES

Cet inventaire présente les espèces collectées avec des détails sur leur morphologie, répartition géographique et leur intérêt médical.

La liste des espèces comptées dans le foyer concerné compte onze espèces de phlébotomes, appartiennent à cinq sous genres. Les espèces inventoriées sont indiqués dans le tableau 8.

Lors des identifications, nous n'avons pas pu à identifier avec exactitude 30 spécimens ; 11 appartenant au genre *Phlebotomus* et 19 appartenant au genre *Sergentomyia*, vu leur état détérioré.

Tableau 8. Inventaire des espèces phlébotomiennes collectées dans la région de Béni Mellal-Khénifra

Genre	Sous genre	Espèce
<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus papatasi</i> Scopoli, 1786
	<i>Paraphlebotomus</i>	<i>Phlebotomus alexandri</i> Sinton, 1928 <i>Phlebotomus sergenti</i> Parrot, 1917
	<i>Larrousius</i>	<i>Phlebotomus langeroni</i> Nitzulescu, 1930 <i>Phlebotomus longicuspis</i> Nitzulescu, 1930 <i>Phlebotomus mariae</i> Rioux, Croset, Léger et Bailly-Choumara, 1974 <i>Phlebotomus perniciosus</i> Newstead, 1911
<i>Sergentomyia</i>	<i>Sergentomyia</i>	<i>Sergentomyia antennata</i> Newstead, 1912 <i>Sergentomyia fallax</i> Parrot, 1921 <i>Sergentomyia minuta</i> parroti Adler & Theodor, 1927
	<i>Grassomyia</i>	<i>Sergentomyia dreyfussi</i> Parrot, 1933

I. GENRE *PHLEBOTOMUS* RONDANI ET BERTE, 1840

Ce genre est représenté dans notre échantillon par les sous genres *Larrousius* (complexe *P. perniciosus*, *P. langeroni*, et *P. mariae*), *Phlebotomus* (*P. papatasi*), et *Paraphlebotomus* (*P. sergenti* & *P. alexandri*).

Les critères d'inclusion dans ce genre sont d'après Guernaoui (2006) :

- Soies des tergites abdominaux toutes dressées ;
- Formule antennaire 2/III-XV chez la femelle ; existence de deux sarcoïdes au moins jusqu'au sixième segment antennaire pour le mâle;
- armature cibariale absente ou rudimentaire;
- 4 à 5 épines sur le style;
- Coxite avec des soies longues sur la surface ventrale ou latérale;

- spermathèques complètement ou incomplètement segmentées.

1. SOUS GENRE *PHLEBOTOMUS* S.STR. RONDANI ET BERTE, 1840

Il possède un intérêt épidémiologique spécifique car il comprend des espèces vectrices de leishmaniose cutanée due à *L. major*.

D'après Guernaoui (2006), l'inclusion dans ce sous genre est basée principalement sur:

- La formule antennaire 2/III-XV chez les deux sexes ;

Chez le mâle :

- la présence des soies au niveau des tergites abdominaux II et VI qui sont régulièrement dressées ;
- cibarium interne ;
- lobe latéral armé ;
- style de 4 à 5 épines insérées à des niveaux différents et dépourvu de soie caduque.

Chez la femelle :

- pharynx armé de dents squamiformes ;
- spermathèque annelée avec une tête arrondie en bouton.

1.1 *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786

Critères d'identification

Le sous genre *Phlebotomus* est indiqué par *P. papatasi*. Le mâle a une génitalia bien développé (Fig. 22). Le style est long, avec cinq épines courtes dont deux sur le tiers distal et trois terminales. Le coxite porte un petit lobe basal garni de quelques soies courtes et une dizaine de soies longues sur sa partie sub-terminale. La valve pénienne est courte avec une extrémité mousse. Le lobe basal porte à l'extrémité deux épines.

Le pharynx de la femelle de *P. papatasi* est armé de dents squamiformes. La spermathèque est annelée, sans col, avec six à dix annulations dont la dernière de même taille que les précédentes et une tête arrondie en bouton. Le pharynx postérieur est armé d'une plage de dents écailleuses irrégulières dans leur forme et leur implantation.

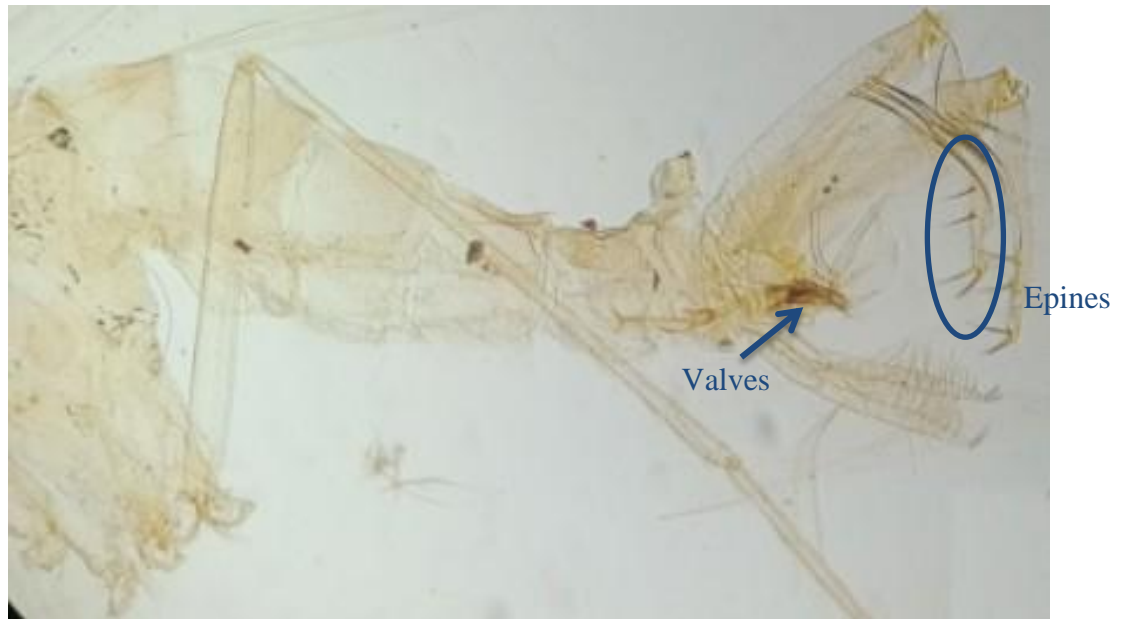


Figure 22. Genitalia mâle de *Phlebotomus papatasi* (G: x400).

Répartition géographique

P. papatasi a été décrit en Italie et remarqué en premier temps en Grèce en 1911. Elle est la plus étudiée à cause de son abondance et de l'importance de son surface de distribution géographique (Lewis, 1982). En Afrique, elle pousse vers le sud en suivant la vallée du Nil et atteint la région éthiopienne au niveau de la République du Soudan. Généralement, elle est récoltée dans tous les pays et compte parmi les espèces les plus fréquentes (Bailly-Choumara *et al.*, 1971; Rioux *et al.*, 1997). *P. papatasi* est rare dans les zones humides et elle est bien adaptée aux zones arides. Elle est remplacée par *P. bergeroti* dans le centre et le sud du Sahara et par *P. duboscqi* en Afrique.

P. papatasi est décrit pour la première fois au Maroc par Delanoë en 1916. Il est rare dans les zones humides et abondant dans les zones arides. C'est une espèce récoltée dans tout le pays (Guernaoui *et al.*, 2005b ; Lahouiti *et al.*, 2013 ; Talbi *et al.*, 2015 ; Zouirech *et al.*, 2013, 2015, 2018 ; Kahime *et al.*, 2015).

Intérêt médical

P. papatasi est l'un des vecteurs essentiels de LC (Hanafi-Hanafi *et al.*, 2007) et il est le vecteur prouvé de *L. major* (Killick-Kendrick, 1990).

En Algérie, son rôle dans la transmission de la LC a été démontré par Sergent *et al.* (1921). Dans les prélèvements d'Izri *et al.* (1992), ils ont été trouvés *L. major* MON-25. Ce résultat confirme le rôle de *P. papatasi* dans la transmission de LCZ. Ce rôle a été prouvé dans plusieurs pays; comme l'Arabie Saoudite (Killick-Kendrick *et al.*, 1985), Tunisie (Ben-Ismail, 1987), Egypte (Hanafi Hanafi *et al.*, 2007) et le Maroc (Rioux *et al.*, 1986b).

Au Maroc, la transmission du parasite se fait par le biais du *P. papatasi*, dont le réservoir est appelé *Meriones shawi* (Rioux *et al.*, 1982). Seule la souche *L. major* MON 25 a été identifiée biochimiquement chez le réservoir, l'homme et le vecteur (Rioux *et al.*, 1986b).

2. SOUS GENRE *LARROUSSIUS* NITZULESCU, 1931

Les espèces du sous genre *Larroussius* forment un groupe relativement homogène et bien individualisé, avec 26 espèces (Lewis, 1982). Leur rôle est prouvé dans la propagation de *L. infantum* (Rioux *et al.*, 1986d).

Les critères d'inclusion dans ce sous genre sont d'après Guernaoui (2006) :

Chez le mâle :

- Style court avec cinq longues épines, dont trois médianes et deux terminales;
- Lobes latéraux non armés ;
- Filaments génitaux partiellement courts.

Chez la femelle :

- Pharynx avec une armature formée de nombreuses petites dents punctiformes ;
- Spermathèques segmentées avec un long processus terminal.

2.1 *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911

Critères d'identification

Le mâle de *P. perniciosus* est caractérisé par un style avec 5 épines, des valves péniennes bifurquées à l'extrémité (Fig. 23). Le nombre de soies médianes du coxite présente généralement un nombre inférieur à 18 soies. La fourche terminale très polymorphe à pointes égales ou inégales et pourvues ou non de denticulations latérales (Guernaoui *et al.*, 2005a).

Le corps de la spermathèque de la femelle est constitué d'une dizaine d'anneaux. Le processus terminal avec un long cou diminue progressivement de diamètre de la base à l'extrémité distale avec une petite tête arrondie.



Figure 23. Génitalia mâle de *Phlebotomus perniciosus* (G : x400).

Répartition géographique

Elle a été signalée la première fois dans l’île de Malte par Newtsead (1911). Elle est bien répartie dans le bassin méditerranéen, spécialement dans la partie septentrionale, jusqu’à la lisière saharienne (Rioux *et al.*, 1967). Elle est ouest méditerranéenne dont l’aire de répartition en Europe s’étale du Portugal à la Slovénie. En Afrique du Nord, elle est retrouvée surtout dans la partie septentrionale jusqu’au Sahara centrale (Bailly-Choumara *et al.*, 1971).

P. perniciosus est largement répandu en Algérie où pour la première fois il a été signalé par Sergent (1941). Il s’est récupéré dans tous les étages bioclimatiques, avec une abondance dans les régions humides (Berchi, 1993).

Au Maroc, le complexe *P. perniciosus* au nord du Maroc est composé de trois espèces (Pesson *et al.*, 2004) :

- *P. perniciosus* avec deux formes, une forme typique et une autre atypique ;
- *P. longicuspis* qui peut être confondu avec la forme atypique de *P. perniciosus*;
- une espèce cryptique de *P. longicuspis*.

L’espèce *P. perniciosus* est signalée dans les alentours de Rabat (Gaud & Laurent, 1952). En 1971, Bailly-Choumara *et al.* l’ont identifié dans plusieurs régions naturelles (Haut-Atlas, Maroc Oriental...). Rioux *et al.* (1977) ont trouvé que *P. perniciosus* est plus fréquente dans le Rif (Kétama-Al Hoceima).

P. perniciosus est collecté dans plusieurs provinces marocaines ; telle que les provinces de Chichaoua (Guernaoui *et al.*, 2005a), Sidi Kacem et Moyulay Yakoub (El Miri *et al.*, 2013), de Sefrou

(Talbi *et al.*, 2015), et la province d'Azilal (Zouirech *et al.*, 2013, 2015). Cette espèce se rencontre à l'étage subhumide (Rioux *et al.*, 1984). Guernaoui (2006) l'a retrouvé essentiellement dans un bioclimat humide à semi-aride. De plus, elle se trouve en abondance importante entre 1000 m et 1200 m (Guernaoui *et al.*, 2006a).

Intérêt médical

De point de vue épidémiologique, *P. perniciosus* est l'une des espèces les plus importantes, vu son rôle primordial dans la transmission de *L. infantum* dans le bassin méditerranéen. Dès 1925, il a été suspecté par Sinton. Ce ne fut qu'en 1930 que Parrot *et al.*, réussirent à confirmer son rôle dans la transmission de *L. infantum* à Alger (Dedet *et al.* 1984). La transmission de l'agent pathogène par cette espèce a été prouvée dans plusieurs pays : Arabie Saoudite (Killick-kendrick *et al.*, 1985), Maroc (Rioux *et al.*, 1986c), Tunisie (Ben-Ismail *et al.*, 1987), Egypte (Mansour *et al.*, 1991), Espagne et Italie (Ben-Ismail, 1993, Muñoz *et al.*, 2017).

2.2 *Phlebotomus longicuspis* Nitzulescu, 1930

Critères d'identification

Le mâle de *P. longicuspis* a un style à cinq épines; l'édéage à extrémité simple effilée et plus ou moins incurvée et le nombre de soies médianes du coxite est supérieur à 18 soies. Les valves se terminent par un point unique, long et pointu (Fig. 24).

La femelle est très difficile à distinguer de celle de *P. perniciosus* avec une spermathèque avec dix à douze segments. Le pharynx postérieur est de morphologie voisine de celle de *P. perniciosus*. Léger *et al.* (1983) ont identifié la femelle au bulbe annexé à la partie terminale des conduits de la spermathèque.

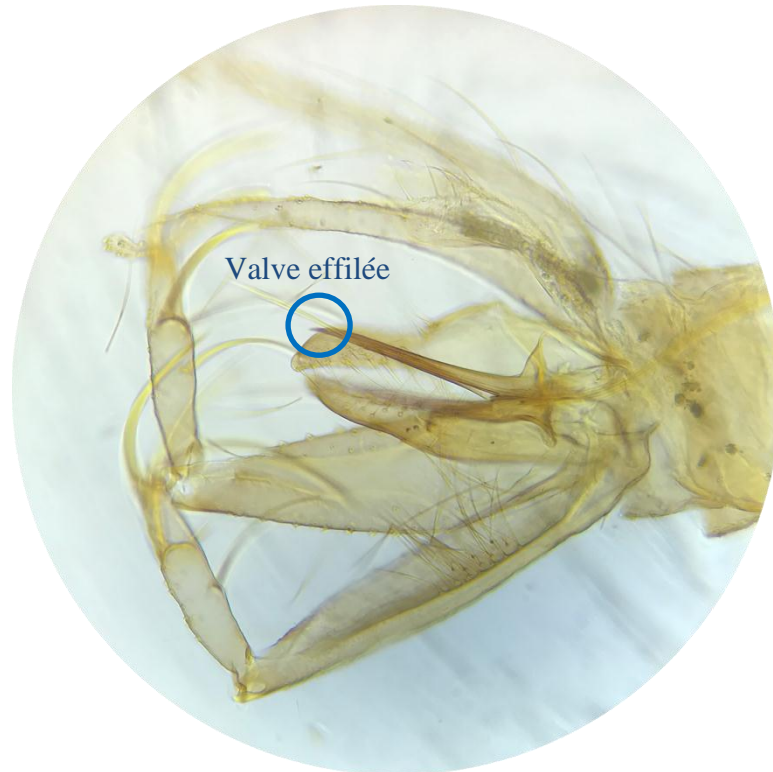


Figure 24. Génitalia mâle de *Phlebotomus longicuspis* (G : x400).

Répartition géographique

C'est une espèce sympatrique sur le quasi la totalité du territoire de répartition de *P. perniciosus* (Bounamous, 2010).

Parrot a signalé *P. longicuspis* la première fois en Algérie en 1936 et en 1951, à Alger. En 1998, Benabdenebi a mentionné que la distribution de cette espèce s'étend de la Lybie au Maroc en Afrique du nord et de façon sporadique en Espagne. Depaquit *et al.* (2005) ont identifié des *P. longicuspis* à Ouagadougou et Burkina Faso. Cette espèce est collectée essentiellement dans l'étage bioclimatique subsaharien (Ayadi *et al.*, 1991 ; Zhioua *et al.*, 2007).

Au Maroc, spécialement au sud du pays (localité de Taghjich), *P. longicuspis* a été identifié pour la première fois par Ristorcelli (1939). Bailly-Choumara (1971) ont montré la répartition de cette espèce dans différents étages bioclimatiques.

Intérêt médicale

En Algérie, Parrot *et al.* (1941) ont considéré *P. longicuspis* comme vecteur de *L. infantum*. En Tunisie, le rôle vecteur de cette espèce dans la LV est confirmé par Zhioua *et al.* (2007).

2.3 *Phlebotomus langeroni* Nitzulesci, 1930

Critère d'identification

Le mâle a un style à cinq épines et la valve pénienne arquée et spatulée à l'apex, son bord dorsal avec 4 à 6 dents (Fig. 25).

Le corps de la spermathèque de la femelle présente une quinzaine d'anneaux, portant un cou grêle rétréci à la partie distale. Le conduit de la spermathèque est uniforme et strié transversalement sur toute sa longueur.

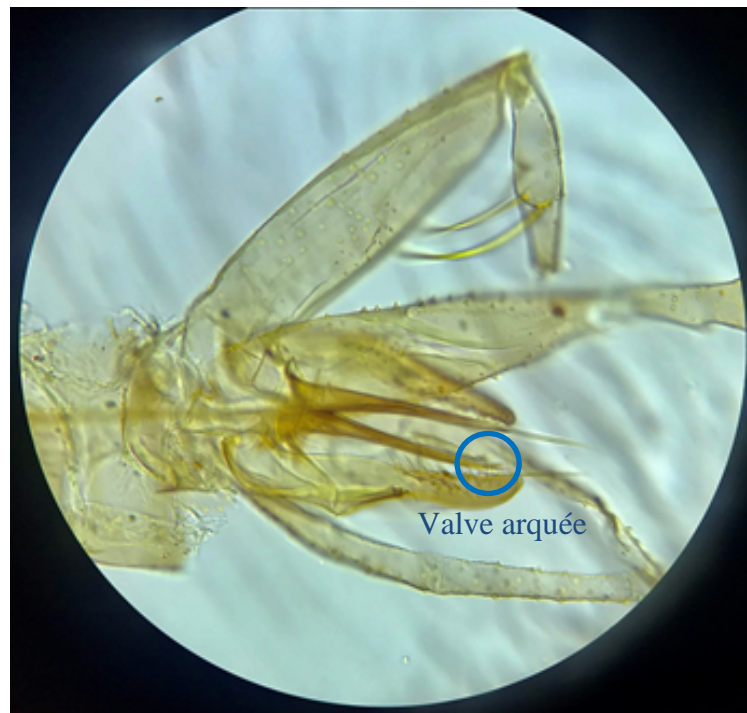


Figure 25. Génitalia mâle de *Phlebotomus langeroni* (G : x400).

Répartition géographique

P. langeroni a été décrit pour la première fois dans le nord de la Tunisie. Un spécimen femelle a été décrit pour la première fois à El Agamy, Alexandrie (El Sawaf *et al.*, 1989).

De petits nombres de cette espèce ont été signalés plus tard dans l'Afrique du Nord (Croset *et al.*, 1978, Es-sette *et al.*, 2014) où elle est considérée comme une espèce endémique. Cependant, sa présence n'a été évaluée que dans les régions septentrionales de ces pays, mais pas dans les régions méridionales (Rioux *et al.* 1986a, Fares *et al.*, 2015). Au Liban, un seul spécimen mâle de cette espèce a été identifié (Haddad *et al.* 2003).

En Europe, la présence de *P. langeroni* n'a été signalée qu'en petit nombre dans les zones du centre et du nord de l'Espagne (Martinez Ortega *et al.*, 1992, Lucientes *et al.*, 1994).

Au Maroc, une faible abondance de cette espèce a été trouvée dans le nord du pays (Zerrouk, 2018).

Intérêt médical

P. langeroni est un vecteur prouvé de *L. infantum* car il répond à tous les critères établis pour incriminer une espèce comme vecteur (Killick-Kendrick, 1990), sa distribution spatiale est associée à des cas humains de la maladie ; il devient naturellement infesté par *L. infantum* et transmet la maladie (El Sawaf *et al.*, 1989; Guerbouj *et al.*, 2007, Kassem *et al.*, 2012).

2.4 *Phlebotomus mariae* Rioux, Croset, Léger et Bailly-Choumara, 1974

Critère d'identification

Chez le mâle, le style a cinq épines bien étendues et la touffe de soies ornant la face interne du coxite compte de 25 à 30 poils, groupés en une tache relativement nette. Le lobe latéral grêle et plus long que le coxite. Les valves péniennes sont longues, effilées et directement renflées à leur extrémité libre.

La femelle *P. mariae* reste inconnue.

Répartition géographique

Le mâle de *P. mariae* a été décrit seulement au Maroc. Il a été signalé pour la première fois dans le sud du Maroc, exactement sur le versant sud du Haut-Atlas par Rioux *et al.* (1974). Après Guernaoui *et al.* (2005a) ont retrouvé quatre mâles (un au Moyen-Atlas et trois dans le Haut-Atlas).

3. SOUS GENRE *PARAPHLEBOTOMUS* THEODOR, 1948

Les critères d'inclusion dans ce sous genre sont (Guernaoui, 2006):

Pour le mâle :

- style court avec cinq épines longues et spatulées, dont trois terminales ;
- à la base de coxite existe un lobe basal composé d'une touffe de longues soies ;
- paramère trilobé latéral armé de deux épines terminales ;
- les valves péniennes courtes sont soit pointues ou sous forme d'un crochet ;
- lobe latéral plus long que le coxite.

Chez la femelle :

- pharynx armé de dents grossières plus ou moins allongées ;
- spermathèque segmentée. Généralement, le premier segment terminal de taille plus importante et les conduits débouchant indépendamment dans l'atrium génital.

3.1 *Phlebotomus alexandri* Sinton, 1928

Critère d'identification

Chez le mâle, le style allongé porte quatre épines ; une terminale, une sub-terminale et deux médianes. Le lobe basal court, trapu, nettement dilaté à l'extrémité, en pomme d'arrosoir, et surmonté d'une touffe de soies longues et fournies. Le lobe latéral est relativement court, ne dépassent pas la longueur du coxite. La pompe génitale est grêle, avec un pavillon peu évasé. Les valves péniennes mousses à leurs extrémités et légèrement recourbées sont identiques à celles de *P. sergenti* (Fig. 26).

Chez la femelle, la spermathèque annelée, comprend cinq à sept anneaux (le terminal est dilaté). Le pharynx postérieur armé d'un réseau de fortes dents écailleuses régulièrement disposées.



Figure 26. Génitalia mâle de *Phlebotomus alexandri* (G : x400).

Répartition géographique

P. alexandri décrit en Algérie pour la première fois (Parrot, 1936). Sa distribution est très large (Artemiev & Netronov, 1984, Neronov *et al.*, 1987). Il s'étend du Maroc à la Mongolie (Depaquit *et al.*, 2000a).

Au Maroc, *P. alexandri* a été trouvé dans le Sud de l'Atlas saharien (Bailly-Choumara *et al.*, 1971), et les montagnes des Hauts-Atlas (Guernaoui *et al.*, 2006a).

Intérêt médical

P. alexandri est un vecteur prouvé de Kala-azar en chine (Guan *et al.* 1986). Il est aussi suspecté comme vecteur de LV en Chine (*in* Lewis, 1982) et dans le sud d'ex URSS (Petrisheva, 1971).

C'est un vecteur suspecté de *L. tropica* (Depaquit *et al.*, 2000a) et en Egypte, c'est un vecteur potentiel de *L. tropica* (Hanafi Hanafi *et al.*, 2007). En Iraq, *P. alexandri* représente un vecteur prouvé de *L. infantum* responsable de LV et de *L. donovani* (Coleman *et al.*, 2006, Azizi *et al.*, 2006, Depaquit *et al.*, 2000a).

Au Maroc, aucun rôle ne lui a été attribué.

3.2 *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917

Critère d'identification

Chez le mâle, le style porte quatre épines dont un terminal et les trois à des niveaux différents. Le lobe basal est étroit, court et coudé. Les lobes latéraux sont légèrement plus longs que le coxite. Les valves péniennes ont une des extrémités mousses et légèrement recourbées (Fig. 27).

Chez la femelle, la spermathèque est annelée, avec un nombre de trois à sept anneaux. Le dernier anneau nettement individualisé et dilaté. Les conduits sont striés sur toute leur longueur. Le pharynx postérieur est armé de fortes écailles régulièrement disposées sur le 1/5 postérieur de l'organe.

En 1963, Perfiliev (*in* Lewis, 1982) décrit la sous espèce *P. similis* à partir de 25 spécimens d'origine du Caucase, du sud de la Crimée et du sud de l'Ukraine. Les différences morphologiques concernant le troisième segment antennaire et le lobe basal justifient sa description.

En 1984, Artemiev & Neronov, élèvent *P. sergenti similis* au rang d'espèce en se basant sur la présence de dents vers l'extrémité antérieure du pharynx chez les *P. similis* qui sont absents chez *P. sergenti*. En 2002, Depaquit *et al.* ont accordé un statut spécifique à *P. similis* et à *P. sergenti* reposé sur des caractères morphologiques (Depaquit *et al.*, 1998a) et moléculaires (Depaquit *et al.*, 2000a). Ils montrent également la présence de *P. sergenti* dans le sud et l'ouest du bassin méditerranéen qui est remplacé par *P. similis* dans le nord-est de cette région (Depaquit *et al.*, 2000a).



Figure 27. Génitalia mâle de *Phlebotomus sergenti* (G : x400).

Répartition géographique

Le mâle *P. sergenti* est décrit d'Algérie (Parrot, 1917) et la femelle est décrite du Portugal (França, 1918). Ce phlébotome couvre tout le bassin méditerranéen, le sud Sahara, la Péninsule arabique, le Moyen-Orient et l'Ethiopie et il est remplacé dans le nord-est de cette région par *P. similis* (Depaquit *et al.*, 2000a).

Au Maroc, *P. sergenti* est répandu dans tout le patrimoine (Bailly-Choumara *et al.*, 1971; Rioux *et al.*, 1984). Cette espèce est récoltée dans plusieurs provinces, c'est le cas de Chichaoua, Moulay Yacoub, Sefrou, Azilal et au Maroc central et de sud (Guernaoui *et al.*, 2005b; Laouiti *et al.*, 2014 ; Talbi *et al.*, 2015 ; Zouirech *et al.*, 2013, 2015 ; Kahime *et al.*, 2015). Cette espèce a une diversité génétique immense (Yahia *et al.*, 2004). Il est abondant dans les régions rurales ainsi que dans les habitats de la population rurale (Guernaoui & Boumezzough, 2009) où il a été capturé jusqu'à 1400 m avec une abondance entre 800-999 m (Guernaoui *et al.*, 2006a).

Intérêt médical

P. sergenti est le vecteur prouvé de *L. tropica* (Killick-Kendrick, 1999). Son rôle vecteur a été démontré d'abord, en Arabie Saoudite (Al Zahrani *et al.*, 1988), puis au Maroc (Guilvard *et al.*, 1991). Ce a été confirmé également en Israël (Jacobson, 2003 ; Schnur *et al.* 2004) et en Ethiopie (Gebre-Michael *et al.*, 2004).

La présence dans certains focus comme le Maroc, la Tunisie, le Syrie et l'Inde du même zymodème chez le chien et l'homme, pose néanmoins le problème d'une dynamique différente du cycle épidémiologique, selon les régions (Ajaoud *et al.*, 2015).

La capacité vectorielle de *P. sergenti* (Depaquit *et al.*, 2002) et le mécanisme de transmission vectorielle (Yahia *et al.*, 2004) peuvent être en relation avec l'existence de races ou d'espèce cryptiques. En Iran, trois lignées de *P. sergenti* ont été identifiées par l'analyse morphologique et moléculaire des populations de cette espèce en utilisant l'ADNm (Moin-Vaziri *et al.*, 2007). La présence éventuelle de la LC (*L. tropica* et *L. aethiopia*), et des réservoirs sauvages hôtes des parasites, en particulier rock hyrax dans le Haut et le Moyen-Aouache Valley restent à être déterminé (Gebre-Michael *et al.*, 2004).

II. GENRE *SERGENTOMYIA* FRANÇA ET PARROT, 1920

Le genre *Sergentomyia* regroupe 12 sous-genres (*in* Boussa, Artemiev 1991). Les critères d'inclusion dans ce genre sont d'après Guernaoui (2006):

- poils sur les tergites abdominaux sont couchés ou quelques soies dressées sur le bord postérieur ;
- soies abdominales couchées pour la plupart des espèces, quelques-unes dressées dans un des sous genre ;
- armature de la cavité buccale bien développée ;
- spermathèques tubulaires, ou en forme de capsule lisse, ou segmentées ;

Le génitalia des mâles possède un style avec quatre longues épines et une petite soie non caduque.

1. SOUS GENRE *SERGENTOMYIA* FRANÇA ET PARROT, 1920

D'après Artemiev (1991), ce sous genre comporterait 48 espèces réparties en 8 groupes. Les critères d'inclusion sont :

- Formule antennaire 1 : 1/III-XV chez le mâle et 2/III-XV chez la femelle ;
- Poils sur les tergites abdominaux sont uniformément ou presque uniformément couchés ;
- valve épaisse, digitiforme, arrondie à son extrémité ;
- spermathèque tubulaire et lisse, légèrement et régulièrement élargie dans sa partie distale.

1.1 *Sergentomyia minuta* parroti Adler & Theodor, 1927

Critères d'identification

Chez le mâle, le style est court, trapu, porte quatre épines terminales groupées et une soie non caduque insérée au niveau du tiers apical. Les valves pénienues épaisses, digitiformes et arrondies à l'apex (Fig. 28).

Chez la femelle, l'armature cibariale est très développée, sous forme d'une rangée transversale régulière d'une moyenne de 70 dents. La spermathèque sacciforme, non segmentée avec des parois parfaitement lisses, à réservoir indifférencié. Le pharynx porte de très fins denticules acérés. Le nombre de dents cibariales est un critère important permettant la distinction des sous espèces *S. minuta parrotti* et *S. minuta minuta*.



Figure 28. Génitalia mâle de *Sergentomyia minuta* (G : x400).

Répartition géographique

En 1943, Rondani décrit *S. minuta* comme une espèce nord-africaine de *S. minutus*. En 1958, Theodor considère que *S. minuta* est constitué de deux espèces, à savoir *S. minuta minuta* (40 dents en moyenne) et *S. minuta* (70 dents en moyenne).

La distribution de *S. minuta* est périméditerranéenne. Il se montre sur la bordure méridionale de la région méditerranéenne, du Maroc, à Chypre et de la Méditerranée au Sahara. En Algérie, les densités élevées ont été trouvées dans les étages subhumide et humide (Croset, 1969). Selon Russo *et al.* (1991) et Berchi (1993) le seuil maximal de la densité de *S. minuta* est remarqué dans l'étage semi-aride, diminuant progressivement aux étages subhumide et humide d'une part, aride et péri-aride d'autre part.

Au Maroc, *S. minuta* est une espèce largement ubiquiste (Bailly-Choumara *et al.*, 1971). Il est récolté dans les mêmes provinces où les espèces précédentes capturées (Guernaoui, 2006 ; Lahouiti *et al.*, 2014 ; Zouirech *et al.*, 2013, 2015 ; Kahime *et al.*, 2015).

Intérêt médical

Concernant le rôle vectoriel potentiel, *L. infantum* est isolé de *S. minuta* au Portugal (Peira *et al.*, 2017) et l'analyse des repas de sang a montré qu'il s'agit de sang humain. Récemment, Latrofa *et al.* (2018) ont détecté l'ADN de *L. infantum* dans *S. minuta* dans la zone endémique de la leishmaniose canine au sud d'Italie. Au Portugal, l'ADN de *L. major* a été détecté également dans un spécimen de *S. minuta* (Campino *et al.*, 2013). En 2015, Jaouadi *et al.* ont identifié *L. major* dans deux *S. minuta* en Tunisie.

1.2 *Sergentomyia fallax* Parrot, 1921

Critères d'identification

Le style du mâle de *S. fallax* est typiquement long (six à sept fois plus long que large) et fin, porte quatre épines longues, apicales et une soie non caduque. La valve pénienne digitiforme et légèrement renflée vers l'extrémité distale (Fig. 29).

Le cibarium de la femelle présente 16 à 18 dents aigues, disposées en arc de cercle assez strictement concave vers l'arrière. La spermathèque est tubulaire, à parois lisse. Le pharynx est cordiforme, fortement encoché dans sa partie postérieure.



Figure 29. Génitalia mâle de *Sergentomyia fallax* (G : x400).

Répartition géographique

S. fallax a été décrite en Algérie par Parrot (1921). Il est signalé au Maroc (Gaud, 1954 ; Bailly-Choumara *et al.*, 1971 ; Guernaoui *et al.*, 2005b ; Guernaoui, 2006), en Tunisie (Croset *et al.*, 1978),

en Lybie (Dedet *et al.*, 1984) et en Egypte (Lane, 1986, El Sawaf *et al.*, 1987). Généralement, *S. fallax* est une espèce d'Afrique du Nord. Il est abondant dans les zones aride et saharienne (Croset *et al.*, 1978). *S. fallax* est une espèce essentiellement selvatique. Elle peut être rencontrée à proximité des habitats.

1.3 *Sergentomyia antennata* Newstead, 1912

Critères d'identification

Le mâle de *S. antennata* a un style avec quatre épines apicales et une soie non caduque implantée en position subapicale. La valve pénienne digitiforme et renflée vers l'extrémité distale (Fig. 30).

Chez la femelle, l'armature cibariale porte une moyenne de dents égale 25 dents, rangées sur une ligne fortement concave vers l'arrière et doublées par une tache en forme de casque à pointe. Le pharynx postérieur est élargi à l'arrière, avec une incisure médiane postérieure peu profonde. La spermathèque a une forme tubulaire et lisse.

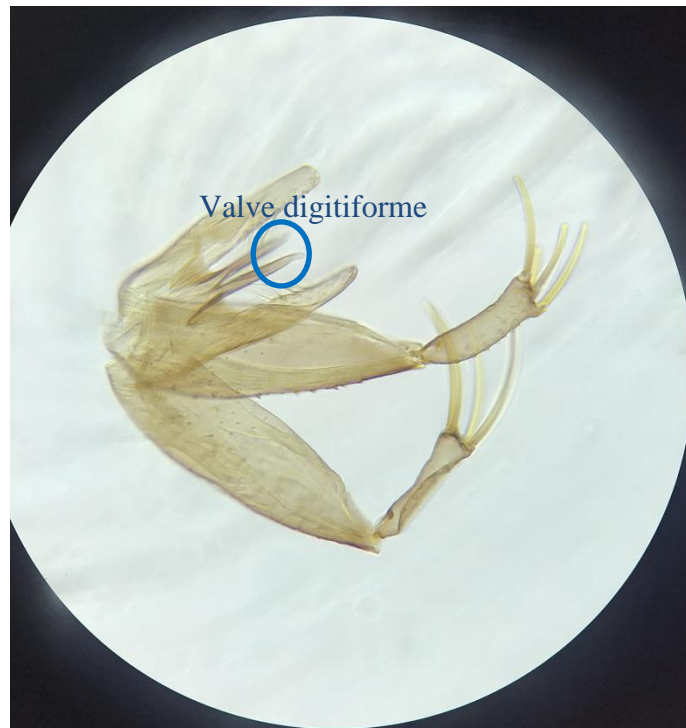


Figure 30. Génitalia mâle de *Sergentomyia antennata* (G : x400).

Répartition géographique

S. antennata a été décrit par Newstead (1912) au Ghana. Il occupe une superficie importante de l'Afrique tropicale. Au nord de l'Afrique, il franchit le Sahara et s'observe sur l'ensemble du Maghreb (Rioux *et al.*, 1978).

Au Maroc, il a été capturé en petit nombre à Figuig (Durand-Declacre, 1948).

2. SOUS GENRE *GRASSOMYIA*

2.1 *Sergentomyia dreyfussi* Parrot, 1933

Critères d'identification

Chez le mâle de *S. dreyfussi* (Fig. 31), les fémurs des pattes postérieures sont munis d'une rangée de 7 à 10 épines. Le coxite style deux fois plus long que le style. La valve pénienne est régulièrement effilée à l'apex. L'armature cibariale comprend 22 dents acérées et rangées en arc concave vers l'avant.

Chez la femelle, la spermathèque comporte un réservoir capsulaire orné d'un anneau de petites épines. Le cibarium est armé de 44 à 46 dents disposées sur une ligne concave vers l'avant.



Figure 31. Génitalia mâle de *Sergentomyia dreyfussi* (G : x400).

Répartition géographique

Il est décrit pour la première fois au Sahara algérien comme sous espèce de *P. squamipleuris*. Elle est retrouvée dans l'Afrique du Nord au sud de l'Algérie, au sud de la Tunisie et au Maroc (Bailly-Choumara *et al.*, 1971, Croset *et al.*, 1978) où elle est capturée dans les régions intérieures, au sud et au nord du Maroc oriental (Bailly-Choumara *et al.*, 1971, Guernaoui *et al.*, 2005b).

CHAPITRE V

ECOLOGIE ET REPARTITION DES PHLEBOTOMES

DANS LA REGION DE BENI MELLAL-KHENFRA

Dans ce chapitre, nous présentons une synthèse sur l'écologie des phlébotomes dans la région de Béni Mellal-Khénifra. Etoffer cette introduction en parlant de l'intérêt de l'écologie des vecteurs....

I. ANALYSE GENERALE

Au total 2557 phlébotomes ont été collectés dans 12 stations durant la période de mai à octobre 2017, à l'aide de pièges adhésifs. L'effectif, l'abondance relative (AR), et la fréquence de présence par espèce sont résumés (tableau 9). Parmi les 11 espèces inventoriées, les deux espèces du complexe *perniciosus* à savoir *P. perniciosus* et *P. longicuspis* sont les plus abondantes dans la région (26.25%, 22.03%, respectivement). *P. sergenti* représente 13.03%, et *P. papatasi* représente 6.73%. *P. alexandri*, *P. langeroni* et *P. mariae* sont peu abondantes dans la région étudiée (0.74%, 0.20% et 0.04% respectivement). Concernant le genre *Sergentomyia*, *S. minuta* et *S. fallax* sont les plus représentées (13.58%, 13.65%, respectivement), puis *S. dreyfussi* (3.68%) et *S. antennata* (0.12%).

Pour toutes les espèces, le sex-ratio est en faveur des mâles.

Tableau 9. Caractéristiques générales de la faune phlébotomienne de la région étudiée au centre du Maroc.

Sous-genre	Espèce	Effectif	Sex-ratio(F/M)	Abondance relative (%)	Fréquence d'occurrence (%)	Densité*(spécimen/m ² /nuit)
<i>Phlebotomus</i> (6,73%)	<i>P. papatasi</i>	172	0,117	6,73	64	0,7
<i>Paraphlebotomus</i> (13,77%)	<i>P. sergenti</i>	333	0,110	13,02	86	1,3
	<i>P. alexandri</i>	19	0,000	0,74	43	0,1
<i>Larrousius</i> (48,51%)	<i>P. perniciosus</i>	670	0,018	26,24	100	2,7
	<i>P. longicuspis</i>	563	0,004	22,02	71	2,2
	<i>P. langeroni</i>	5	0,000	0,20	14	0,02
	<i>P. mariae</i>	1	0,000	0,04	7	0,004
<i>Grassomyia</i> (3,68%)	<i>S. dreyfussi</i>	94	0,022	3,68	71	0,4
<i>Sergentomyia</i> (27,35%)	<i>S. fallax</i>	347	0,030	13,57	71	1,38
	<i>S. minuta</i>	349	0,119	13,65	86	1,39
	<i>S. antennata</i>	3	0,000	0,12	14	0,01
	Total	2556		100	-	

*multipliée x10²

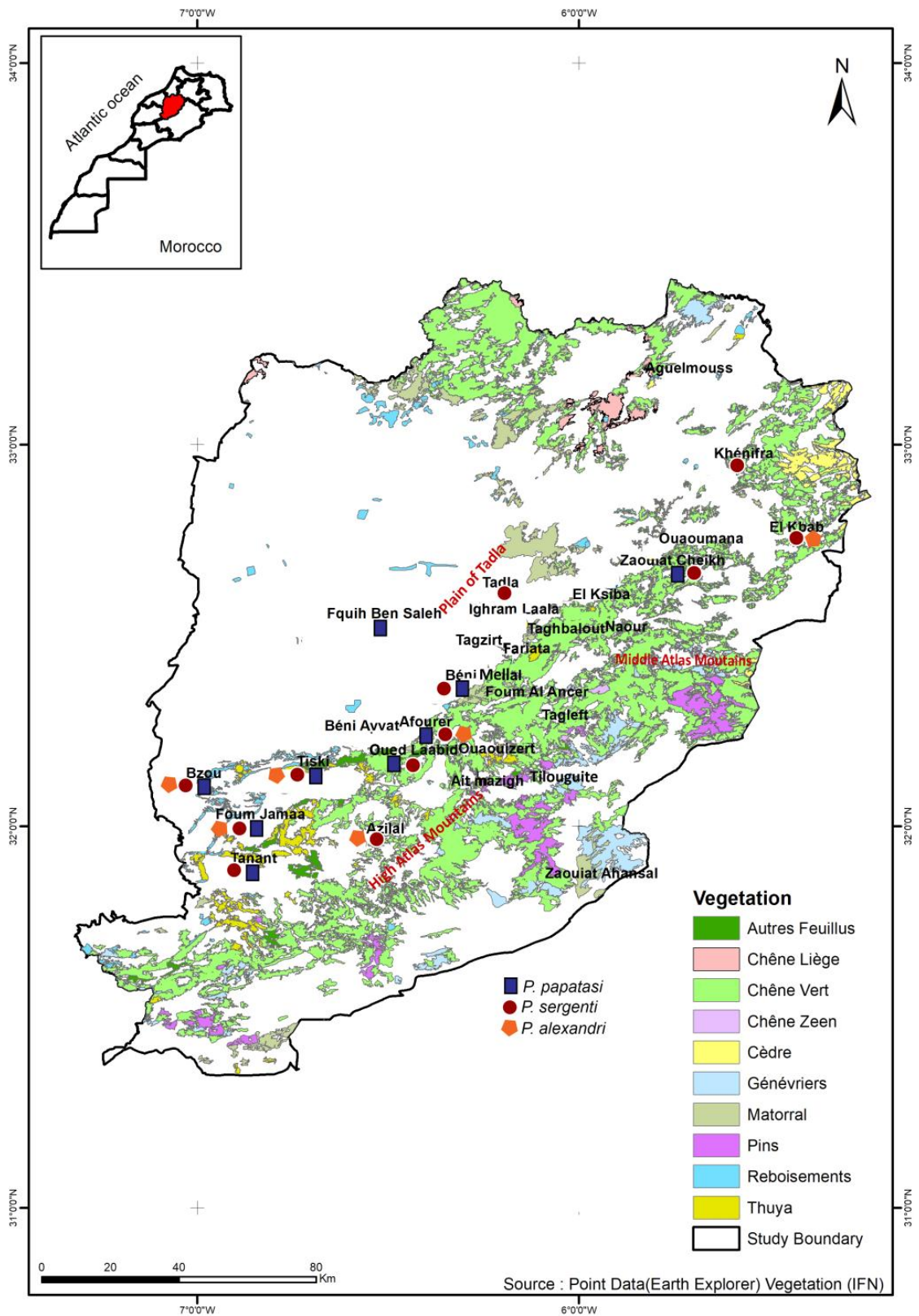


Figure 32. Distribution de *P. papatasi*, *P. sergenti* et *P. alexandri* dans les stations prospectées.

(*) Distribution basée uniquement sur la présence/absence des espèces.

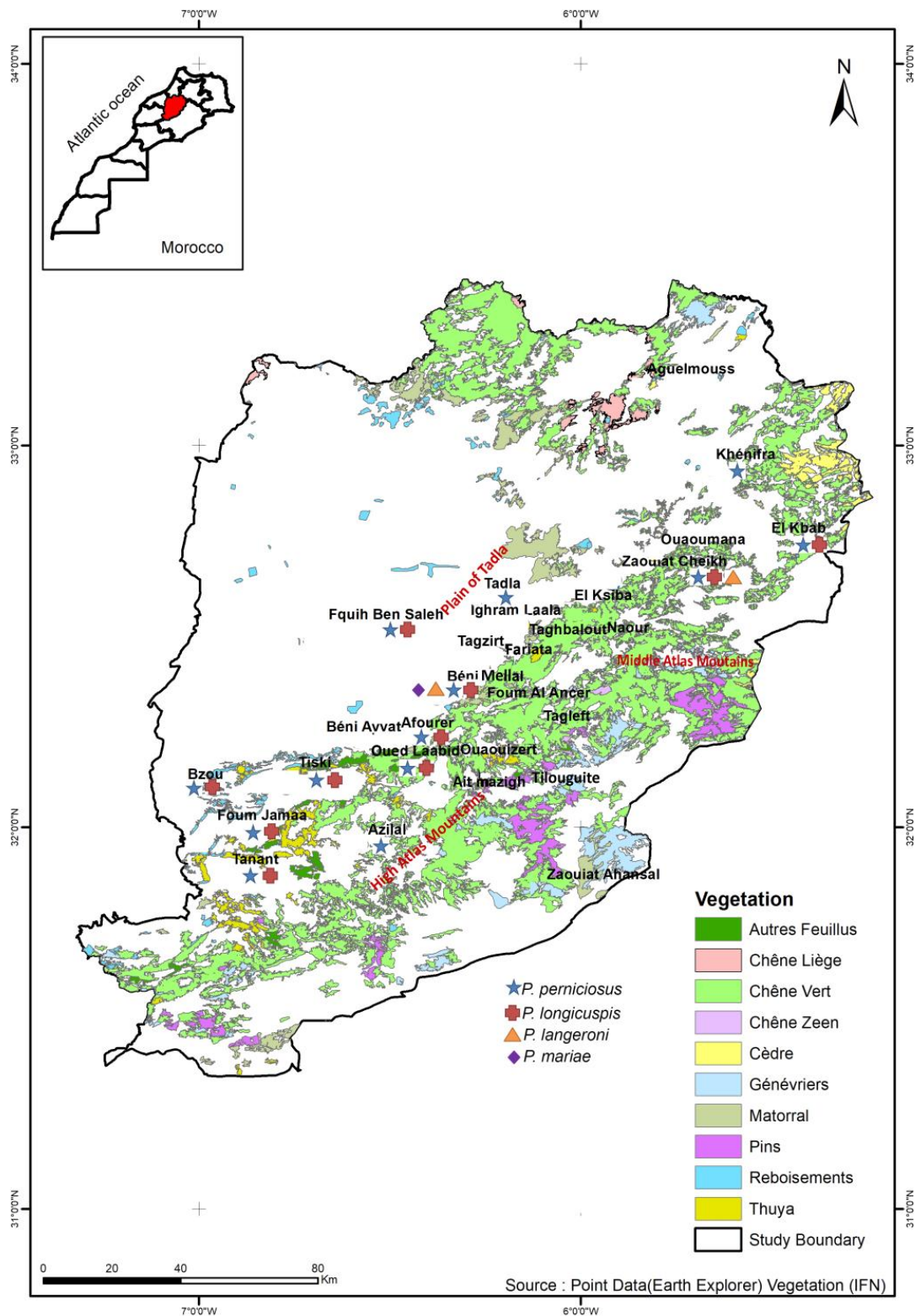


Figure 33. Distribution de *P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *P. langeroni* et *P. mariae* dans les stations prospectées.

(*) Distribution basée uniquement sur la présence/absence des espèces.

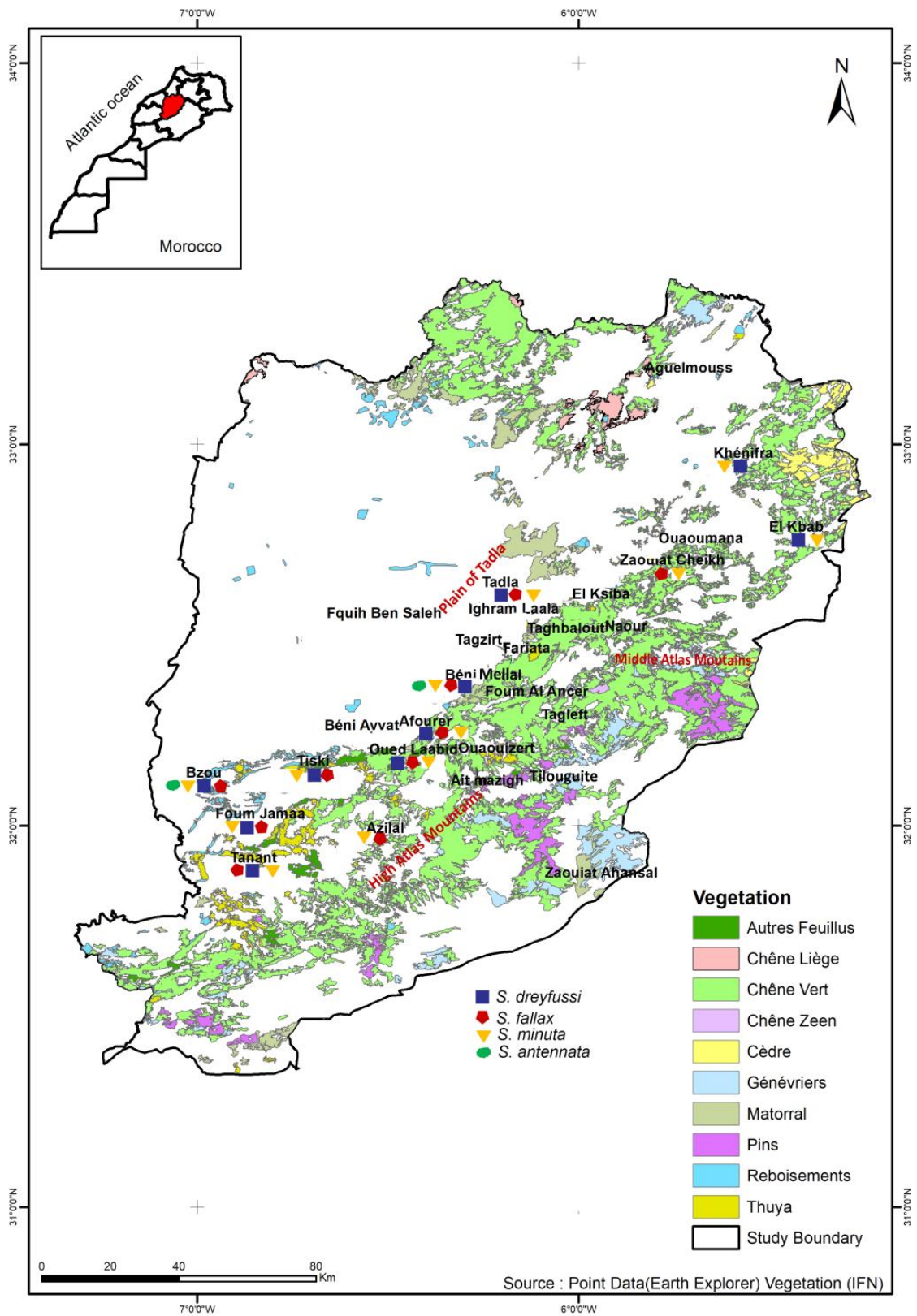


Figure 34. Distribution de *S. dreyfussi*, *S. fallax*, *S. minuta* et *S. antennata* dans les stations prospectées.

(*) Distribution basée uniquement sur la présence/absence des espèces.

En analysant la fréquence des espèces dans les stations échantillonnées (Tab. 9, Fig. 32, 33 et 34), nous distinguons 3 groupes d'espèces :

- les espèces constantes, collectées au moins dans 50% des stations. Ce sont *P. papatasi*, *P. sergenti*, le complexe *P. perniciosus*, *S. dreyfussi*, *S. fallax*, et *S. minuta* ;
- les espèces communes, *P. alexandri* et *P. langeroni* et *S. antennata* dont la capture est entre 10 et 49% des stations;
- une espèce rare, avec une occurrence moins de 10%, c'est le cas de *P. mariae*.

II. REPARTITION SPATIALE DES PHLEBOTOMES

1. REPARTITION DANS LES STATIONS

L'inventaire entomologique montre une différence de répartition dans la zone étudiée des phlébotomes. Cette répartition stationnelle est exposée dans le tableau 10.

La densité de *P. papatasi* est importante à Oued Laabid (1.88 spécimen/m²/nuit), Fquih Ben Salah (0,293 spécimen/m²/nuit) et Afourer (0,077 spécimen/m²/nuit). Alors que le vecteur de *L. tropica* est plus dense à Oued Laabid (2,39 spécimen/m²/nuit), Afourer (0,082 spécimen/m²/nuit), Tanant (0,04 spécimen/m²/nuit), Bzou (0,15 spécimen/m²/nuit), Foug Jamaa (0.07 spécimen/m²/nuit), et Azilal (0,60 spécimen/m²/nuit). Les densités des espèces *P. perniciosus* et *P. longicuspis* sont très remarquables à Fquih Ben Salah, Béni Mellal, Afourer, Tiski, Zaouiat Cheikh et El Kbab. Ces résultats affirment la situation éco-épidémiologique dans notre zone. La densité de *P. sergenti* dans la province d'Azilal (surtout à Foug Jamaa, Bzou, et Afourer et Tanant) explique l'incidence la plus élevée de la LC.

Tableau 10. Effectif, abondance relative et densité de la faune phlébotomienne dans chaque station de la zone étudiée au centre du Maroc.

Stations	Caractères	<i>P. papatasi</i>	<i>P. sergenti</i>	<i>P. perniciosus</i>	<i>P. longicuspis</i>	<i>S. minuta</i>	<i>S. fallax</i>
Afourer (N=386)	Effectifs (AR%)	52 (13,47%)	55 (14,25%)	56 (14,51%)	62 (16,06%)	72 (18,65%)	51 (13,21%)
	Densité*	0,077	0,082	0,083	0,092	0,11	0,076
Tanant (N= 33)	Effectifs (AR%)	1 (3,03%)	6 (18,18%)	3 (9,09%)	2 (6,06%)	6 (18,18%)	12 (36,36%)
	Densité*	0,01	0,04	0,02	0,01	0,04	0,07
Tiski (N= 415)	Effectifs (AR%)	21 (5,07%)	66 (15,90%)	172 (41,45%)	119 (28,74%)	13 (3,14%)	12 (2,90%)
	Densité*	0,16	0,49	1,29	0,89	0,10	0,09
Bzou (N= 134)	Effectifs (AR%)	15 (11,19%)	46 (34,33%)	9 (6,72%)	8 (5,97%)	20 (14,93%)	15 (11,19%)
	Densité*	0,05	0,15	0,026	0,029	0,05	0,06
Foum Jamaa (N= 444)	Effectifs (AR%)	45 (10,20%)	104 (23,58%)	55 (12,47)	10 (2,27%)	55 (12,47%)	163 (36,47%)
	Densité*	0,03	0,07	0,04	0,01	0,11	8,65
Azilal (N= 13)	Effectifs (AR%)	0	3 (23,08%)	1 (7,69%)	0	7 (53,85%)	1 (7,69%)
	Densité*		0,60	0,20		1,40	0,20
Oued Laabid (N=35)	Effectifs (AR%)	11 (31,43%)	14 (40,00%)	2 (5,71%)	1 (2,86%)	1 (2,86%)	4 (11,43%)
	Densité*	1,88	2,39	0,34	0,17	0,17	0,68
Fquih Ben Salah (N= 13)	Effectifs (AR%)	6 (45,15%)	0	5 (38,46%)	2 (15,38%)	0	0
	Densité*	0,29	0	0,24	0,10	0	0
Béni Mellal (N= 373)	Effectifs (AR%)	20 (5,45%)	16 (4,36%)	41 (11,17%)	98 (26,70%)	95 (25,88%)	70 (19,07%)
	Densité*	0,041	0,033	0,084	0,202	0,195	0,144
Tadla (N= 35)	Effectifs (AR%)	0	2 (5,71%)	1 (2,86%)	0	13 (37,14%)	13 (37,14%)
	Densité*	0	0,02	0,01	0	0,11	0,11
Zaouiat Cheikh (N=162)	Effectifs (AR%)	1 (0,62%)	13 (8,02%)	38 (23,46%)	88 (54,32%)	15 (9,26%)	6 (3,70%)
	Densité*	0,01	0,10	0,30	0,70	0,12	0,05
El Kbab (N= 512)	Effectifs (AR%)	0	7 (1,37%)	286 (55,86%)	173 (33,79%)	44 (8,59%)	0
	Densité*	0	0,10	3,95	2,39	0,61	0
Khénifra (N= 11)	Effectifs (AR%)	0	1 (9,09%)	1 (9,09%)	0	8 (72,73%)	0
	Densité*	0	0,01	0,01	0	0,10	0

*Densité est exprimée en spécimen/m²/nuit

D'une manière générale, l'analyse globale montre une différence dans la diversité de la faune phlébotomienne comme les valeurs de H' l'indiquent (Tab. 11).

La station la plus riche en espèces est Béni Mellal (10 espèces) suivie de Bzou (9 espèces) ; Afourer, Tiski et Foum Jamaa (8 espèces) ; Oued Laabid, Zaouiat Cheikh et Tanant (7 espèces) et d'El Kbab (6 espèces). En contrepartie, Fquih Ben Salah et Khénifra sont les moins riches (3 et 4 espèces, respectivement).

La diversité est importante à El Kbab, Tiski, Foum Jamaa, Béni Mellal et Afourer. La diversité et l'équitabilité sont maximales à El Kbab, Béni Mellal, Foum Jamaa, Tiski et Afourer, elles représentent une station à phlébotomes.

Par ailleurs, la richesse spécifique et l'équitabilité distinguent quatre catégories :

- Stations riches et moins équitables ; c'est le cas de Béni Mellal, Tanant, Oued Laabid, Bzou et Zaouiat Cheikh;
- Stations riches et une équitabilité relativement importante, il s'agit d'Afourer, Tiski et Foum Jamaa;
- El Kbab est une station moins riche mais avec une équitabilité importante;
- Stations moins riches et moins équitables : Fquih Ben Saleh et Khénifra.

Tableau 11. Indice de diversité Shannon-Weaver (H'), équitabilité (E) et richesse spécifique (S) de la faune phlébotomienne dans la région étudiée.

	H'	E	S
Oued Laabid	0,03	0,18	7
Fquih Ben Saleh	0,01	0,08	3
Béni Mellal	0,12	0,87	10
Afourer	0,12	0,89	8
Tanant	0,02	0,17	7
Tiski	0,13	0,92	8
Bzou	0,07	0,48	9
Foum Jamaa	0,13	0,95	8
Azilal	0,01	0,08	5
Tadla	0,03	0,18	5
Zaouiat Cheikh	0,08	0,54	7
El Kbab	0,14	1,00	6
Khénifra	0,01	0,07	4

2. REPARTITION PAR ESPECE

Cette analyse concerne surtout les espèces les plus abondantes qui permettent une analyse quantitative.

Le tableau 12 présente les effectifs, les abondances relatives et les densités des espèces *P. papatasi*, *P. sergenti*, *P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *S. fallax* et *S. minuta* dans chaque station de la zone étudiée.

P. papatasi est une espèce constante, présent partout sauf à Azilal, Tadla, El Kbab et Khénifra. D'une façon générale, c'est une espèce peu abondante dans la région étudiée ; elle ne représente que 6,73% de la faune globale. Les deux stations Foum Jamaa et Afourer sont les deux stations de la région où il était le plus abondant (Tab. 12).

P. sergenti est une espèce constante, largement répartie dans la région étudiée. C'est une espèce abondante dans la région, représentant 13,02% de la faune phlébotomienne. Foum Jamaa, Bzou, Tiski et Afourer sont les stations où *P. sergenti* était plus abondant. Il était peu abondant dans le foyer de Khénifra, El Kbab, Zaouiat Cheikh, Tadla et Béni Mellal.

Les espèces du complexe *P. perniciosus* et *P. longicuspis* sont deux espèces sympatriques dans la région étudiée. Elles sont les plus abondantes dans la zone concernée, représentant respectivement, 26,24% et 22,02% de la faune phlébotomienne. Le maximum de *P. perniciosus* était collecté à EL Kbab et Tiski. Pour *P. longicuspis*, en plus de ces deux stations, il était aussi abondant à Béni Mellal et Afourer.

S. fallax et *S. minuta* sont deux espèces du genre *Sergentomyia* plus abondantes dans la région étudiée, avec des abondances relatives respectivement de 13,57% et 13,65%, de la faune phlébotomienne. Foum Jamaa, Béni Mellal et Afourer sont les stations de la zone étudiée où ces deux espèces plus abondantes. En plus de ces trois stations, *S. minuta* était également abondant à El Kbab.

Tableau 12. Effectif, abondance relative et densité des espèces dans chaque station de collecte dans la région étudiée.

Caractéristiques Stations	<i>P. papatasi</i>		<i>P. sergenti</i>		<i>P. perniciosus</i>		<i>P. longicuspis</i>		<i>S. fallax</i>		<i>S. minuta</i>	
	Effectifs (AR%)	Densité*	Effectifs (AR%)	Densité*	Effectifs (AR%)	Densité*	Effectifs (AR%)	Densité*	Effectifs (AR%)	Densité*	Effectifs (AR%)	Densité*
Oued Laabid	11 (6,40%)	0,043	14 (4,20%)	0,055	2 (0,29%)	0,008	1 (0,18%)	0,004	4 (1,15%)	0,016	1 (0,28%)	0,004
Fquih Ben Salah	6 (3,49%)	0,024	0	0	5 (0,75%)	0,02	2 (0,36%)	0,008	0		0	
Béni Mellal	20 (11,63%)	0,08	16 (4,80%)	0,06	41 (6,04%)	0,16	98 (17,41%)	0,39	70 (20,17%)	0,28	95 (27,22%)	0,38
Afourer	52 (30,23%)	0,20	55 (16,52%)	0,21	56 (8,25%)	0,22	62 (11,01%)	0,24	51 (14,70%)	0,20	72 (20,63%)	0,28
Tanant	1 (0,58%)	0,004	6 (1,80%)	0,02	3 (0,44%)	0,012	2 (0,36%)	0,008	12 (3,46%)	0,047	6 (1,72%)	0,024
Tiski	21 (12,21%)	0,08	66 (19,82%)	0,26	172 (25,33%)	0,68	119 (21,14%)	0,47	12 (3,46%)	0,047	13 (3,72%)	0,051
Bzou	15 (8,72%)	0,06	46 (13,81%)	0,18	9 (1,33%)	0,036	8 (1,42%)	0,03	15 (4,32%)	0,079	20 (5,73%)	0,004
Foum Jamaa	45 (26,16%)	0,18	104 (31,23%)	0,41	55 (8,10%)	0,22	10 (1,78%)	0,04	163 (46,97%)	0,64	55 (15,76%)	0,22
Azilal	0	0	3 (0,90%)	0,012	1 (0,15%)	0,004	0	0	1 (0,29%)	0,00397	7 (2%)	0,028
Tadla	0	0	2 (0,60%)	0,008	1 (0,15%)	0,004	0	0	13 (3,74%)	0,051	13 (3,72%)	0,051
Zaouiat Cheikh	1 (0,58%)	0,004	13 (3,90%)	0,05	38 (5,60%)	0,15	88 (15,63%)	0,35	6 (1,73%)	0,024	15 (4,30%)	0,059
El Kbab	0	0	7 (2,10%)	0,028	286 (42,12%)	1,13	173 (30,73%)	0,69	0	0	44 (12,61%)	0,17
Khénifra	0	0	1 (0,30%)	0,004	1 (0,15%)	0,004	0	0	0	0	8 (0,29%)	0,03
Total	172		333		670		563		347		349	

(*) multipliée x10².

Les densités sont exprimées en spécimen/m²/nuit

3. COMPORTEMENT DES ESPECES VIS-A-VIS DE L'ANTHROPOPHILIE

Dans le but d'étudier le comportement de trois espèces les plus abondantes (*P. sergenti*, *P. perniciosus* et *P. longicuspis*) à différents environnements humains, nous avons comparé l'abondance relative de l'espèce dans les habitats domestiques, péri-domestiques et sauvages (Fig. 35).

P. sergenti est une espèce essentiellement liée aux habitats domestique et péri-domestique. Il est le vecteur responsable de la forme anthroponotique de la LC dont le principal réservoir est l'être humain, confirmant son association aux habitations humaines.

L'espèce *P. perniciosus* est collectée dans tous les biotopes, mais elle présente une abondance élevée dans les habitats péri-domestique et sauvage, dévoilant un caractère endo-exophile.

P. longicuspis montre un comportement lié aux milieux domestique et sauvage. C'est une espèce exophile qui présente une abondance maximale dans les milieux sauvages.

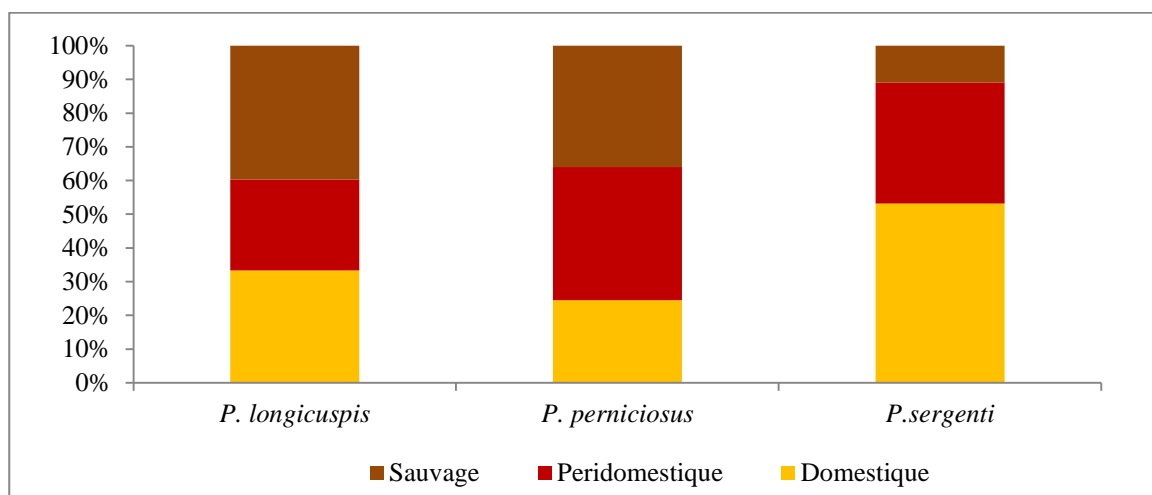


Figure 35. Abondance relative moyenne de *P. sergenti*, *P. perniciosus* et *P. longicuspis* dans les habitats domestique, péri-domestique et sauvage.

III. FLUCTUATIONS TEMPORELLES DES PHLEBOTOMES DANS LA REGION ETUDIEE

Un suivi de l'activité saisonnière de la faune phlébotomienne dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra a été effectué durant la saison 2017. Ce suivi, réalisé avec les pièges adhésifs suivant la méthode des itinéraires-transects, est fait selon un rythme bimensuel dans les stations d'Afourer, Tiski, Bzou, Foum Jamaa et Béni Mellal, et mensuel à Tanant, Tadla, Zaouiat Cheikh, El Kbab, et à Khénifra dans le Moyen Atlas.

1. ACTIVITE SAISONNIERE DE *P. SERGENTI*, *P. PERNICIOSUS* ET *P. LONGICUSPIS*

L'analyse de l'activité saisonnière est réalisée pour les trois espèces les plus abondantes et dans les stations où les données entomologiques sont suffisantes. Les figures 36 et 37 montrent les fluctuations temporelles du complexe *P. perniciosus* et *P. sergenti*, dans les stations de collecte de la région étudiée entre mai et octobre 2017.

Appart Bzou, l'activité saisonnière du *P. perniciosus* est uni-modale. A Afourer, son activité maximale est à la fin de septembre. A Tiski, c'est au début de juin et à Foum Jamaa, l'activité maximale est au début de mai. A Bzou, l'activité de *P. perniciosus* est bimodale et les pics sont relevés à la fin de mai et de juillet.

A Afourer, Tiski et Bzou, l'activité de *P. longicuspis* est uni-modale. Les pics maximaux sont enregistrés à Afourer à la mi-août et au début de juin dans les autres stations. A Foum Jamaa, son activité est bimodale avec des pics au début de mai et à la mi-août (Fig. 36).

L'activité de *P. sergenti* est uni-modale dans toutes les stations et commence en mai et se termine en octobre. Cependant, cette activité diffère d'une station à l'autre. En effet, à Afourer ; le pic maximal est enregistré à la fin de septembre, alors qu'à Tiski et Bzou, le maximum est constaté au début de juin tandis qu'à Foum Jamaa, le pic est relevé en mai (Fig. 37).

D'une façon générale, la période d'activité de *P. sergenti* et du complexe *P. perniciosus* diffère d'une station à l'autre. Ceci implique que la période à risque est différente.

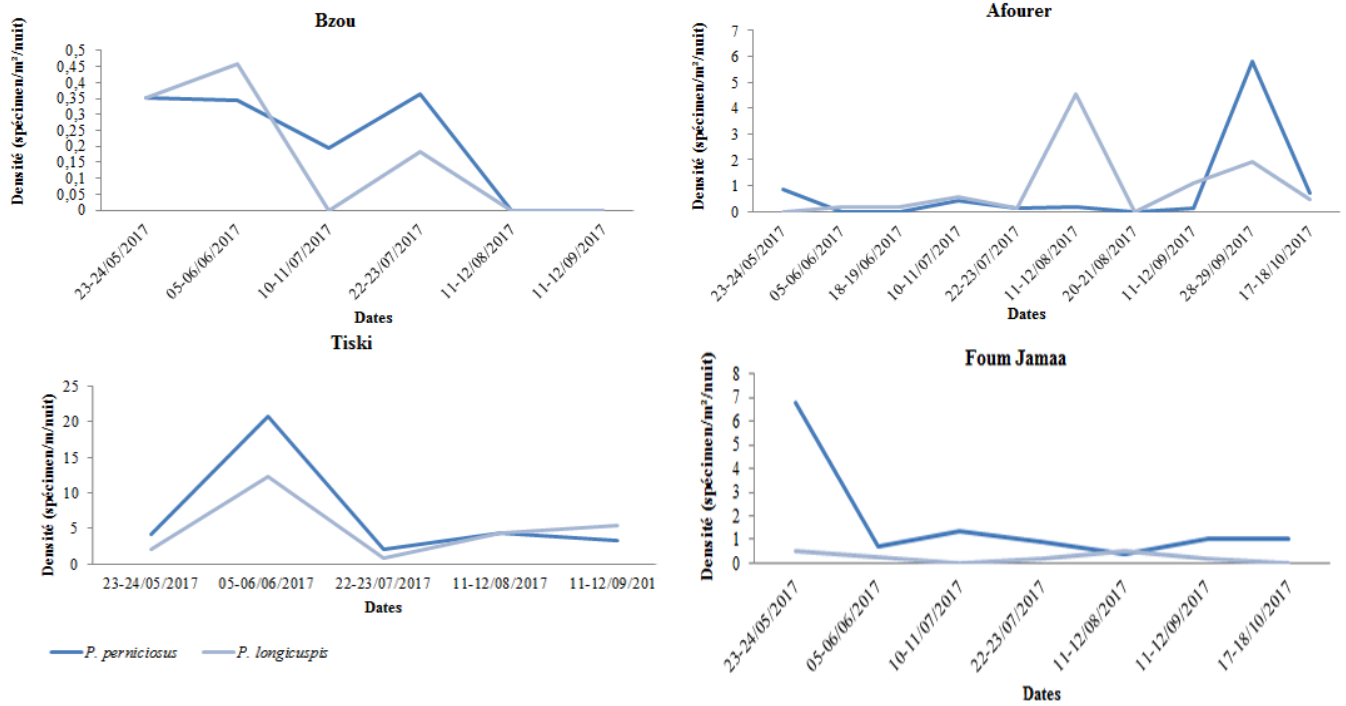


Figure 36. Saisonnalité du complexe *P. perniciosus* dans les stations du foyer d'étude de mai à octobre 2017.

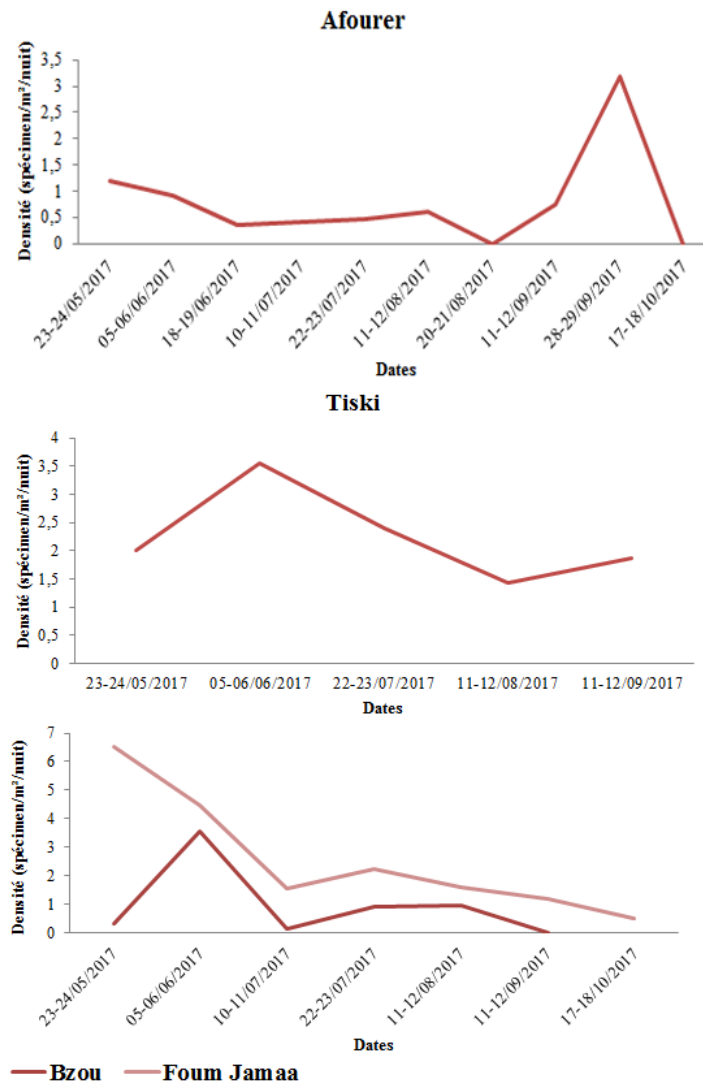


Figure 37. Saisonnalité de *P. sergenti* dans les stations du foyer d'étude de mai à octobre 2017.

2. IMPACT DU CLIMAT SUR LA SAISONNALITE DES ESPECES

Les analyses de l'impact des facteurs climatiques sont faites dans les stations où les données entomologiques suffisantes et les données climatiques disponibles. La figure 38 montre la saisonnalité de *P. sergenti* et le complexe *P. perniciosus* avec les diagrammes ombothermiques de chaque station dans la région étudiée de mai à octobre 2017.

L'activité maximale de *P. sergenti* et du complexe *P. perniciosus* varie d'une station à l'autre. A Afourer, l'activité de *P. sergenti* est bimodale et atteint son maximale au début et la fin de la période de collecte des phlébotomes. Le complexe *P. perniciosus* a une activité uni-modale dont le pic maximal en septembre pour *P. perniciosus* et en août pour *P. longicuspis*. Cette période correspond à la saison sèche.

A Bzou l'activité est uni-modale pour les trois espèces. Le pic maximal est enregistré en juin. C'est la période printemps-été.

A Foug Jamaa, l'activité de *P. sergenti* et *P. perniciosus* est uni-modale. Elle est maximale à l'intersaison printemps-été (juin). Alors que *P. longicuspis* a une activité bimodale, la première de mai à juillet avec un pic à l'intersaison printemps-été et la deuxième d'août à octobre dont le maximum est à l'intersaison été-automne (août).

Cette différence d'activité de *P. sergenti* et du complexe *P. perniciosus* est liée aux préférences climatiques de chacune des espèces.

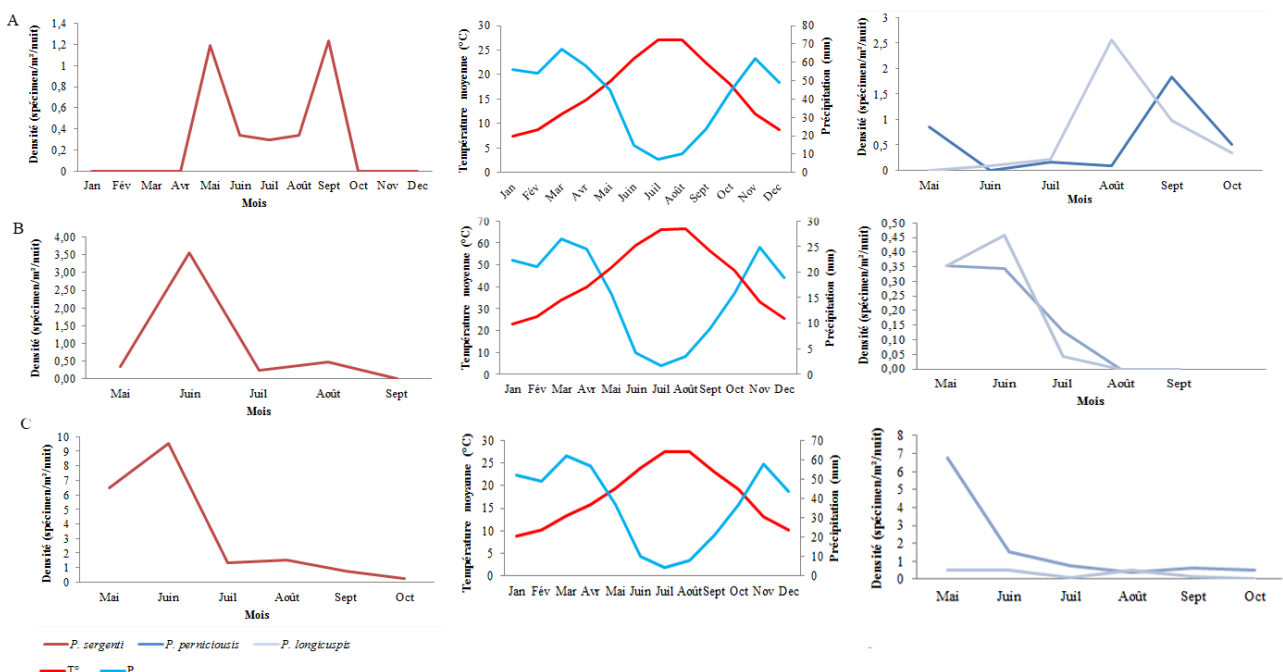


Figure 38. Diagrammes ombothermiques et saisonnalité de *P. sergenti*, *P. perniciosus* et *P. longicuspis* à Bzou (A), Afouer (B), Foug Jamaa (C).

IV. TYPOLOGIE DE L'HABITAT DES PHLEBOTOMES DANS LA REGION ETUDIEE

L'analyse de la biotypologie combinée, définie l'ensemble des relations existant entre les espèces et leur milieu, ainsi que, leur évolution au cours du temps (Dajoz, 1975).

Les groupements biocénétiques définis réunissent des taxons ayant la même écologie dans une zone géographique précisée. Mais, ces groupements ne précisent pas le comportement de chaque espèce dans les biotopes qu'elles occupent. L'étude du profil d'abondance d'une espèce dans son contexte environnemental va nous aider à mettre en relief son degré de préférence vis-à-vis des biotopes qu'elle côtoie. En effet, lorsque la densité d'une espèce est nettement plus grande dans un milieu donné cela

indique que l'espèce a trouvé son biotope préféré. Contrairement, quand la densité d'une espèce est la même (soit faible ou élevée) dans la totalité des stations, elle n'aboutit pas à déterminer les différences ou les particularités de ces biotopes.

La connaissance des préférences des hôtes des phlébotomes dans des conditions naturelles est essentielle pour comprendre leur capacité vectorielle dans les foyers de leishmanioses.

Dans le but de visualiser la répartition et la préférence des habitats de chaque espèce dans différentes stations, nous avons établi des représentations graphiques qui consistent à projeter les densités sur le plan F1-F2 (Fig. 41), à partir d'une analyse factorielle des correspondances. Ce plan explique 81,49% de l'inertie totale (F1= 65,18% et F2 = 16,31%). La figure 42 montre la répartition des stations par les données entomologiques.

Quatre groupements de station sont distingués (Fig. 39):

- ✓ **Groupement 1 :** formé par les stations de Zaouiat Cheikh et El Kbab; situées dans le Moyen-Atlas, à différentes altitudes ; la première à 798m et la deuxième à 1198m. Ces stations se trouvent dans le milieu urbain et rural. Elles sont caractérisées par la présence de fumier et des étables avec une végétation essentiellement artificielle (olivier, roseau).
- ✓ **Groupement 2 :** station de Tiski; située en zone rurale. Ses habitats sont caractérisés par une végétation naturelle et artificielle au voisinage des habitations humaines et la présence de fumier et des étables.
- ✓ **Groupement 3 :** Ce sont les stations du Haut-Atlas. Elles sont situées entre 400 m et 800 m, en zones urbaine et rurale. Elles sont riches en matière organique et caractérisées par une végétation surtout artificielle au voisinage des habitations.
- ✓ **Groupement 4 :** c'est la station urbaine Béni Mellal. Cette station située dans la plaine (507m), avec une végétation sous forme des champs de culture.

Quatre groupes d'espèces s'individualisent en fonction de leurs préférences aux habitats (Fig. 40):

- ✓ **Groupement 1:** constitué par les deux espèces du complexe *P. perniciosus*. Ces espèces sont présentes dans les habitats très riches en matière organique. Elle est inféodée aux milieux domestique et péri-domestique.
- ✓ **Groupement 2:** formé de *P. langeroni* et *P. mariae*. Ils sont collectés dans des biotopes au voisinage des habitations humaines et riches en matière organique.
- ✓ **Groupement 3:** composé de *P. papatasi*, *P. alexandri*, *P. sergenti* et *S. fallax*. Ces espèces collectées en abondance au voisinage des habitations. Ces habitats caractérisés par la présence des étables et une végétation steppique.

- ✓ **Groupe 4 :** regroupe les espèces du genre *Sergentomyia*. Ces espèces sont collectées en abondance dans des biotopes riches en matière organique, ouvert, et une végétation artificielle.

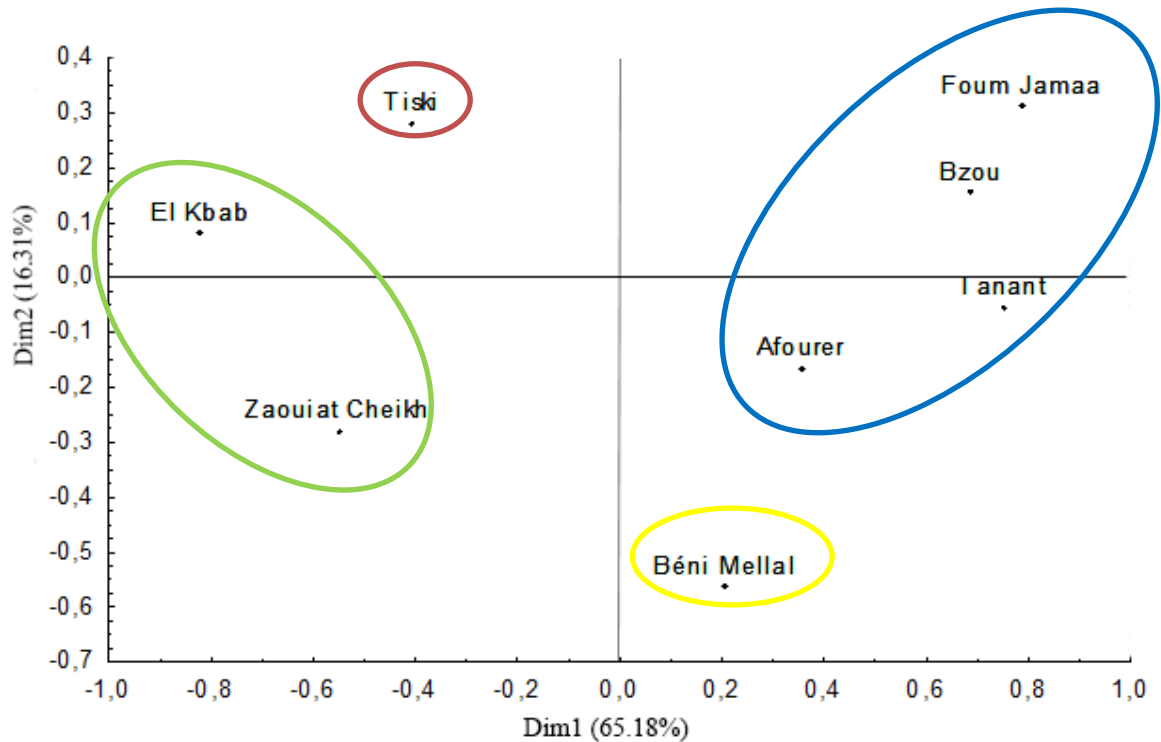


Figure 39. Distribution des stations en catégories par les données de la faune phlébotomienne sur le plan F1-F2 de l'analyse factorielle des correspondances espèce/station.

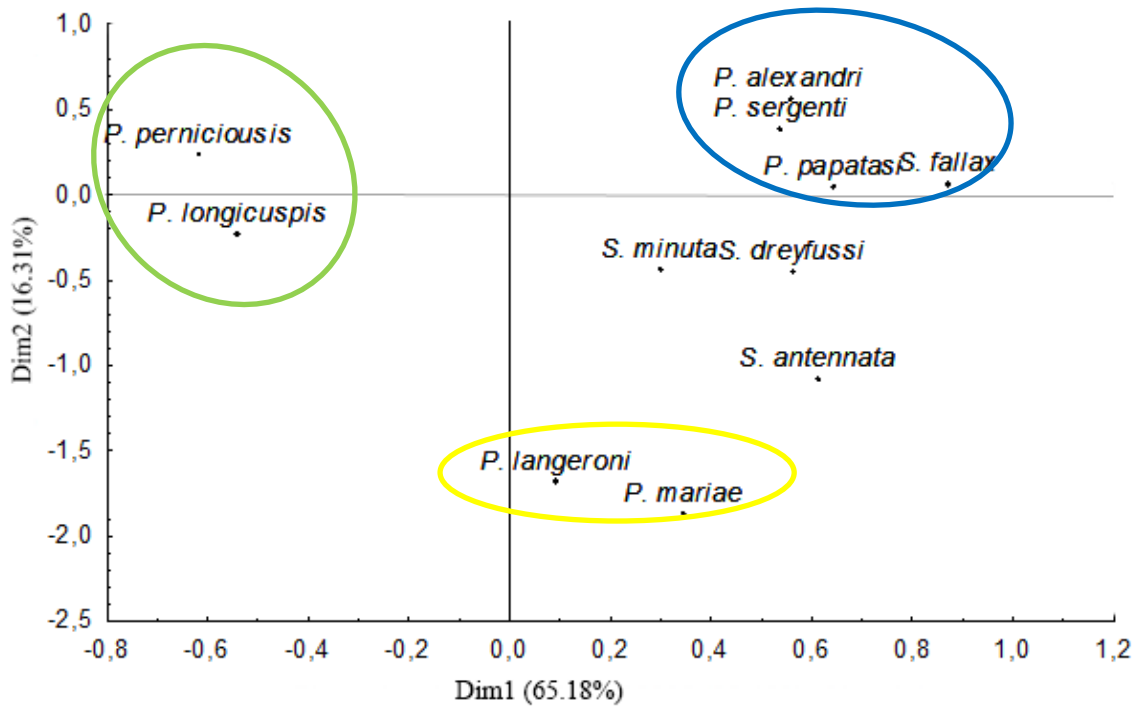


Figure 40. Distribution des densités des différentes espèces sur le plan F1-F2 de l'analyse factorielle des correspondances.

DISCUSSION

L'analyse de la faune phlébotomienne de la région de Béni Mellal-Khénifra a mis en évidence la présence de 11 espèces de deux genres *Phlebotomus* et *Sergentomyia*. Les espèces capturées font partie de la liste des 24 espèces de phlébotomes connues et établis du Maroc (Faraj & Himmi, 2020). Le genre *Phlebotomus*, réparti entre trois sous genres ; *Phlebotomus*, *Paraphlebotomus* et *Larrousius*, est largement plus abondant, avec 69,01%. Le genre *Sergentomyia* est peu abondant, ceci pourrait être expliqué par le fait que les espèces de ce genre sont moins abondantes en milieu humain (Ramaoui *et al.*, 2008).

Tous les vecteurs prouvés et suspectés de leishmaniose au Maroc sont présents dans la zone d'étude ; *P. perniciosus* et *P. longicuspis*, *P. sergenti* et *P. papatasi*. Cependant, *P. perniciosus* a un indice d'occurrence de 100%, alors que *P. longicuspis*, *P. sergenti* et *P. papatasi* ont des indices d'occurrence de 71%, 86% et 64%, respectivement.

En comparant nos résultats avec les études antérieures faites dans la même zone d'étude, une nouvelle espèce a été identifiée durant notre étude, c'est le cas de *P. langeroni*. Des espèces n'ont pas été récoltées, il s'agit de *P. ariasi*, *P. chabaudi* et *P. chadlii* (Guilvard *et al.* 1991 ; Guernaoui *et al.* 2005b, Faraj *et al.* 2013 ; Arroub *et al.* 2013, 2016 ; Zouirech *et al.* 2013). Les autres espèces ont été citées de toutes les études avec des abondances différentes (Guilvard *et al.* 1991 ; Guernaoui *et al.* 2005b ; Faraj *et al.* 2013 ; Arroub *et al.* 2013, 2016 ; Zouirech *et al.* 2013, 2015, 2018 ; Zarrouk *et al.* 2015).

Il y a une différence remarquable dans la diversité de la faune phlébotomienne entre les stations. La richesse et la diversité sont plus élevées dans la ville de Béni Mellal (507 m). Ceci pourrait correspondre à l'écotone. A Fquih Ben Salah (443 m) et Khénifra (864 m), la richesse et la diversité sont plus faibles. Ces deux stations ont un degré d'urbanisation élevée. Une étude antérieure dans le Haut-Atlas a lié la biodiversité à l'altitude ; la grande diversité des espèces a été observée à environ 800 m d'altitude (Guernaoui *et al.*, 2006a).

L'analyse des activités saisonnières des espèces les plus abondantes en fonction de l'origine de collecte a montré que l'activité de *P. sergenti* avait une activité différente entre les stations. Elle est bimodale à Afourer (mai et septembre) et uni-modale à Bzou (Juin), et Foum Jamaa (juin). Au centre marocain, Boussaa *et al.* (2005) ont montré une activité monophasique de *P. sergenti* à Marrakech de mai à juillet avec une maximale en juillet. A Chichaoua, Guernaoui *et al.*, (2005a) ont trouvé que le pic maximal de *P. sergenti* a été en juillet et août et minimal entre septembre et novembre.

P. perniciosus a une activité uni-modale à Afourer, Tiski et à Foum Jamaa et bimodale à Bzou. Talbi *et al.* (2015) ont observé dans la province de Sefrou, une activité bimodale de cette espèce. Il est

collecté dans la province de Chichaoua, au sud-ouest du Maroc et à Ouaouizerth où son activité est monophasique (Guernaoui *et al.*, 2006 ; Zouirech *et al.*, 2013). En Espagne, plusieurs auteurs ont noté une abondance bimodale pour *P. perniciosus* avec deux pics (juillet et septembre) (Morillas *et al.*, 1982, Gálvez *et al.*, 2010). L'activité de *P. longicuspis* est monophasique à Afourer, Tiski et Bzou et diphasique à Fougoum Jamaa. Bailly-Choumara *et al.* (1971), ont observé l'activité de *P. longicuspis* est entre mai et octobre, dont la densité maximale est enregistrée entre juin et septembre. Les résultats obtenus par Faraj *et al.* (2013) ont montré un pic de densité de cette espèce en mai et août à Ait Bousdouk et Azrou, respectivement. En plus, dans la région d'Azilal, le pic est enregistré en juin (Zouirech *et al.*, 2013). En effet, *P. perniciosus* et *P. longicuspis* semblent avoir les mêmes activités saisonnières. Kahime *et al.* (2015) ont montré une activité bimodale des *Larroussius*, un pic en été et le deuxième en automne.

L'étude de l'impact du climat sur l'activité saisonnière de trois espèces a montré que malgré la courte distance entre les stations, il y avait une activité différente. Cette différence ne pourrait être expliquée que par les préférences climatiques de chacune des espèces.

L'analyse de la typologie des espèces phlébotomiennes a indiqué :

- *P. papatasi* est une espèce peu abondante, présente en zones urbaine et rurale (Afourer, Tanant, Bzou et Fougoum Jamaa). Elle est capturée dans différents biotopes. Elle a une préférence pour les habitations (Dedet *et al.*, 1984) et pour les zones arides et péri-arides (Talbi *et al.*, 2015 ; Guernaoui *et al.*, 2006a ; Rioux *et al.*, 1984, 1997). Guernaoui *et al.* (2010) ont trouvé *P. papatasi* dans les différents biotopes, y compris les maisons, les abris pour les animaux et les grottes. En milieu rural, il est échantillonné dans les biotopes riches en matière organique. En milieu urbain, *P. papatasi* est collecté dans les décharges publiques au voisinage des habitations humaines. De plus sa densité augmente avec l'aridité (Croset *et al.*, 1974). Les biotopes des quatre stations situées à des altitudes entre 400 m et 800 m. Guernaoui *et al.* (2006a) ont indiqué que cette espèce est prédominante en plaine (400-599 m), rares dans les autres altitudes et absentes à partir de 1200 m. Frahtia-Benothmane (2015) a rencontré *P. papatasi* dans les zones à basse altitude (>300 m) à Pakistan, et entre 532 m et 1300 m.

- *P. sergenti* est une espèce constante, enregistré à Afourer, Tanant, Bzou et Fougoum Jamaa. De nombreux travaux ultérieurs ont montré une abondance importante de cette espèce dans la province d'Azilal (Faraj *et al.*, 2013, Zouerich *et al.*, 2013, 2015, 2018, Arroub *et al.*, 2013, 2016). Au Maroc, *P. sergenti* est endophile, abondant aussi bien dans les lieux ruraux q et dans les bioclimats semi-arides (Yahia *et al.*, 2004 ; Boussaa *et al.*, 2005 ; Guernaoui *et al.*, 2006a ; Guernaoui & Boumezough, 2009). C'est une espèce anthropophile (Al-Zahrani *et al.*, 1997 ; Svobodova *et al.*, 2003 ; Guernaoui *et al.*,

2005b, Zahraei-Ramzani *et al.*, 2007, 2008 ; Maroli *et al.*, 2009). De plus, les ruines à proximités des habitations humaines constituent son habitat préférentiel (Guernaoui, 2006).

- *P. perniciosus* est une espèce constante dans le foyer d'étude, par contre des travaux de Gaud (1954) et Bailly-Choumara *et al.* (1971) ont indiqué que c'est une espèce non commune, récoltée principalement dans le nord du Maroc. Guernaoui *et al.* (2005a) ont montré que *P. perniciosus* est abondant au sud-ouest et sa répartition n'est pas limitée seulement au nord. Nos résultats montrent que *P. perniciosus* est plus abondant à El Kbab et Tiski où les climats sont subhumides et semi-aride, respectivement. Rioux *et al.* (1984) ont montré une préférence de cette espèce pour les habitats humides à semi-arides. Des travaux antérieurs ont trouvé une abondance de cette espèce à Ait Mhammed et Khénifra (Guernaoui *et al.*, 2005b), Ouaouizerth et Azilal (Zouirech *et al.*, 2013 ; Faraj *et al.*, 2013 ; Zouirech *et al.*, 2015). Ceci suggère qu'il est bien adapté à la montagne (Bailly-Choumara *et al.*, 1971, Guernaoui *et al.*, 2006a, Boussaa *et al.*, 2010). Il préfère les bioclimats subhumide et humide (Guernaoui *et al.*, 2006a), collectée spécialement dans des sites à des altitudes entre 1000 m et 1500 m avec une végétation naturelle et artificielle et constitue une bonne partie de la faune des étables et des biotopes riches en fumier (Guernaoui, 2006).

- *P. longicuspis* est présent là où il y a *P. perniciosus*, ce sont deux espèces sympatriques. Les densités importantes sont enregistrées à Béni Mellal, Afourer, Tiski et El Kbab. Ces stations sont caractérisées par des climats semi-arides et subhumides et sont situées à des altitudes différentes. Au Maroc, Rioux *et al.* (1984) ont considéré que cette espèce est répandue préférentiellement dans l'étage subhumide à semi-aride. Bailly-Choumara *et al.* (1971) ont retrouvé *P. longicuspis* dans toutes les régions, depuis l'étage subhumide jusqu'à l'étage saharien, à des altitudes variant des plaines les plus basses jusqu'à 1600m d'altitude. L'abondance de cette espèce est observée à différentes altitudes. Contrairement à Guernaoui *et al.* (2006a) dans la région du Haut Atlas où il était plus abondant entre 600 m et 799 m d'altitude, tandis que sa densité est devenue plus faible en dehors de cet intervalle. Comme *P. perniciosus*, *P. longicuspis* constitue une bonne partie de la faune des étables et des biotopes riches en fumier (Guernaoui, 2006).

- *P. langeroni* et *P. mariae* sont collectées seulement à Béni Mellal, en milieu urbain. Cette zone représente la zone de transition entre le Moyen et le Haut-Atlas.

L'ensemble des espèces du genre *Sergentomyia* est collecté dans les biotopes ouverts, riches en matière organique et proches aux végétations artificielles et les égouts.

CHAPITRE VI
ETUDE MORPHOMETRIQUE DES GENITALIA DE
P. SERGENTI

INTRODUCTION

Phlebotomus sergenti (Diptère, Psychodidae) est le vecteur prouvé de *Leishmania tropica* en Arabie Saoudite (Al-Zahrani *et al.*, 1988), au Maroc (Guilvard *et al.*, 1991), en Ethiopie (Gebre-Michael *et al.*, 2004) et en Israël (Svobodova *et al.*, 2006). Le cycle de transmission de *L. tropica* par *P. sergenti* est considéré comme anthroponotique malgré l'isolement du parasite chez les chiens (Pratlong *et al.*, 1991, Volf *et al.*, 2002).

Au Maroc, il est abondant partout (Gaud, 1947, Bailly-Chamara *et al.*, 1971) et largement réparti dans les zones arides et semi-arides avec une large plasticité écologique (Guernaoui *et al.*, 2005b).

Le premier cas de leishmaniose cutanée à *L. tropica* est notifié chez une fillette qui a séjourné à Tanant (Marty *et al.*, 1989). Puis, d'autres foyers ont été détectés tels que Smimou (Pratlong *et al.*, 1991), Taza (Guessouss-Idrissi *et al.* 1997), Zouagha (Rhajaoui *et al.*, 2004), Chichaoua (Guernaoui *et al.*, 2005b), El Haouz (Ramaoui *et al.* 2008), et Sidi Kacem (EL Miri *et al.*, 2016). Après 30 ans de LC à *L. tropica* dans le foyer de Tadla-Azilal, 717 cas sont enregistrés en 2016 (MSP, 2017) et la maladie a commencé à se propager au nord-est de l'Atlas et au nord-ouest de la plaine de la région d'étude (Abou-Eaaz *et al.*, 2019).

L'étude sur des populations de *P. sergenti* basée sur l'ADNr ITS2 a montré une hétérogénéité moléculaire (Depaquit *et al.*, 2002). Ces auteurs semblent considérer l'existence potentielle d'espèces cryptiques. En 2004, Yahia *et al.*, ont étudié la différenciation génétique régionale de *P. sergenti* dans trois foyers marocains de LC qui a révélé trois lignées d'ADNm. De même, Moin-Vaziri *et al.* (2007) ont indiqué une variabilité des populations régionales de *P. sergenti* en Iran, en Grèce, au Maroc, au Liban, en Turquie, au Pakistan et en Syrie par l'étude des gènes de cytochrome b et NADH1.

L'analyse multi-variée de la variation morphométrique est un outil taxonomique utile pour identifier correctement les groupes des phlébotomes étroitement apparentés. Par conséquent, l'information sur la variation morphologique et anatomique est importante pour comprendre le potentiel de transmission de LC du vecteur *P. sergenti*. L'absence de ce type de travaux sur cette espèce, nous a amené d'étudier sa variation morphométrique en se basant sur les différents caractères externes de génitalia de *P. sergenti* dans le foyer d'Azilal.

I. CARACTERISATION MORPHOMETRIQUE SPATIALE DES GENITALIA DE *P. SERGENTI*

Cette caractérisation concerne dix-neuf caractères morphométriques mesurés au niveau du génitalia de *P. sergenti* collecté dans le foyer d'Azilal. Les mesures sont faites au niveau du style, coxite, lobe basal, valve, filament génital et la pompe génitale. Son objectif d'étudier les variations morphométriques spatiales de chaque partie du génitalia.

1. DISTRIBUTION DES CARACTERES MORPHOMETRIQUES

Au total, 199 spécimens de *P. sergenti* ont été analysés. L'ensemble des caractères morphométriques montrent une variabilité élevée avec une distribution polymodale (Fig. 41, 42, 43, 44 et 45). Le test de normalité indique une population hétérogène avec des sous-populations différentes.

L'analyse de chaque caractère montre une variabilité dans chaque sous-population, mais seulement six entre eux présentent des distributions comparables dans chaque sous-population et varient dans le même sens. Il s'agit de la longueur du style, les distances entre la base du style et la 2^{ème} et la 3^{ème} épines, la longueur du coxite, la longueur de la valve et la longueur de la pompe génitale.

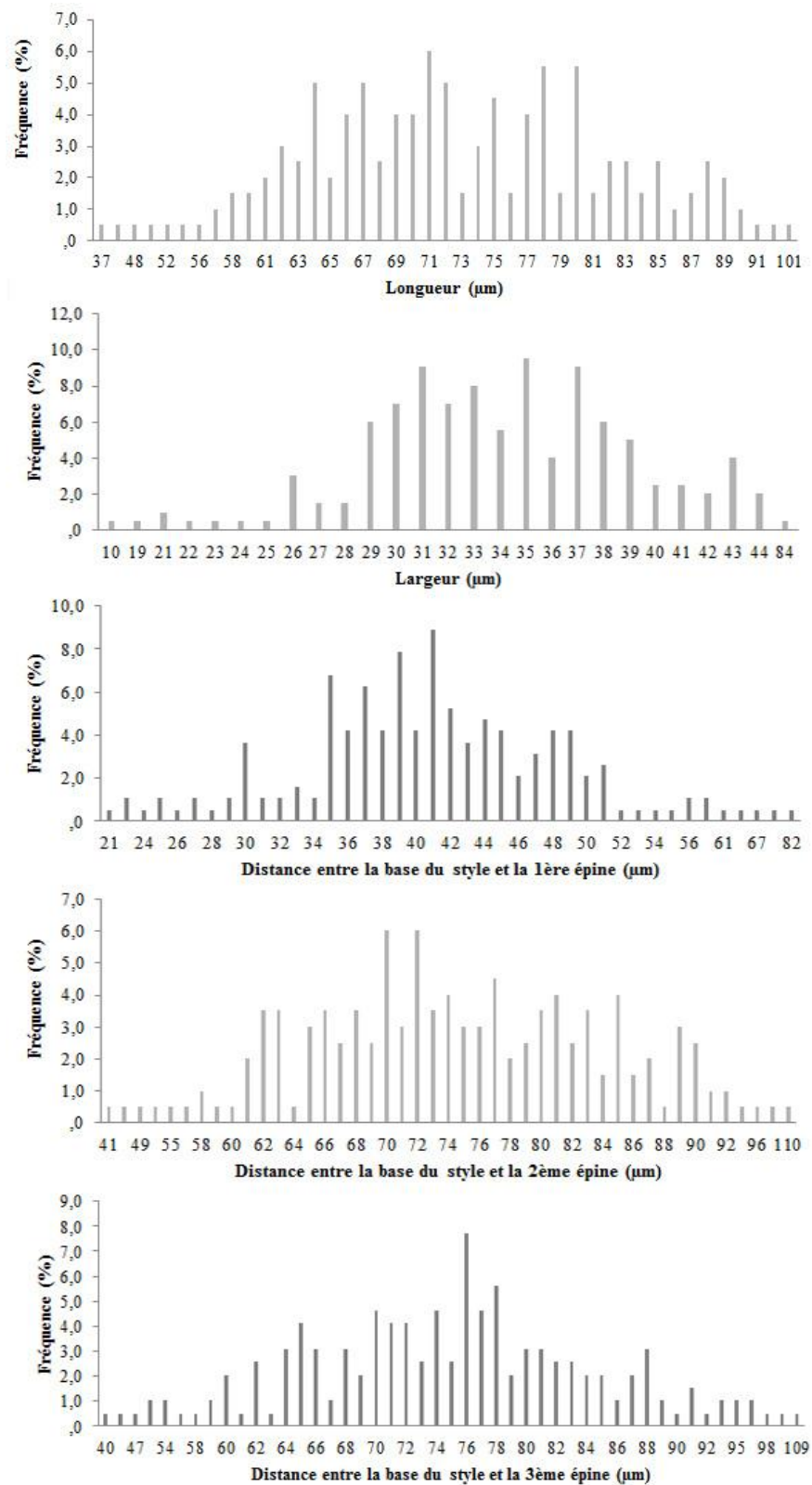


Figure 41. Distributions de caractères morphométriques du style de *P. sergenti* collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.

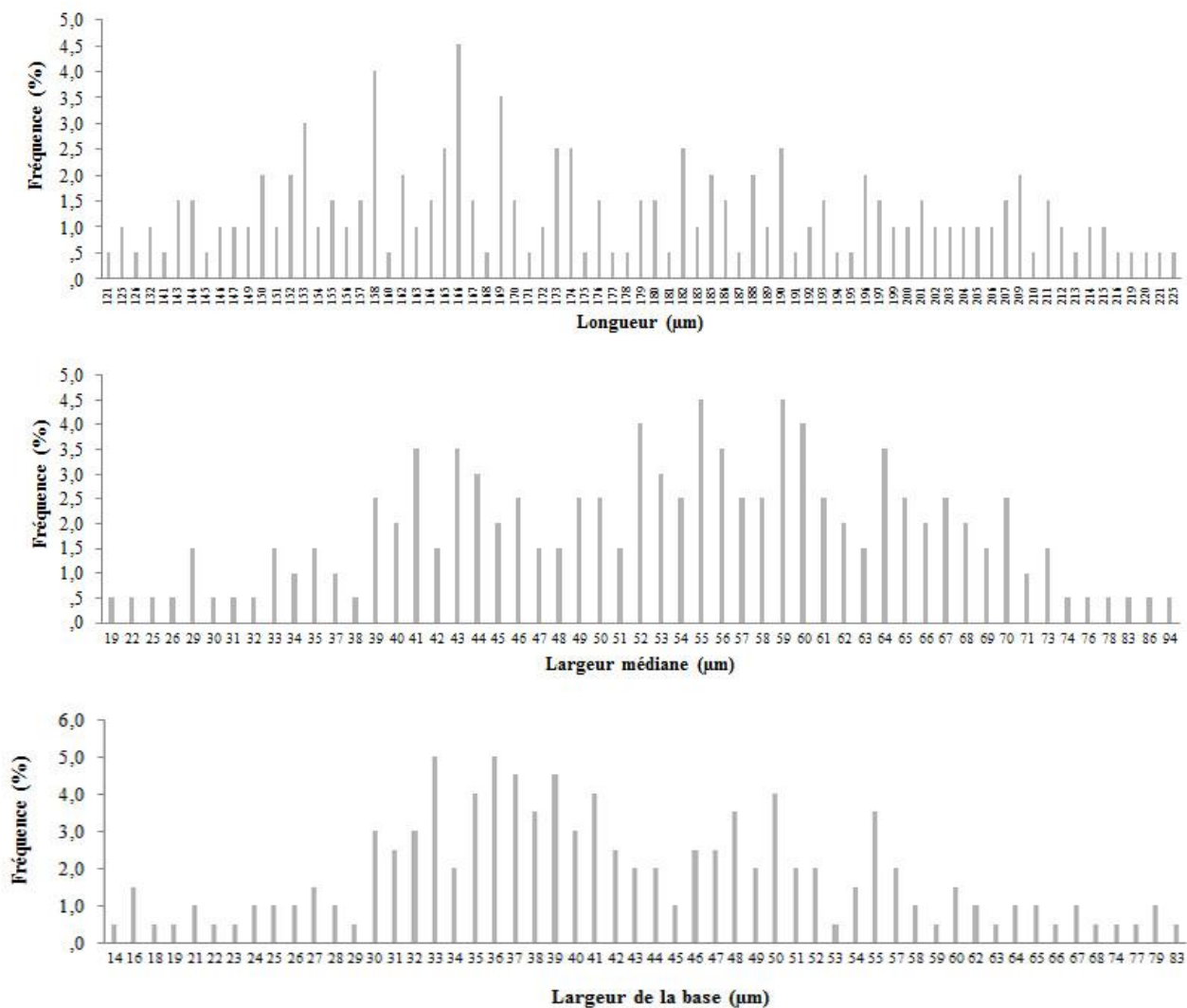


Figure 42. Distributions de caractères morphométriques du coxite de *P. sergenti* collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.

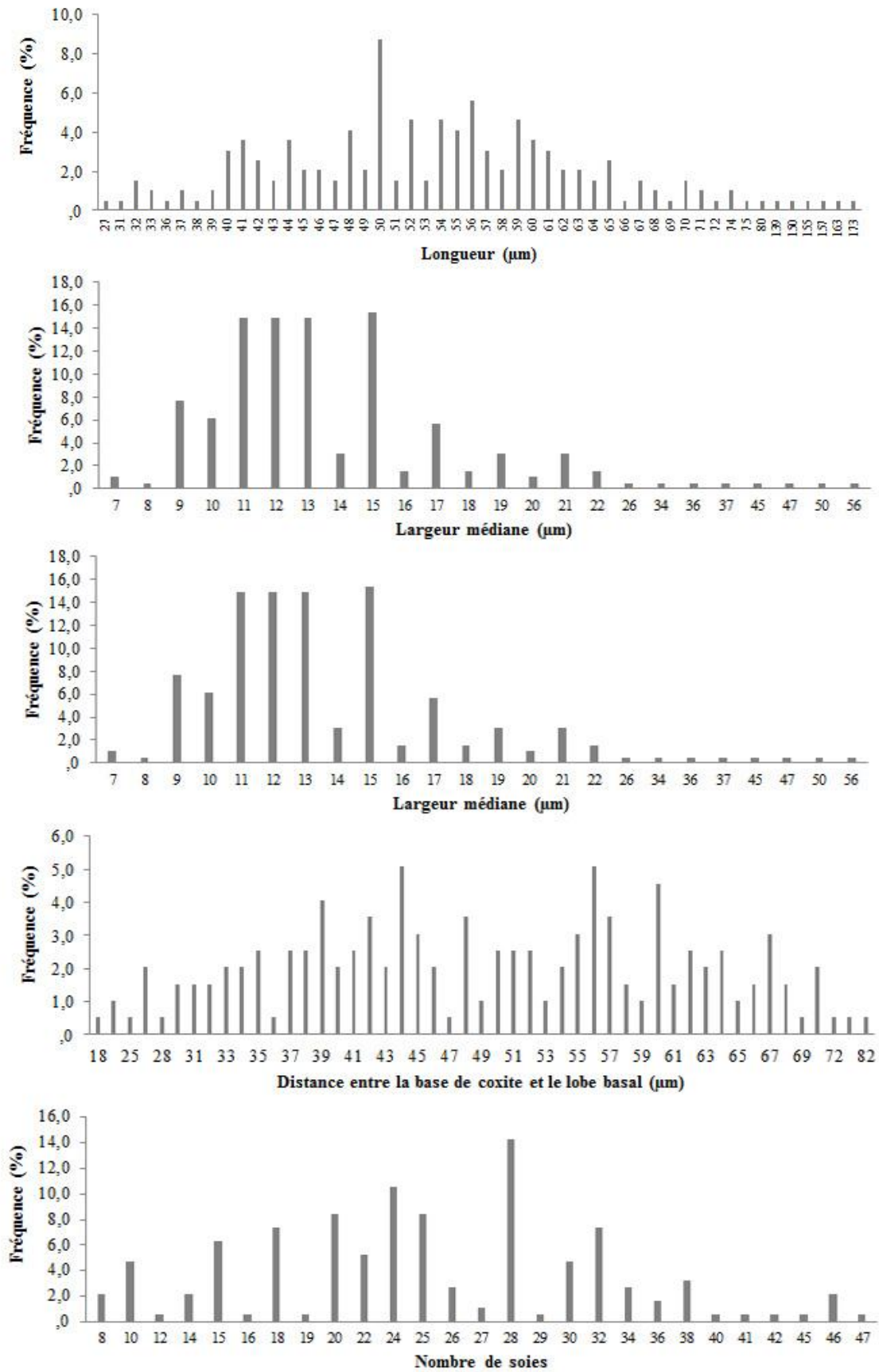


Figure 43. Distributions de caractères morphométriques du lobe basal de *P. sergenti* collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.

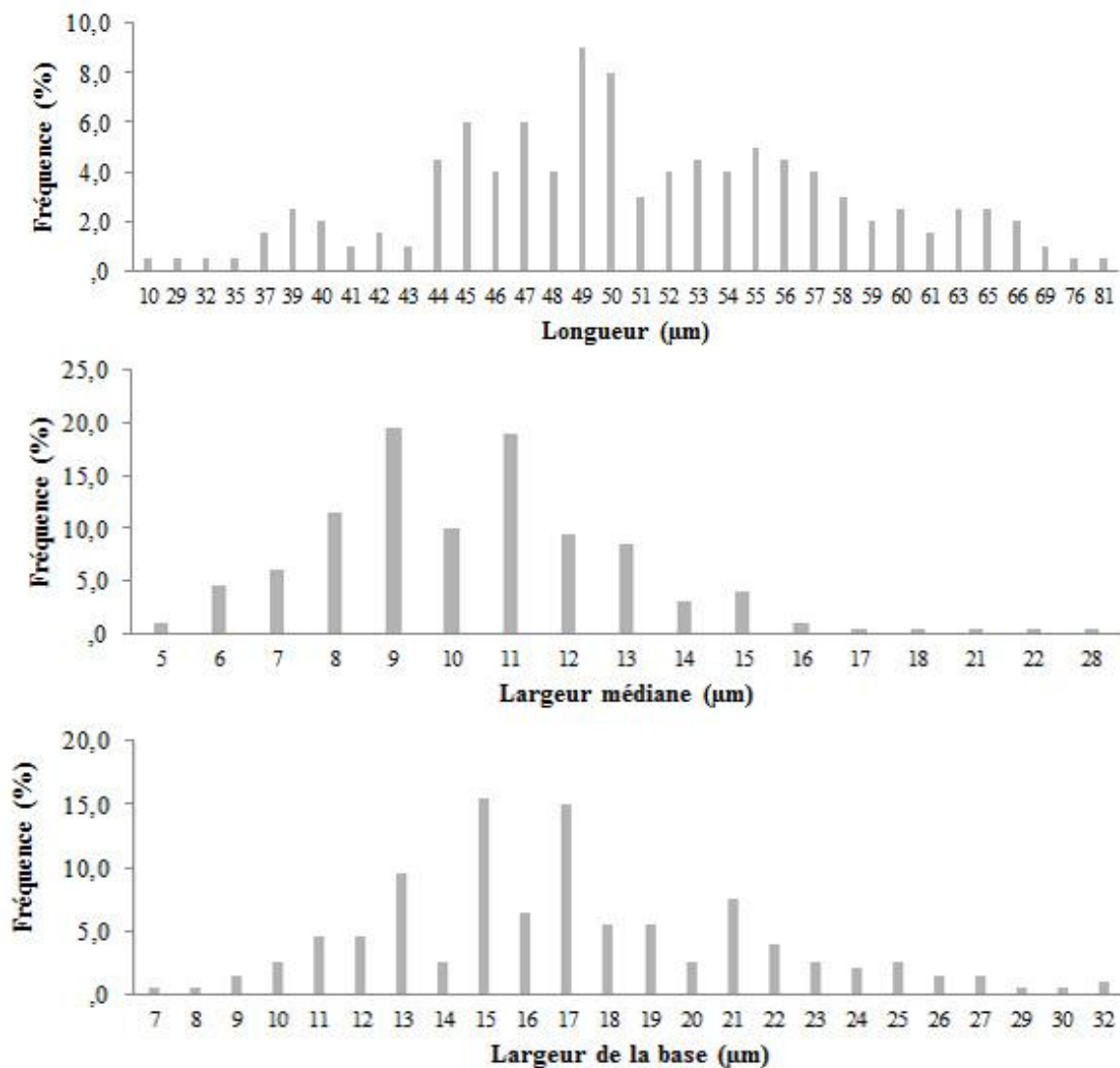


Figure 44. Distributions de caractères morphométriques de la valve de *P. sergenti* collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.

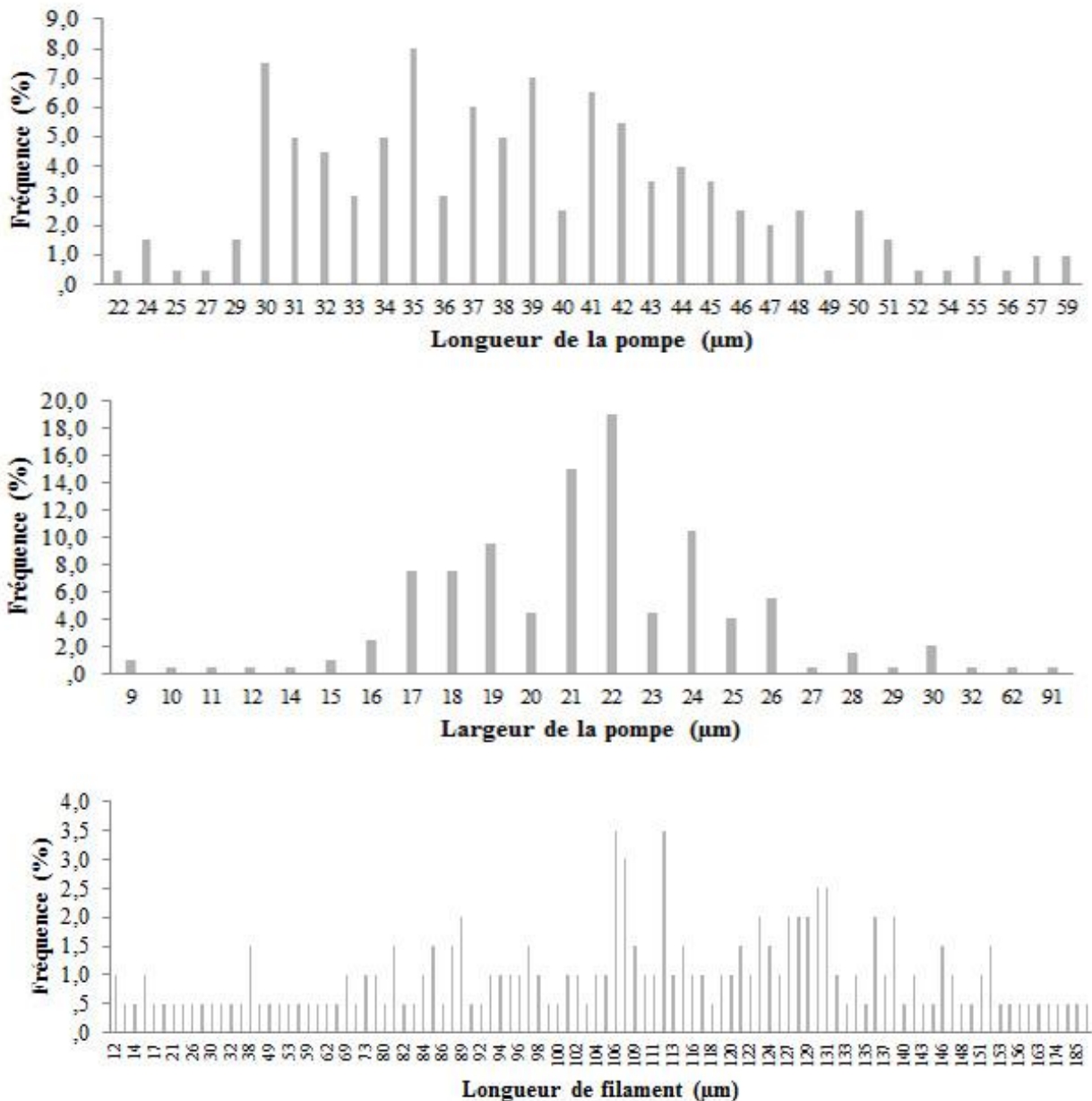


Figure 45. Distributions de caractères morphométriques du filament et de la pompe génitaux de *P. sergenti* collecté dans le foyer d'Azilal de mai à octobre 2017.

2. CARACTERISATION DU MORPHOTYPE DE STYLE

En générale, la longueur du style est de $72,61 \pm 9,62 \mu\text{m}$, sa largeur est de $34,15 \pm 6,27 \mu\text{m}$, et les distances entre la base du style et la 1^{ère}, la 2^{ème} et la 3^{ème} épine sont de $41,27 \pm 8,71 \mu\text{m}$, $74,59 \pm 10,15 \mu\text{m}$ et $74,74 \pm 10,49 \mu\text{m}$, respectivement (Tab. 13). L'analyse des cinq caractères du style montre des différences et des variations dans le même modèle avec une largeur et une distance entre la base du style et la 1^{ère} épine très variables (Fig. 46). Le rapport de corrélation entre la longueur du style et la station est de 0,44 et entre la distance entre la base du style et la 2^{ème}, la 3^{ème} épines et la station sont 0,39 et 0,38, respectivement. La longueur du style et les distances entre la base du style et la 2^{ème} et la 3^{ème} épine permettent la différenciation entre les sous-populations

Tableau 13. Détails de la morphométrie du style de *P. sergenti* dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d'Azilal, Maroc.

Caractères (µm)	Sous-populations	Bzou	Afourer	Tiski	Foum Jamaa	Tanant	Total
Longueur	N	34	36	49	72	4	199
	Moyenne ± DS (Min- Max)	74,82 ± 8,75 (48- 89)	65,05 ± 8.15 (37- 82)	73,30 ± 10,11 (52- 101)	75,83 ± 8,42 (51- 90)	67,25 ± 4,11 (62- 72)	72,61 ± 9,61 (37- 101)
	Variance	76,57	66,51	102,17	70,98	16,92	92,50
	Mode	78,00	64,00	71,00	75,00 ; 80,00	62,00	71,00
	Médiane	76,00	65,50	71,00	77,00	67,50	72,00
	Rapport de variation (%)	11,69	12,53	13,79	11,10	6,11	13,24
Largeur médiane	N	34	36	49	72	4	199
	Moyenne ± DS (Min- Max)	34,91 ± 4,56 (22- 44)	30,58 ± 4,81 (10- 42)	34,28 ± 8,25 (23- 84)	36,18 ± 5,40 (19- 44)	29,00 ± 1,63 (27- 31)	34,15 ± 6,27 (10- 84)
	Variance	20,81	23,16	68,17	29,16	2,66	39,38
	Mode	37,00	29,00 ; 31,00	33,00	37,00	29,00	35,00
	Médiane	35,00	31,00	33,00	37,00	29,00	34,00
	Rapport de variation (%)	13,06	15,73	24,06	14,92	5,63	18,37
Distance entre la base et la 1^{ère} épine	N	31	33	48	71	4	191
	Moyenne ± DS (Min- Max)	41,51 ± 6,95 (22- 53)	39,06 ± 8,94 (25- 82)	41,96 ± 10,04 (21- 80)	42,27 ± 8,49 (22- 61)	36,00 ± 4,96 (30- 42)	41,27 ± 8,71 (21- 82)
	Variance	48,39	21,17	100,89	72,14	24,66	75,98
	Mode	41,00 ; 48,00	41,00	39,00	41,00	30,00	41,00
	Médiane	41,00	38,00	40,00	42,00	36,00	41,00
	Rapport de variation (%)	16,74	22,88	23,92	20,08	13,79	21,12
Distance entre la base et la 2^{ème} épine	N	34	36	49	72	4	199
	Moyenne ± DS (Min- Max)	75,73 ± 8,54 (59- 99)	67,89 ± 11,17 (41- 94)	74,67 ± 10,02 (58- 110)	77,57 ± 8,93 (58- 96)	72,50 ± 7,18 (62- 78)	74,59 ± 10,15 (41- 110)
	Variance	72,99	124,90	100,35	79,71	51,66	103,14
	Mode	72,00 ; 80,00	70,00	77,00	85,00	62,00	70,00
	Médiane	75,50	69,00	73,00	79,00	75,00	74,00
	Rapport de variation (%)	11,27	16,45	13,42	11,51	9,91	13,61
Distance entre la base et la 3^{ème} épine	N	33	35	47	72	4	195
	Moyenne ± DS (Min- Max)	76,09 ± 9,31 (55- 99)	67,74 ± 9,29 (40- 88)	74,59 ± 10,88 (47- 109)	78,26 ± 9,98 (52- 98)	70,50 ± 5,80 (64- 78)	74,74 ± 10,49 (40- 109)
	Variance	86,71	86,25	118,55	99,63	33,66	110,22
	Mode	70,00 ; 76,00	68,00	76,00	77,00 ; 78,00; 80,00	64,00	76,00
	Médiane	76,00	68,00	74,00	78,00	70,00	75,00
	Rapport de variation (%)	12,23	13,71	14,58	12,75	8,23	14,04

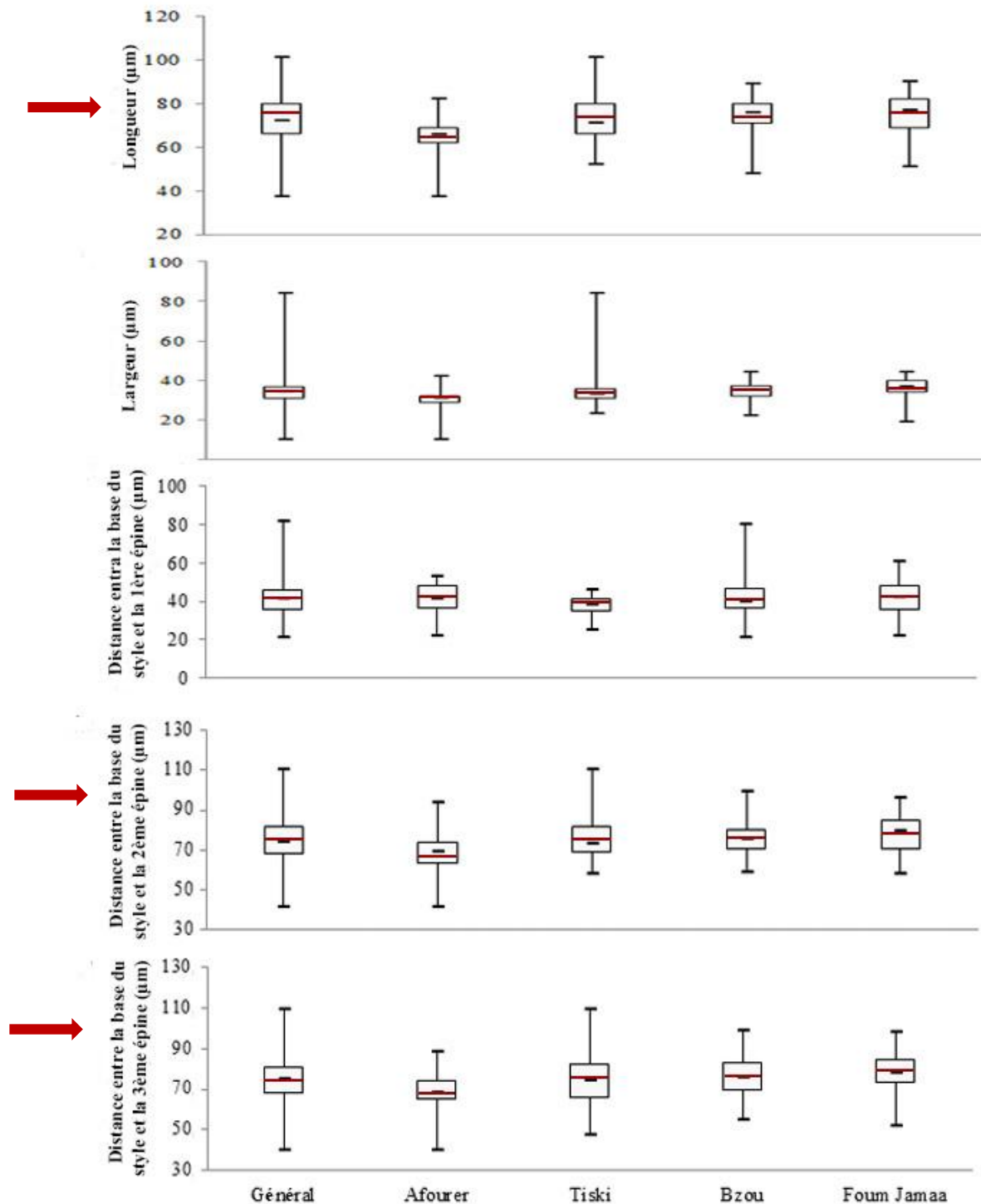


Figure 46. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du style de *P. sergenti* collecté dans différentes stations du foyer d’Azilal, Maroc

3. CARACTERISATION MORPHOMETRIQUE DU COXITE

La Longueur moyenne du coxite des *P. sergenti* est de $175,78 \pm 22,53 \mu\text{m}$, sa largeur médiane est de $53,32 \pm 12,52 \mu\text{m}$, et sa largeur de la base est de $41,81 \pm 12,13 \mu\text{m}$ (Tableau 14). Comme le style, les trois caractères morphométriques du coxite mesurés varient selon les sous-populations (Fig. 47). Les rapports de corrélation entre la longueur et la station, la largeur médiane et la station et la

largeur de la base du coxite et la station sont 0,36, 0,12 et 0,34, respectivement. En effet, la longueur du coxite est le caractère qui différencie les sous-populations. Les largeurs médianes et basales sont très variables.

Tableau 14. Détails de la morphométrie du coxite de *P. sergenti* dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d'Azilal, Maroc

Caractères (µm)	Sous populations	Bzou	Afourer	Tiski	Foum Jamaa	Tanant	Total
Longueur	N	34	36	49	71	4	199
	Moyenne ± DS (Min- Max)	183,35 ± 20,74 (121-225)	163,41 ± 10,80 (132- 188)	173,77 ± 23,06 (121- 225)	182,80 ± 23,83 (125- 220)	156,25 ± 15,73 (143- 179)	175,78 ± 22,53 (121- 225)
	Variance	507,50	116,70	532,01	567,92	247,58	507,50
	Mode	173,00	158,00 ; 166,00	166,00	170,00; 182,00; 207,00	143,00	166,00
	Médiane	188,00	164,50	169,00	184,00	151,50	173,00
	Rapport de variation (%)	11,31	6,61	13,27	13,04	1,07	12,81
Largeur médiane	N	34	36	49	71	4	195
	Moyenne ± DS (Min- Max)	51,67 ± 10,70 (22- 67)	54,47 ± 15,26 (19- 78)	51,98 ± 13,16 (26- 94)	55,03 ± 11,46 (29- 86)	45,25 ± 8,99 (33- 52)	53,39 ± 12,52 (19- 94)
	Variance	114,53	233,00	173,27	129,67	80,91	156,74
	Mode	40,00	41,00 ; 43,00 ; 44,00, 64,00 ; 70,00	59,00	60,00	52,00	55,00
	Médiane	53,00	57,00	53,00	56,00	48,00	54,00
	Rapport de variation (%)	20,71	28,01	25,32	20,82	19,88	23,45
Largeur de la base	N	34	36	48	71	4	194
	Moyenne ± DS (Min- Max)	39,14 ± 7,95 (22- 60)	34,91 ± 11,81 (16- 65)	45,60 ± 15,26 (14- 79)	44,07 ± 9,91 (21- 66)	58,50 ± 26,03 (36- 83)	41,81 ± 12,13 (14- 79)
	Variance	63,34	139,62	232,71	98,29	677,67	147,13
	Mode	78,00	30,00	40,00	33,00 ; 48,00	36,00	33,00
	Médiane	36,00 ; 46,00	31,50	43,00	43,00	57,50	40,00
	Rapport de variation (%)	20,31	33,83	33,46	22,48	44,50	29,01

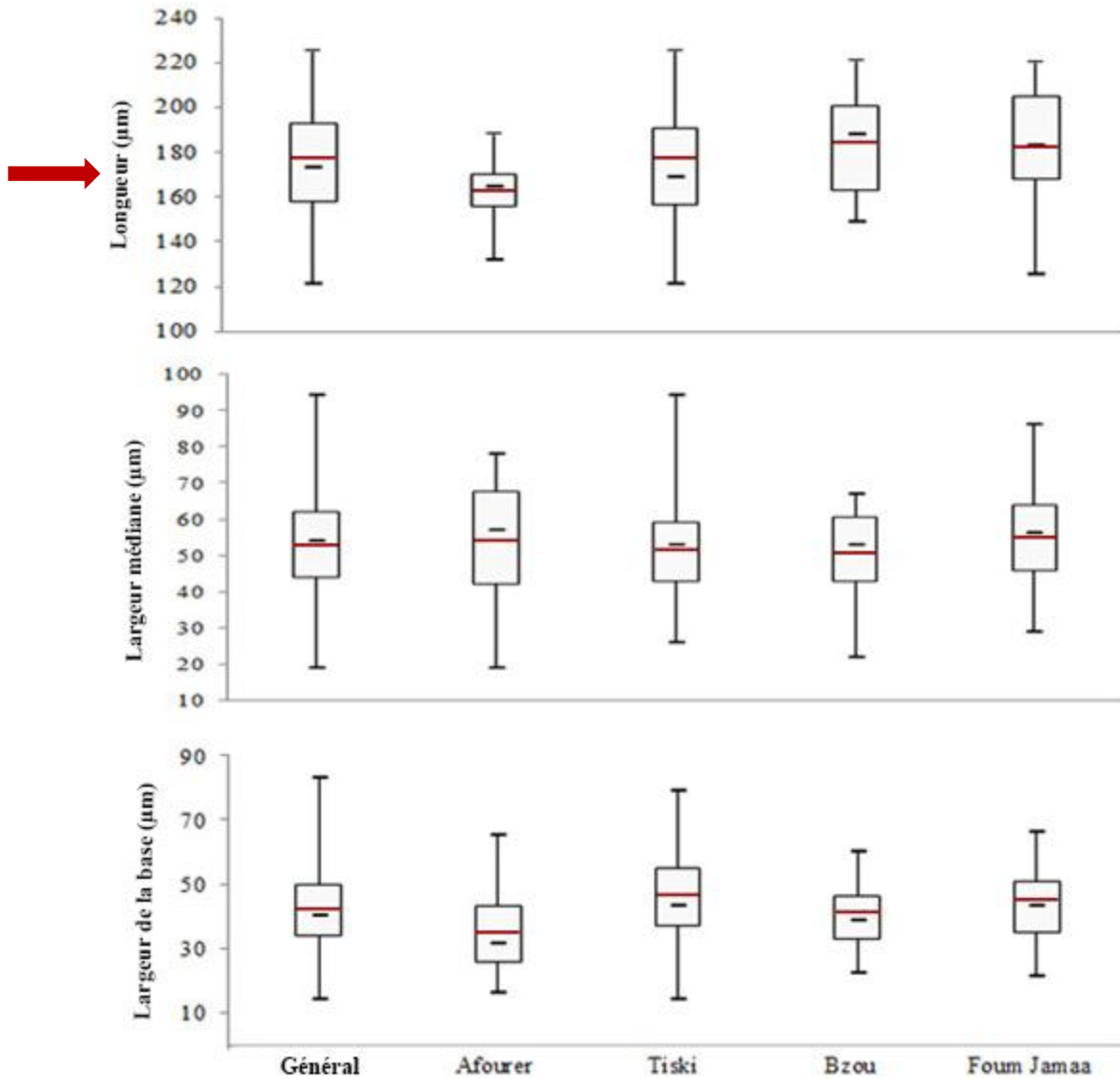


Figure 47. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du coxite de *P. sergenti* collecté dans différentes stations du foyer d’Azilal, Maroc.

4. CARACTERISATION MORPHOMETRIQUE DU LOBE BASAL

Globalement, la longueur du lobe basal est de $55,93 \pm 20,75 \mu\text{m}$, la largeur médiane et de la base sont de $14,55 \pm 6,80 \mu\text{m}$ et $12,82 \pm 7,64 \mu\text{m}$, respectivement, la distance entre la base du coxite et le lobe basal est de $49,49 \pm 12,24 \mu\text{m}$ et le nombre moyen des soies est de $24,78 \pm 8,16$ (Tab. 15). L’analyse montre de grandes variabilités pour chaque sous-population (Fig. 48), ce qui suggère que nous ne pouvons pas les utiliser pour comparer les sous-populations. Le rapport de corrélation entre la longueur et la station est de 0,17, entre la largeur médiane et la station est de 0,23, la largeur de la base et la station est de 0,21, la distance entre la base du coxite et le lobe basal et la station et entre le nombre de soies et la station sont de 0,30 et 0,20, respectivement.

Tableau 15. Détails de la morphométrie du lobe basal de *P. sergenti* dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d'Azilal, Maroc

Caractères (µm)	Sous populations	Bzou	Afourer	Tiski	Foum Jamaa	Tanant	Total
Longueur	N	33	36	49	69	4	187
	Moyenne ± DS (Min- Max)	57,97 ± 24,64 (31- 150)	51,41 ± 7,35 (37- 65)	52,53 ± 11,14 (27- 80)	59,74 ± 27,21 (33- 173)	57,75 ± 6,85 (48- 64)	55,93± 20,75 (27- 173)
	Variance	607,40	54,13	124,21	740,78	46,91	430,67
	Mode	50,00	50,00	54,00	48,00 ; 52,00 ; 55,00 ; 60,00	48,00	50,00
	Médiane	54,00	52,00	54,00	55,00	59,50	54,00
	Rapport de variation (%)	42,51	14,29	21,20	45,54	11,86	37,10
Largeur mmédiane	N	33	36	49	69	4	187
	Moyenne ± DS (Min- Max)	16,84 ± 10,44 (9- 50)	12,39 ± 3,06 (7- 19)	14,24 ± 4,60 (9- 35)	14,80 ± 7,09 (7- 56)	12,25 ± 2,21 (10- 15)	14,55 ± 6,80 (7- 56)
	Variance	109,07	9,39	21,23	50,28	4,91	46,75
	Mode	11,00	11,00 ; 15,00	11,00	13,00	10,00	15,00
	Médiane	13,00	11,50	13,00	13,00	12,00	13,00
	Rapport de variation (%)	61,99	24,70	32,30	47,90	18,10	46,12
Largeur de la base	N	34	33	49	72	4	188
	Moyenne ± DS (Min- Max)	13,91 ± 9,08 (2- 42)	10,33 ± 4,25 (3- 19)	14,10 ± 7,39 (3- 31)	13,54 ± 7,47 (3- 45)	41,00 ± 11,19 (31- 57)	12,82 ± 7,64 (1- 45)
	Variance	65,27	41,14	54,72	55,91	125,33	58,49
	Mode	8,00	8,00	12,00	11,00	31,00	10,00
	Médiane	11,00	10,00	13,00	12,00	38,00	11,00
	Rapport de variation (%)	65,27	41,14	52,41	55,17	27,30	59,66
Distance entre la base du coxite et le lobe basal	N	33	36	48	72	4	185
	Moyenne ± DS (Min- Max)	52,33 ± 13,47 (27- 82)	46,22 ± 9,82 (30- 75)	44,75 ± 12,24 (18- 72)	52,98 ± 11,48 (23- 70)	21,00 ± 11,60 (10- 36)	49,49 ± 12,24 (18- 82)
	Variance	181,60	96,46	150,02	131,84	134,67	150,05
	Mode	60,00	52,00	39,00	56,00	10,00	50,00
	Médiane	56,00	56,00	44,00	55,00	19,00	56,00
	Rapport de variation (%)	25,74	21,24	27,35	21,67	55,26	24,75
Nombre de soies	N	33	35	47	70	4	185
	Moyenne ± DS (Min- Max)	27,48 ± 7,99 (15- 46)	22,88 ± 5,94 (8- 32)	24,76 ± 10,18 (8- 47)	24,47 ± 7,48 (10- 38)	57,75 ± 6,85 (48- 64)	24,78 ± 8,16 (8- 47)
	Variance	63,88	35,40	103,62	56,02	46,91	66,59
	Mode	18,00 ; 20,00	28,00	24,00	28,00	48,00	28,00
	Médiane	26,00	24,00	24,00	25,00	59,50	25,00
	Rapport de variation (%)	29,08	26,00	41,10	30,58	11,86	32,92

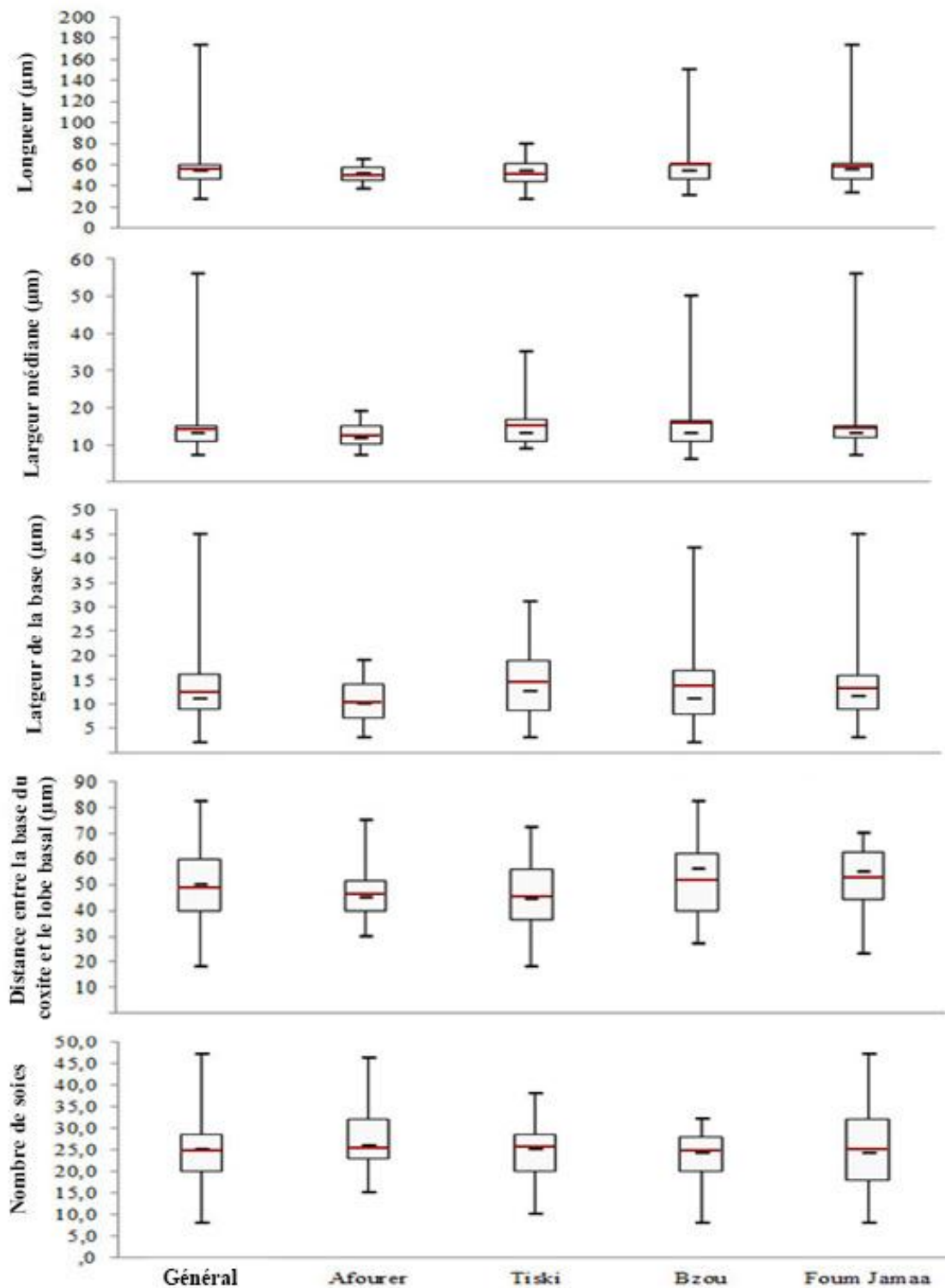


Figure 48. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du lobe basale de *P. sergenti* collecté dans différentes stations du foyer d'Azilal, Maroc

5. CARACTERISATION MORPHOMETRIQUE DES VALVES

Concernant les valves, la longueur est de $51,03 \pm 8,20 \mu\text{m}$, la largeur médiane est de $10,46 \pm 2,94 \mu\text{m}$ et celle de la base est de $17,16 \pm 4,52 \mu\text{m}$ (Tab. 16); les largeurs médianes et de la base sont très variables (Fig. 49). Les rapports de corrélation entre la longueur, les largeurs médiane et de la base et

la station sont de 0,29, 0,26 et 0,19, respectivement. Cependant, la longueur des valves permet la différenciation des sous-populations.

Tableau 16. Détails de la morphométrie des valves de *P. sergenti* dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d'Azilal, Maroc.

Caractères (µm)	Sous populations	Bzou	Afourer	Tiski	Foum Jamaa	Tanant	Total
Longueur	N	34	36	49	72	4	199
	Moyenne ± DS (Min- Max)	51,29 ± 7,40 (37- 76)	46,94 ± 6,88 (32- 63)	50,96 ± 9,95 (10- 81)	53,51 ± 7,15 (39- 69)	42,50 ± 4,79 (37- 47)	51,03 ± 8,20 (10- 81)
	Variance	54,88	47,37	99,08	51,13	23,00	67,27
	Mode	49,00	45,00	49,00 ; 55,00	50,00	37,00	49,00
	Médiane	49,50	46,50	50,00	53,00	43,00	50,00
	Rapport de variation (%)	14,43	14,66	19,52	13,36	11,28	16,07
Largeur médiane	N	34	36	49	72	4	199
	Moyenne ± DS (Min- Max)	9,14 ± 2,09 (5- 15)	10,08 ± 2,21 (6- 15)	11,04 ± 4,26 (5- 28)	10,90 ± 2,43 (6- 18)	10,00 ± 2,00 (9- 13)	10,46 ± 2,94 (5- 28)
	Variance	4,37	4,88	18,20	5,90	4,00	8,68
	Mode	9,00	9,00	9,00	11,00	9,00	9,00
	Médiane	9,00	10,00	10,00	11,00	9,00	10,00
	Rapport de variation (%)	22,86	21,92	38,58	22,29	20,00	28,17
Largeur de la base	N	34	36	47	72	4	198
	Moyenne ± DS (Min- Max)	15,67 ± 5,44 (8- 32)	16,89 ± 3,83 (10- 24)	17,23 ± 5,16 (9- 32)	18,01 ± 3,93 (10- 30)	19,00 ± 3,91 (15- 24)	17,16 ± 4,52 (8- 32)
	Variance	29,68	14,67	26,62	15,45	15,33	20,50
	Mode	13,00	17,00	15,00	17,00	15,00	15,00
	Médiane	15,00	17,00	15,00	18,00	18,50	17,00
	Rapport de variation (%)	34,71	22,67	29,95	21,82	20,61	26,39

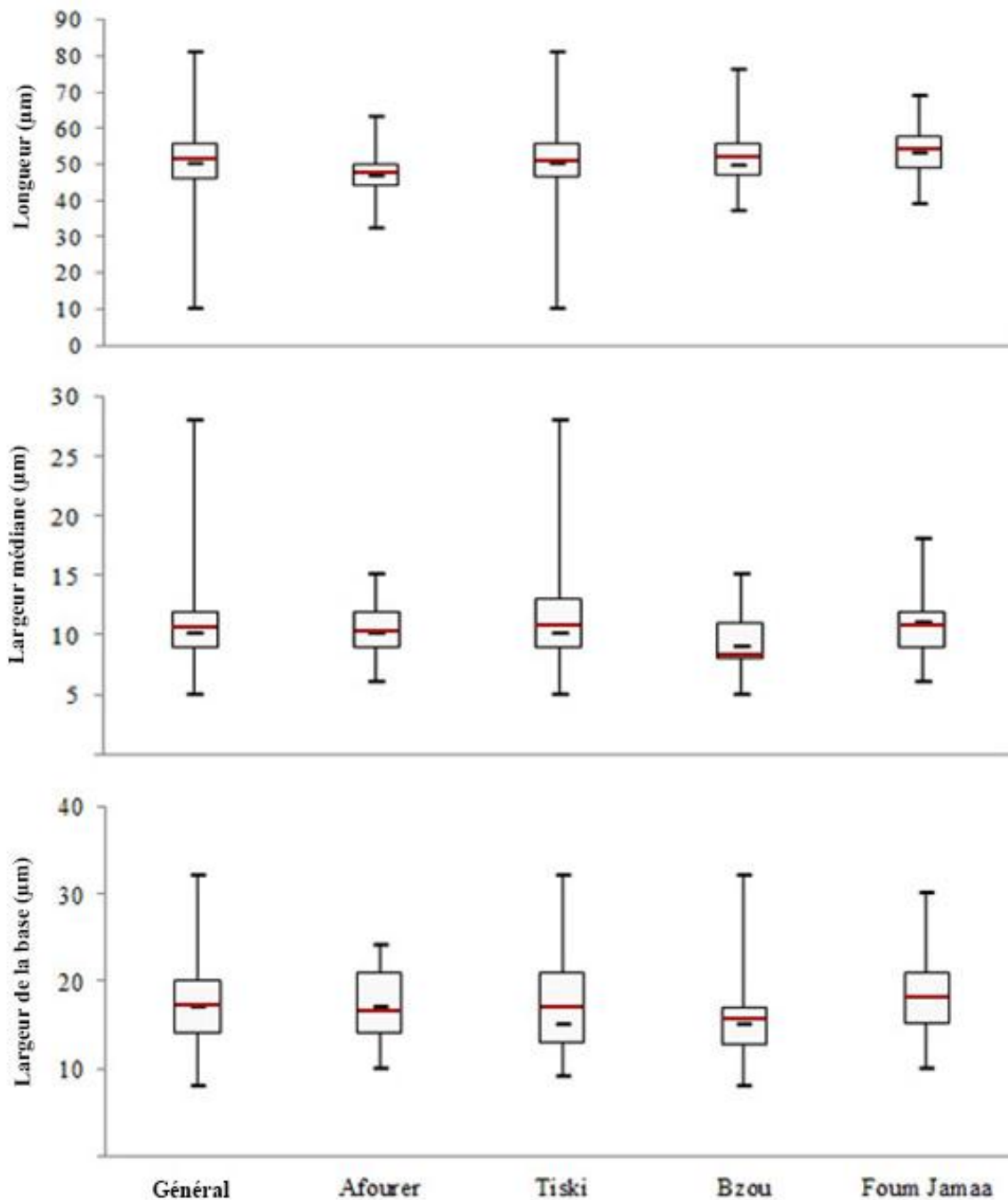


Figure 49. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques des valves de *P. sergenti* collecté dans différentes stations du foyer d’Azilal, Maroc.

6. CARACTERISATION MORPHOMETRIQUE DU FILAMENT ET DE LA POMPE GENITAUX

La longueur du filament génital des *P. sergenti* du centre du Maroc est de $109,56 \pm 30,03 \mu\text{m}$, la longueur et la largeur de la pompe génitale sont de $38,22 \pm 6,58 \mu\text{m}$ et $22,19 \pm 6,62 \mu\text{m}$, respectivement (Tab. 17). En effet, la longueur du filament génital et la largeur de la pompe génitale indiquent une variation intra-sous-population importante (Fig. 50). Le rapport de corrélation entre la

longueur du filament génital et la station est de 0,28 et entre la longueur et la station et la largeur médiane de la pompe génitale et la station sont 0,30 et 0,22, respectivement. La longueur de la pompe génitale est le seul caractère morphométrique permettant la distinction des sous-populations.

Tableau 17. Détails de la morphométrie du filament et de la pompe génitaux de *P. sergenti* dans les différentes stations échantillonnées dans le foyer d'Azilal, Maroc.

Caractères (µm)	Sous populations	Bzou	Afourer	Tiski	Foum Jamaa	Tanant	Total
Longueur de la pompe génitale	N	34	35	45	71	4	189
	Moyenne ± DS (Min- Max)	37,58 ± 4,62 (30- 51)	34,77 ± 5,21 (22- 45)	40,02 ± 8,71 (24- 57)	39,05 ± 6,10 (29- 54)	18,75 ± 2,87 (17- 23)	38,22 ± 6,65 (22- 57)
	Variance	21,40	27,24	75,88	37,28	8,25	44,21
	Mode	39,00 ; 42,00	35,00	50,00	37,00 ; 44,00	17,00	35,00
	Médiane	38,00	35,00	40,00	39,00	17,50	38,00
	Rapport de variation (%)	12,29	15,01	21,76	15,62	15,32	17,39
Largeur médiane de la pompe génitale	N	34	35	45	71	4	189
	Moyenne ± DS (Min- Max)	22,88 ± 7,39 (16- 62)	19,51 ± 2,04 (16- 23)	22,91 ± 10,79 (16- 91)	22,93 ± 3,35 (15- 32)	65,25 ± 35,63 (31- 261)	22,19 ± 6,62 (15- 91)
	Variance	54,65	4,20	116,53	11,21	1269,58	43,93
	Mode	21,00	19,00	22,00	22,00	31,00	22,00
	Médiane	21,50	19,00	22,00	22,00	66,50	22,00
	Rapport de variation (%)	32,30	10,51	47,10	14,61	54,60	29,86
Longueur du filament génital	N	34	36	44	71	4	188
	Moyenne ± DS (Min- Max)	123,91 ± 28,05 (29- 205)	103,71 ± 18,62 (58- 147)	100,50 ± 30,88 (20- 151)	114,81 ± 38,16 (12- 185)	38,75 ± 5,91 (34- 47)	109,56 ± 33,33 (12- 205)
	Variance	787,05	346,74	953,85	1456,58	34,91	1111,06
	Mode	127,00	112,00	85,00 ; 131,00	106,00 ; 128,00 ; 136,00 ; 138,00	34,00	106,00 ; 112,00
	Médiane	127,00	107,00	101,00	123,00	37,00	112,00
Rapport de variation (%)	22,64	17,95	30,72	33,24	15,25	30,42	

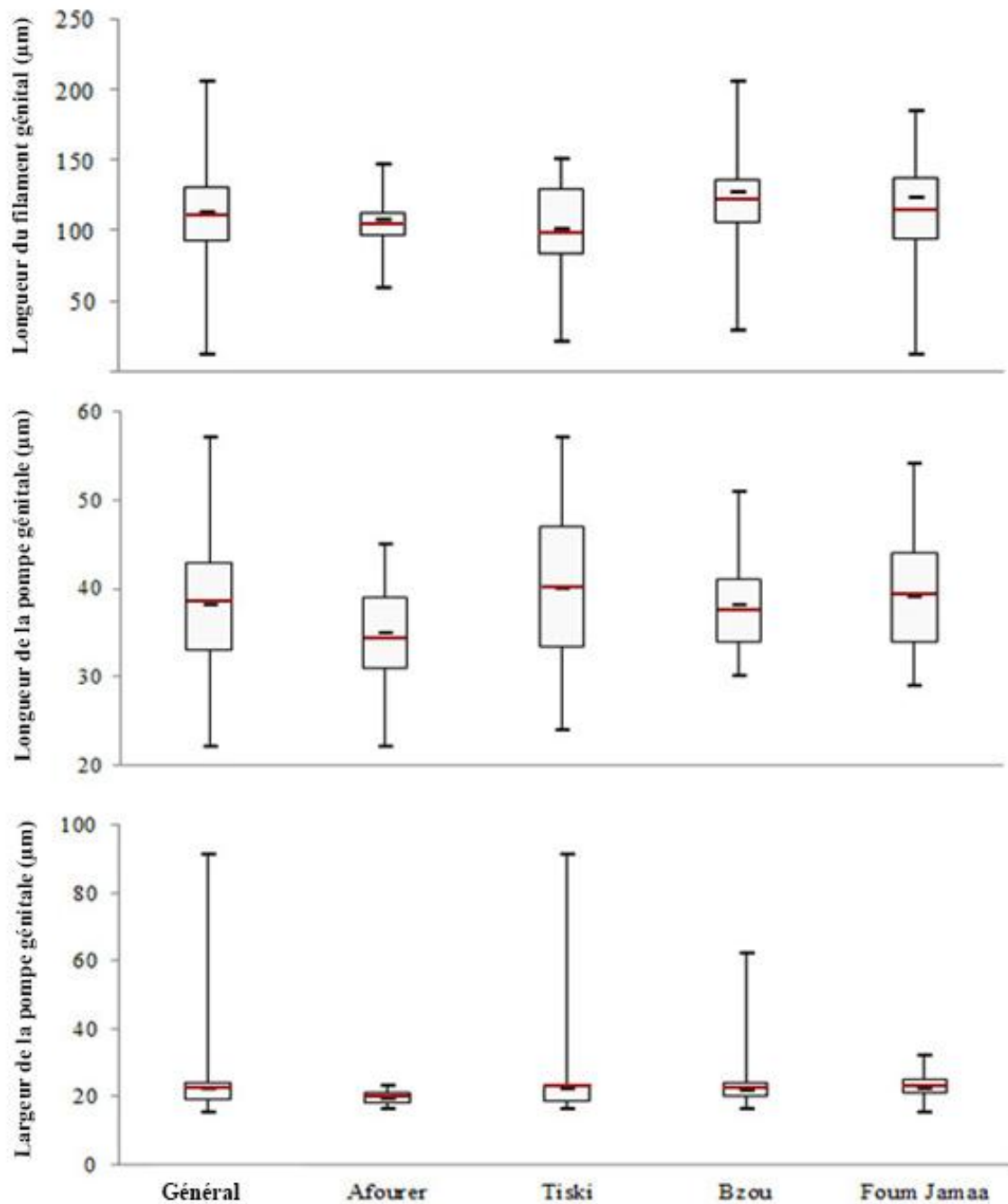


Figure 50. Boîtes à moustaches représentant la variation des caractères morphométriques du filament et de la pompe génitaux de *P. sergenti* collecté dans différentes stations du foyer d’Azilal, Maroc.

7. MORPHO-TYPOLOGIE DE *P. SERGENTI*

L’analyse multi-variée a montré que les deux premiers axes expliquaient 49,92 % de la variation totale et que les caractères les plus discriminants pour différencier les morphes étaient les longueurs du style et du coxite (Fig. 51A). Afin de confirmer ces trois morphes de *P. sergenti*, nous avons effectué une analyse multi-variée en regroupant les neuf caractères morphométriques (longueur du style, distance entre la base du style et la 2^{ème} et la 3^{ème} épines, longueur du coxites, longueur du lobe basale, nombre de soies, la distance entre la base du coxite et le lobe basale, longueur des valves et longueur

de la pompe génitale). L'analyse des variables canoniques (Fig. 51B) a montré trois morphotypes de *P. sergenti*; un morphotype caractérisait la sous-population d'Afourer, le second indiquait que la sous-population de Tiski avait un morphotype intermédiaire et le morphotype des sous-populations de Bzou et de Fourn Jamaa.

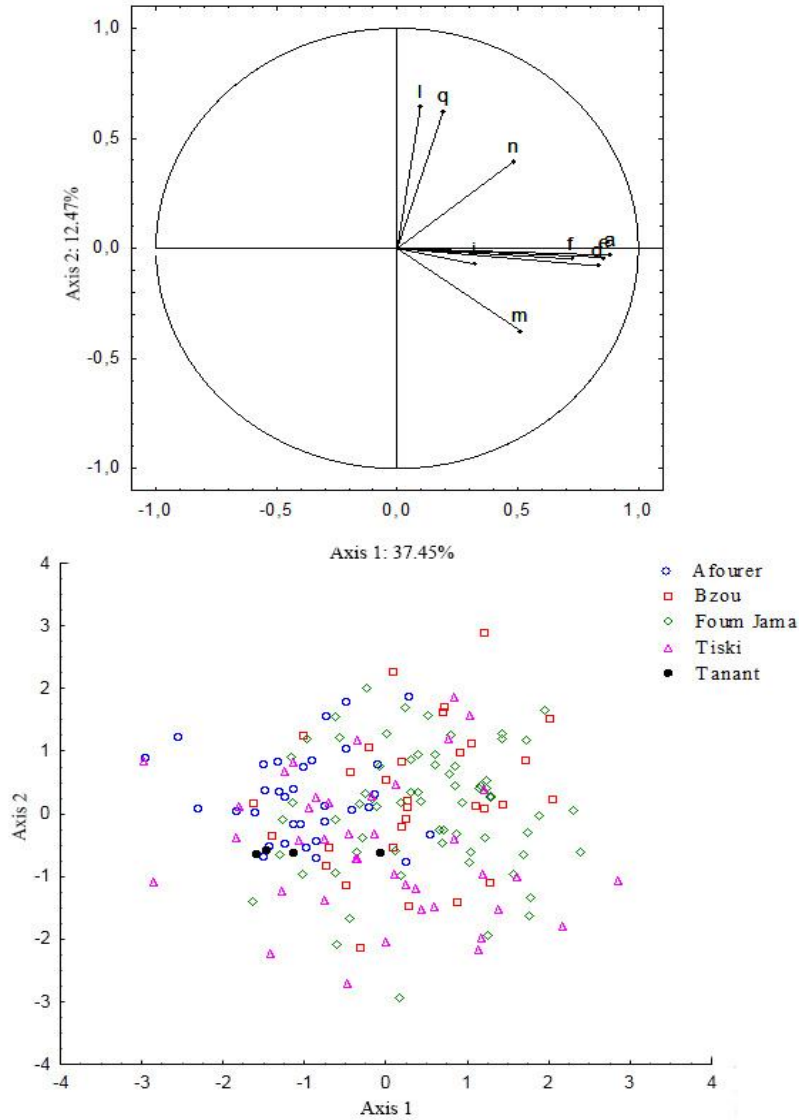


Figure 51. Caractéristiques de l'analyse en composante principale : (A) plan factoriel 1 et 2 regroupant 49,92 % de l'inertie totale (B) Analyse canonique de *P. sergenti* collectée dans le focus d'Azilal.

Style: **a:** Longueur; **d:** Distance entre la base du style et la 2^{ème}; **e:** la 3^{ème} épines ;

Coxite: **f:** Longueur ;

Lobe basal: **i:** Longueur; **l:** Nombre de soies; **m:** Distance entre la base du coxite et le lobe basal

Valves: **n:** Longueur ;

Pompe génitale: **q:** Longueur.

II. CARACTERISATION MORPHOMETRIQUE TEMPORELLE DE LA LONGUEUR DU COXITE

Pour analyser la variation temporelle du génitalia de *P. sergenti*, nous nous sommes basé sur la longueur du coxite vue qu'elle représente le caractère le plus discriminant et en plus elle est plus facile à mesurer que la longueur du style.

La morphométrie de la longueur du coxite de *P. sergenti* selon les dates de capture dans le foyer d'étude sont sur la figure 52 et le tableau 18. En général, En mai, la moyenne était de $180,70 \pm 25,32 \mu\text{m}$, en juin de $174,45 \pm 24,45 \mu\text{m}$, en juillet de $180,59 \pm 21,84 \mu\text{m}$ et en août et septembre de $179,74 \pm 20,24 \mu\text{m}$ et $168,71 \pm 13,84 \mu\text{m}$, respectivement. La variation concernait essentiellement deux longueurs ; [121-181] et [205-299] (Fig. 52). La différence de longueur des coxites entre les dates de collecte a été observée. Cependant, en mai, la longueur du coxite était principalement de 205 μm à 299 μm . En juin, juillet et août, les coxites avaient des longueurs intermédiaires ([181-205]), tandis qu'en septembre, *P. sergenti* avait des coxites relativement courts ([121-181]

Tableau 18. Détails de la morphométrie de la longueur du coxite de *P. sergenti* dans les différentes dates de collecte dans le foyer d'Azilal, Maroc.

Caractère (μm)	Dates	Mai (N=23)	Juin (N= 89)	Juillet (N= 37)	Août (N= 19)	September (N= 31)
Longueur de coxite	Moyenne \pm DS (Min- Max)	180.70 ± 25.32 (143- 220)	174.45 ± 24.45 (121- 221)	180.59 ± 21.84 (125- 225)	179.74 ± 20.24 (132- 209)	168.71 ± 13.84 (144- 196)
	Mode	153.00 ; 158.00 ; 179.00	153.00 ; 190.00	155.00 ; 166.00 ; 169.00 ; 174.00 ; 182.00 ; 202.00 ; 207.00	180.00 ; 186.00	166.00
	Médiane	179.00	170.00	177.00	183.00	166.00
	Rapport de variation (%)	14.01	14.01	12.09	11.25	8.20

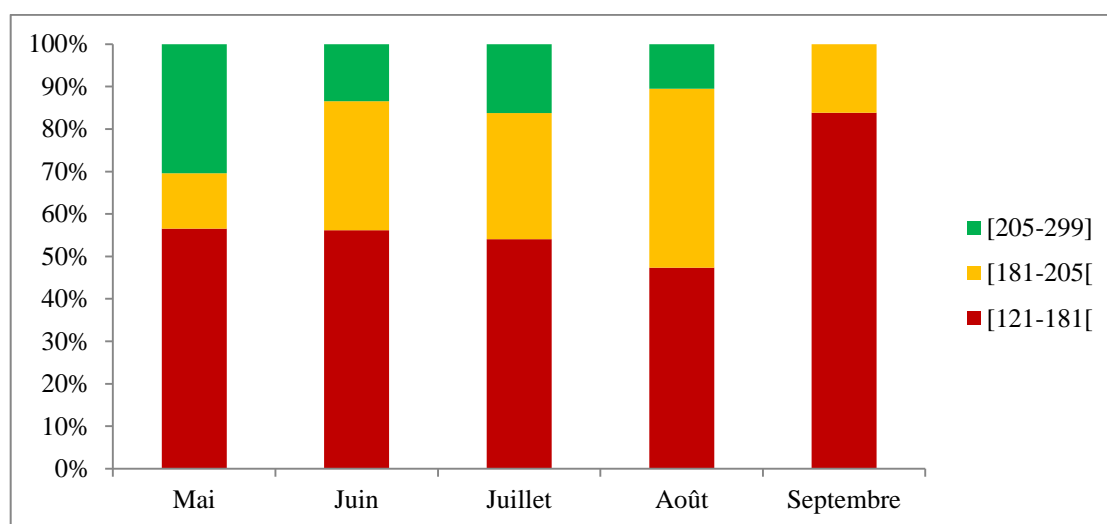


Figure 52. Distribution de la longueur du coxite de *P. sergenti* en fonction des dates de collecte dans le foyer d'Azilal, Maroc.

III. COMPARAISON AVEC LES RESULTATS ANTERIEURS

Nos résultats sont comparés aux données publiées pour *P. sergenti* de l'Espagne, du bassin méditerranéen, du Pakistan et d'Essaouira (Maroc) (Tab. 19). La population de la Crète est complètement différente de la nôtre (Rémy-Kristensten *et al.*, 1996). Pour le *P. sergenti* recueilli dans le foyer d'Azilal, les styles étaient plus petits et les coxites plus courts que ceux de Tenerife, du bassin méditerranéen, et du Pakistan (Rémy-Kristensten *et al.*, 1996 ; Depaquit *et al.*, 1998a ; Kakarsulemankhel 2004a, 2004b). De plus, en comparant nos spécimens à ceux du bassin méditerranéen et du Pakistan (Depaquit *et al.*, 1998a ; Kakarsulemankhel 2004a, 2004b), on a noté qu'ils avaient des styles serrés. Les lobes basaux de nos quatre sous-populations étaient comparables à ceux de Rémy-Kristensten *et al.* (1996), Depaquit *et al.* (1998a) Kakarsulemankhel (2004a, 2004b), et Yahia *et al.* (2004).

DISCUSSION

P. sergenti est un vecteur prouvé de *L. tropica* (Killick-Kendrick 1990) en Arabie Saoudite (Al-Zahrani *et al.*, 1988), en Israël (Jacobson, 2003) et notamment au Maroc (Guilvard *et al.*, 1991). *P. sergenti* est un complexe d'espèces, avec une grande diversité génétique de ses populations sur son surface de distribution (Depaquit *et al.*, 2002, Dvorak *et al.*, 2006, Barón *et al.*, 2008).

Cette étude concerne les variations morphométriques spatio-temporelles des génitalia de *P. sergenti* dans le foyer classique de LC à *L. tropica* au Maroc (Marty *et al.*, 1989). Nos résultats montrent une population hétérogène de *P. sergenti*. Un résultat similaire a été trouvé par Srinvarsan & Janbulingan (2012) et Noteila (2011) pour *P. papatasi* dans différentes régions physiographiques de l'Inde et au Soudan respectivement, et pour *P. argentipes* par Lane (1988) dans le Vieux Monde, et Surendran *et*

al. (2005) au Sri Lanka. Les facteurs environnementaux sont peut-être responsables de cette variation de la population.

De plus, six caractères morphométriques varient dans le même sens dans chaque sous-population (longueur du style, distance entre les bases du style et la 2^{ème} et la 3^{ème} épines, longueurs du coxite, des valves et de la pompe génitale). Cette différence entre les caractères morphométriques peut être attribuable à la capacité de dispersion relativement faible des phlébotomes, qui détermine la fixation des caractères morphologiques dans la population locale (Munstermann *et al.*, 1998; Killick-Kendrick, 1999). De même, Santos *et al.* (2015) ont montré sept caractères qui représentent les principales différences entre les populations mâles du complexe *Lu. Longipalpis* à Mato Grosso do Sul, Brésil.

Les analyses multi-variées montrent d'une part que le style et les longueurs de coxite étaient les principaux caractères qui distinguent les quatre sous-populations dans le foyer d'Azilal. En effet, au Soudan, Noteila (2011) a montré que les longueurs de la coxite et de la pompe génitale étaient des caractères discriminants entre les populations de *P. papatasi*. Cela est dû à l'effet des conditions environnementales sur les caractéristiques morphologiques de l'organisme vivant, en particulier pour les phlébotomes (Chemkhi *et al.*, 2015). D'autre part, trois morphotypes de la population de *P. sergenti* se distinguent ; Afourer morphotype, Tiski morphotype, et le morphotype comprenant toutes les deux autres sous-populations d'Azilal focus. Belen *et al.* (2004) ont montré les différences entre les populations locales de *P. papatasi*. Cela pourrait s'expliquer par des facteurs climatiques, écologiques et sociobiologiques (Prudhomme *et al.*, 2012) et/ou par les différentes conditions physiques (Dvorak *et al.*, 2006). Au Maroc, Guernaoui *et al.*, (2010) ont révélé une variation phénotype des organes génitaux de *P. papatasi* entre la population du centre et du sud du Maroc. Ils ont indiqué que ces variations sont associées aux perturbations environnementales puisqu'elles sont répandues dans les décharges sauvages et les zones d'épandage des eaux usées.

Tableau 19. Comparaison des caractères morphométriques de *P. sergenti* entre l'Espagne, Pakistan, Maroc, Algérie et les sous populations du foyer d'Azilal

	Caractères (µm)	Style		Lobe basal		Coxite
	Origine	Longueur	Largeur	Longueur	Nombre de soies	Longueur
Rémy-Kristensen <i>et al.</i>, 1996	Tenerife (n= 38)	115,7 ± 7,3 (100-134)	Donnée absente	52,5 ± 5,4 (40-60)	15,6 ± 1,5 (13-19)	226,4 ± 14,0 (200-258)
	Crète	122,5 ± 4,4 (114- 136) (n=39)	Donnée absente	251,4 ± 9,5 (230-270) (n=38)	64,2 ± 4,6 (52- 70) (n=41)	26,5 ± 2,5 (21- 34) (n=31)
Depaquit <i>et al.</i>, 1998a	Bassin Méditerranéen (n=116)	104 ± 7,75	40 ± 4,38	44 ± 6,29	18,61 ± 3,36	228 ± 11,56
Kakarsulemankhel, 2004a	Balûchistân (n=140)	(90- 100)	(40- 50)	(44- 60)	Donnée absente	(220- 290)
Kakarsulemankhel, 2004b	Balûchistân (SW Pakistan) (n=52)	95 (90- 100)	46 (40- 50)	52 (44-60)	(13- 15)	250 (220-290)
Yahia <i>et al.</i>, 2004	Essaouira (n=30)	Donnée absente	Donnée absente	40,60 ± 4,50 (30,40- 49,10)	15,19 ± 2,72 (11- 22)	Donnée absente
Notre étude	Foum Jamaa	75,83 ± 8,42 (51- 90) (n=72)	36,18 ± 5,40 (19- 44) (n=72)	59,74 ± 27,21 (33- 173) (n=69)	24,47 ± 7,48 (10-38) (n=70)	182,80 ± 23,67 (125- 220) (n=71)
	Tiski (n=49)	73,30 ± 10,11 (52- 101)	34,28 ± 8,25 (23- 84)	52,53 ± 11,14 (27- 80)	24,76 ± 10,18 (8-47) (n=47)	173,77 ± 23,06 (121- 225)
	Afourer (n=36)	65,05 ± 8,15 (37- 82)	30,58 ± 4,81 (10- 42)	51,41 ± 7,35 (37- 65)	22,88 ± 5,94 (8- 32)	163,41 ± 10,80 (132- 188)
	Bzou	74,82 ± 8,75 (48- 89) (n=34)	34,91 ± 4,56 (22- 44) (n=34)	57,96 ± 24,64 (31- 150) (n=33)	27,48 ± 7,99 (15- 46) (n=33)	183,35±20,74 (149- 221) (n=34)

CHAPITRE VII
ETUDE GEO-MORPHOMETRIQUE DES AILES DE
P. SERGENTI

INTRODUCTION

Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti, Parrot, 1917, est un vecteur prouvé de *L. tropica* (Wright, 1903), agent causal de la leishmaniose cutanée anthroponotique (Al-Zahrani *et al.*, 1988, Killick-Kendrick, 1990, Guilvard *et al.*, 1991). Le mâle de cette espèce est décrit d'Algérie et la femelle du Proche Orient 10 ans plus tard. La question de l'originalité du taxon reste réfléchié jusqu'à aujourd'hui. Sa répartition s'étend vers l'est en Iran, en ex-URSS, au Pakistan et en Inde. En région afro-tropicale, il est signalé dans de rares stations d'altitude (Abonnenc, 1972). C'est un vecteur dont la distribution dépasse largement celle de son parasite (Depaquit *et al.*, 2000a). Génétiquement, tous les travaux antérieurs, utilisant ITS2 ADNr et/ou le Cyt b ADNm, parlent d'une espèce génétiquement hautement diversifiée et suggèrent l'existence possible d'espèces de phlébotomes (espèces cryptiques) étroitement apparentées ayant des capacités vectorielles différentes (Depaquit *et al.*, 2002, Yahia *et al.*, 2004, Barón *et al.*, 2008).

Au Maroc, *P. sergenti* est largement répartie dans tout le pays, avec une capacité d'adaptation à différents bioclimats et une préférence marquée pour les habitats semi-arides (Rioux *et al.*, 1984, Guernaoui & Boumezzough, 2009). Dans les régions où la transmission de *L. tropica* se fait d'une façon active, il est étroitement associé à l'habitat humain avec une capacité domestique et péri-domestique à transmettre le parasite (Guernaoui *et al.*, 2005b, Guernaoui & Boumezzough, 2009). Génétiquement, Yahia *et al.* (2004) ont comparé, en utilisant Cyt b ADNm, les populations de trois foyers marocains ; Taza, Azilal et Essaouira, et ont identifié trois lignées mitochondriales différentes avec une diversité génétique exceptionnelle dans le foyer d'Azilal. Cependant, aucune liaison n'a été faite entre la diversité génétique et les caractères morphologiques au Maroc ou ailleurs dans l'aire de distribution.

La géo-morphométrie (GM) est une technique utilisant les principes de la géométrie morphométrique. Elle est développée pour l'analyse de la variation morphologique des organismes et de la morphométrie des ailes (Dujardin, 2008). Ces méthodes peuvent être un outil taxonomique utile pour la reconnaissance des spécimens appartenant à des taxons morphologiques déroutants (Lane & Ready, 1985), et ont montré leur intérêt pour étudier les variations spatio-temporelles chez plusieurs espèces, notamment ; *P. tobbi*, *P. papatasi* et *P. ariasi* (Oguz *et al.*, 2017, Prudhomme *et al.*, 2012, 2016).

Dans ce travail, nous étudions pour la première fois, la morphologie de l'aile de *P. sergenti*, en confrontant les résultats des études morphométrique et géo-morphométrique. Différentes populations de *P. sergenti* originaires du centre marocain où la transmission se fait activement depuis 30 ans sont étudiées et comparées (Abou-Elaaz *et al.*, 2019).

I. VARIATION DE LA TAILLE ET LA FORME DES AILES MALES DROITES ET GAUCHES DE *P. SERGENTI*

1. CARACTERISATION DE LA TAILLE DE L'AILE DE *P. SERGENTI*

La longueur, la largeur et la taille de CS sont les critères qui caractérisent la taille de l'aile de *P. sergenti*. Les mesures sont réalisées au niveau des ailes droites et gauches chez le mâle de *P. sergenti*. Les paramètres numériques des trois variables précitées sont présentés dans le tableau 20.

Le test de normalité et la distribution d'homogénéité pour les ailes mâles droites et gauches des trois caractères montrent des distributions polymodales, particulièrement de la largeur et de la taille de CS, et d'une façon un peu moindre de la longueur. La structuration des sous-populations doit être due surtout aux variations dans la longueur et d'une façon moindre dans la taille de CS (Fig. 53).

Ce résultat est réconforté par une corrélation relativement moyenne entre la longueur et la largeur ($r = 0,51$)

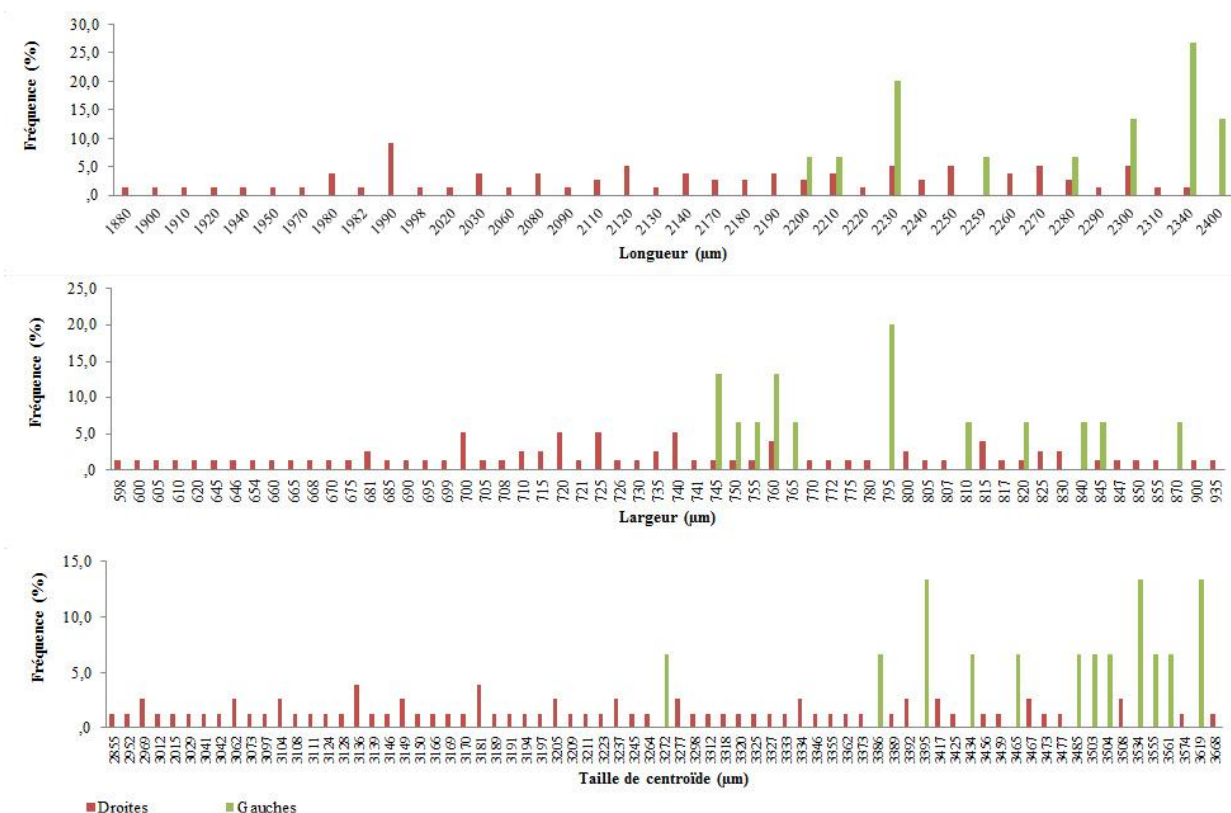


Figure 53. Distributions de la longueur, la largeur et de la taille de centroïde des ailes mâles droites et gauches de *P. sergenti* capturés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

Généralement, chez les mâles, la longueur des ailes droites est de $2137,01 \pm 124,05 \mu\text{m}$, la largeur est de $738,17 \pm 69,78 \mu\text{m}$ et la taille de CS est de $3236,79 \pm 160,66 \mu\text{m}$.

Au niveau des ailes gauches, la longueur, la largeur et la taille de CS sont de $2293,27 \pm 65,79 \mu\text{m}$, $790,00 \pm 40,17 \mu\text{m}$ et $3484,06 \pm 95,03 \mu\text{m}$, respectivement. La longueur des ailes droites des femelles est égale à $1897,50 \pm 457,04 \mu\text{m}$, la largeur est de $687,56 \pm 142,96 \mu\text{m}$ et la taille de CS est de $3033,50 \pm 342,53 \mu\text{m}$.

La comparaison des paramètres des ailes droites et gauches chez le mâle montre clairement que l'aile gauche a une plus grande taille ; elle est significativement plus longue (student t test = -11,36, p = 0,000), plus large (t= -4,79, p = 0,000) et a une taille de CS relativement plus importante (t = -12,41, p = 0,000) que l'aile droite (Fig. 54). Les rapports de corrélation entre le côté des ailes et la longueur, la largeur et la taille de CS qui sont de 0.73 et 0.46 et 0.84, respectivement.

D'une façon globale, les ailes des femelles collectées sont de plus petite taille que celles des mâles.

Tableau 20. Morphométrie des ailes de *P. sergenti* collectés dans la région de Béni Mellal-Khénifra.

Caractères	Paramètres numériques	Aile droite mâle	Aile gauche mâle	Aile droite femelle
Longueur	N	77	15	4
	Moyenne \pm DS (Min- Max) (μm)	2137,01 \pm 124,05 (1880- 2340)	2293,27 \pm 65,79 (2200- 2400)	2072,50 \pm 218,84 (1820- 2310)
	Variance (μm)	15388,70	4328,64	
	Mode (μm)	1990,00	2340,00	
	Médiane (μm)	2170,00	2300,00	
	Rapport de variation (%)	5,80	2,87	10,55
Largeur	Moyenne \pm DS (Min- Max) (μm)	738,17 \pm 69,78 (598- 935)	790,00 \pm 40,17 (745- 870)	687,56 \pm 142,96 (510- 807)
	Variance (μm)	4869,56	1614,28	
	Mode (μm)	700,00 ; 725,00 ; 740,00	795,00	
	Médiane (μm)	725,50	790,00	
Rapport de variation (%)	9,45	5,08		
Taille de centroïde	Moyenne \pm DS (Min- Max) (μm)	3236,79 \pm 160,66 (2855- 3668)	3484,06 \pm 95,03 (3272- 3619)	3033,50 \pm 342,53 (2694- 3345)
	Variance (μm)	25813,45	9030,92	
	Mode (μm)	3136,00 ; 3149,00 ; 3181,00	3395,00 ; 3534,00 ; 3619,00	
	Médiane (μm)	3205,00	3503,00	
Rapport de variation (%)	4,96	2,73		

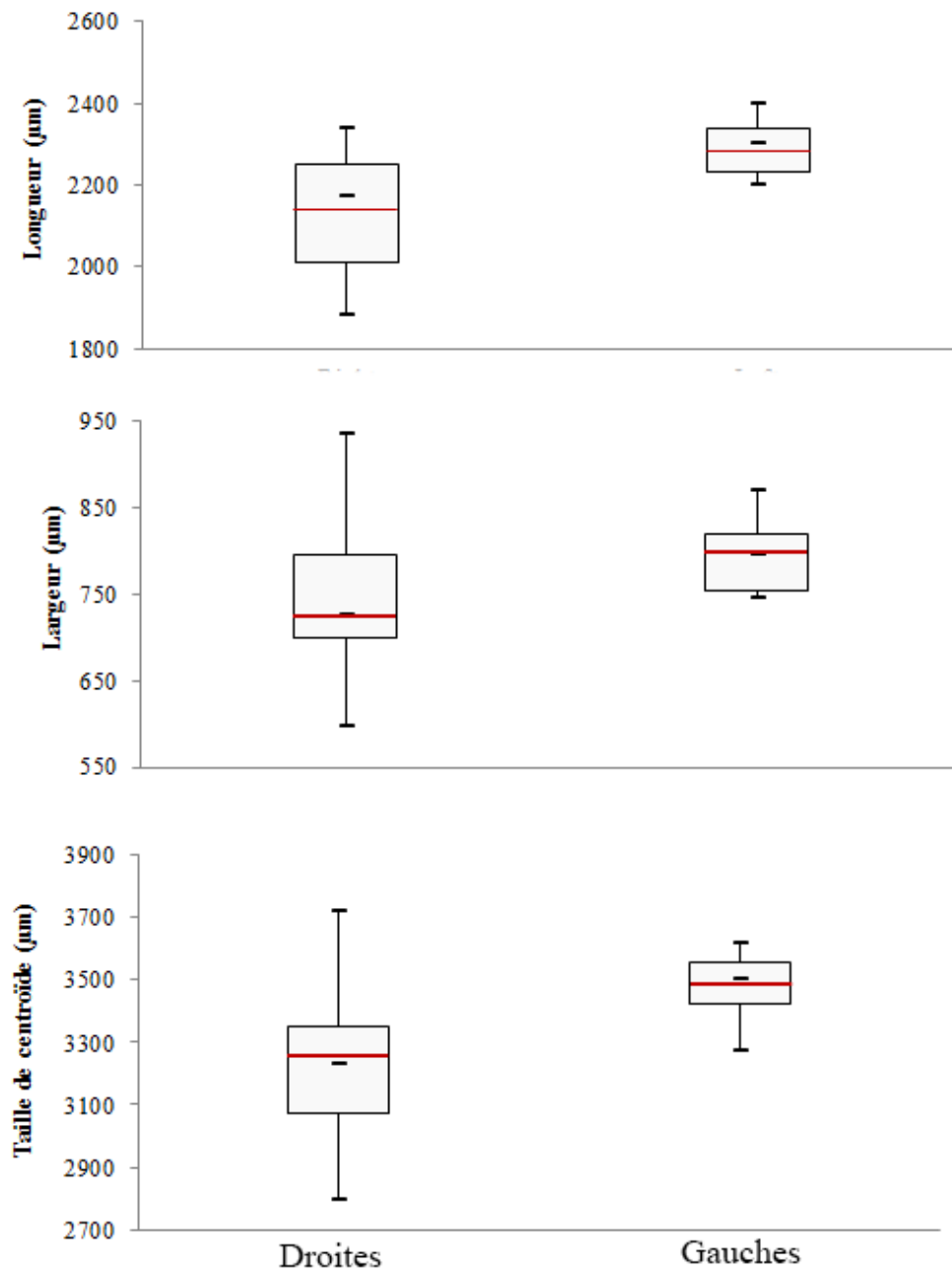


Figure 54. Boîtes à moustaches représentant la longueur, largeur et la taille de centroïde des ailes mâles droites et gauches de *P. sergenti* dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

2. CARACTERISATION DE LA FORME DES AILES DE *P. SERGENTI* DANS LA ZONE ETUDIEE

La forme des ailes de *P. sergenti* est étudiée en se basant sur les sept distances ; α , β , δ , ϵ , θ , π et γ (Tab. 21).

Le test de normalité et la distribution d'homogénéité montrent des variations pour chacun des paramètres (Fig. 55). Mais, la forme de l'aile varie particulièrement au niveau des distances α et β avec des rapports de corrélation dépassant les 50%.

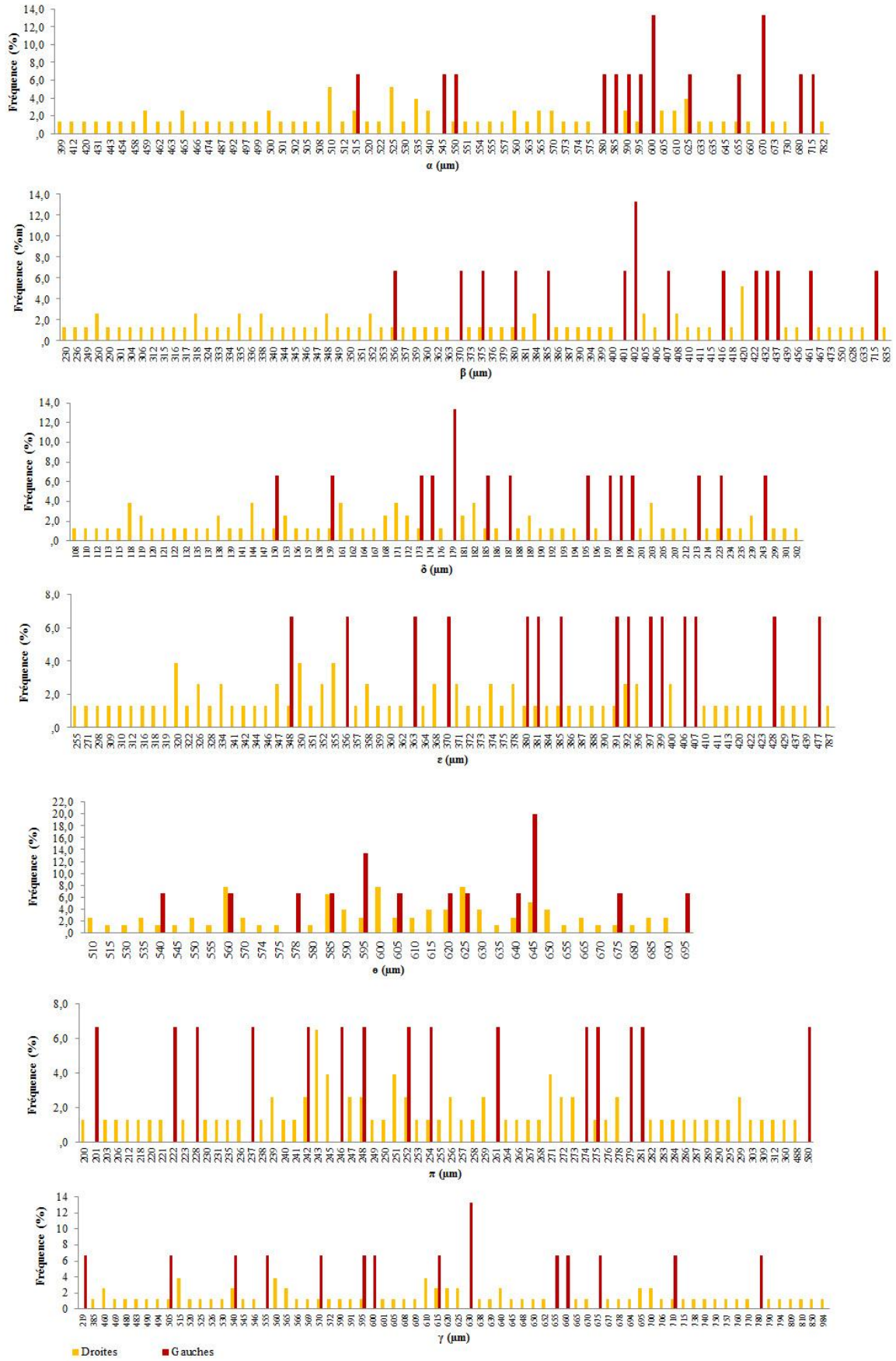


Figure 55. Distributions des distances α , β , δ , ϵ , θ , π et γ des ailes droites et gauches des mâles de *P. sergenti* capturés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

De même que la taille, la forme est différente entre l'aile droite à l'aile gauche. Les ailes mâles gauches ont des distances α , β , δ , ϵ , θ et π plus longues que les droites (Fig. 56). Les différences sont statistiquement significatives pour les distances α et β ($t = -2,65$, $p = 0,019$; $t = -2,63$, $p = 0,020$, respectivement). La distance γ est la seule plus petite chez les ailes gauches ($t = -0,342$, $p = 0,013$) (Fig. 56). Les rapports de corrélation entre le côté d'ailes et les distances α , β , δ , ϵ , θ , π et γ sont 0.59, 0.55, 0.27, 0.26, 0.16, 0.14 et 0.15, respectivement.

Tableau 21. Caractéristiques numériques de la forme des ailes mâles (droites et gauches) et femelles droites de *P. sergenti* collectés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra

Ailes	Paramètres numériques	α	B	δ	ϵ	θ	Π	Γ
Mâle droite (N=77)	Moyenne \pm DS (Min- Max)	540,19 \pm 70,91 (399- 782)	375,61 \pm 86,86 (230- 835)	173,84 \pm 54,86 (108- 502)	367,30 \pm 60,60 (255- 787)	604,79 \pm 44,55 (510- 690)	260,52 \pm 37,65 (200- 488)	621,92 \pm 104,47 (385- 984)
	Variance	5028,76	7545,50	3009,45	3672,50	1985,30	1417,59	10914,81
	Mode	510,00 ; 525,00	420,00	118,00 ; 144,00 ; 161,00 ; 171,00 ; 182,00 ; 203,00	320,00 ; 350,00	560,00 ; 600,00	243,00	515,00 ; 560,00 ; 610,00
	Médiane	530,00	359,00	168,00	360,00	605,00	253,00	610,00
	Rapport de variation (%)	13,13	23,12	31,55	16,50	7,36	14,45	16,80
Mâle gauche (N=15)	Moyenne \pm DS (Min- Max)	611,67 \pm 56,40 (515- 715)	424,07 \pm 85,16 (356- 715)	203,60 \pm 68,89 (150- 443)	392,00 \pm 31,49 (348- 477)	616,53 \pm 42,45 (540- 695)	272,00 \pm 88,12 (201- 580)	595,93 \pm 125,14 (219- 780)
	Variance	3180,95	7252,49	4746,68	992,00	1802,41	7764,71	15661,64
	Mode	600,00 ; 670,00	402,00	179,00	348,00	645,00	201,00	630,00
	Médiane	600,00	402,00	187,00	391,00	620,00	252,00	615,00
	Rapport de variation (%)	9,22	20,08	33,84	8,03	6,88	32,29	21,00
Femelle droite (N=4)	Moyenne \pm DS (Min- Max)	463,50 \pm 113,88 (297- 552)	381,50 \pm 17,29 (359- 399)	176,75 \pm 48,44 (137- 247)	422,00 \pm 235,44 (225- 764)	570,25 \pm 38,58 (535- 624)	247,75 \pm 34,73 (197- 275)	529,50 \pm 80,92 (416- 598)

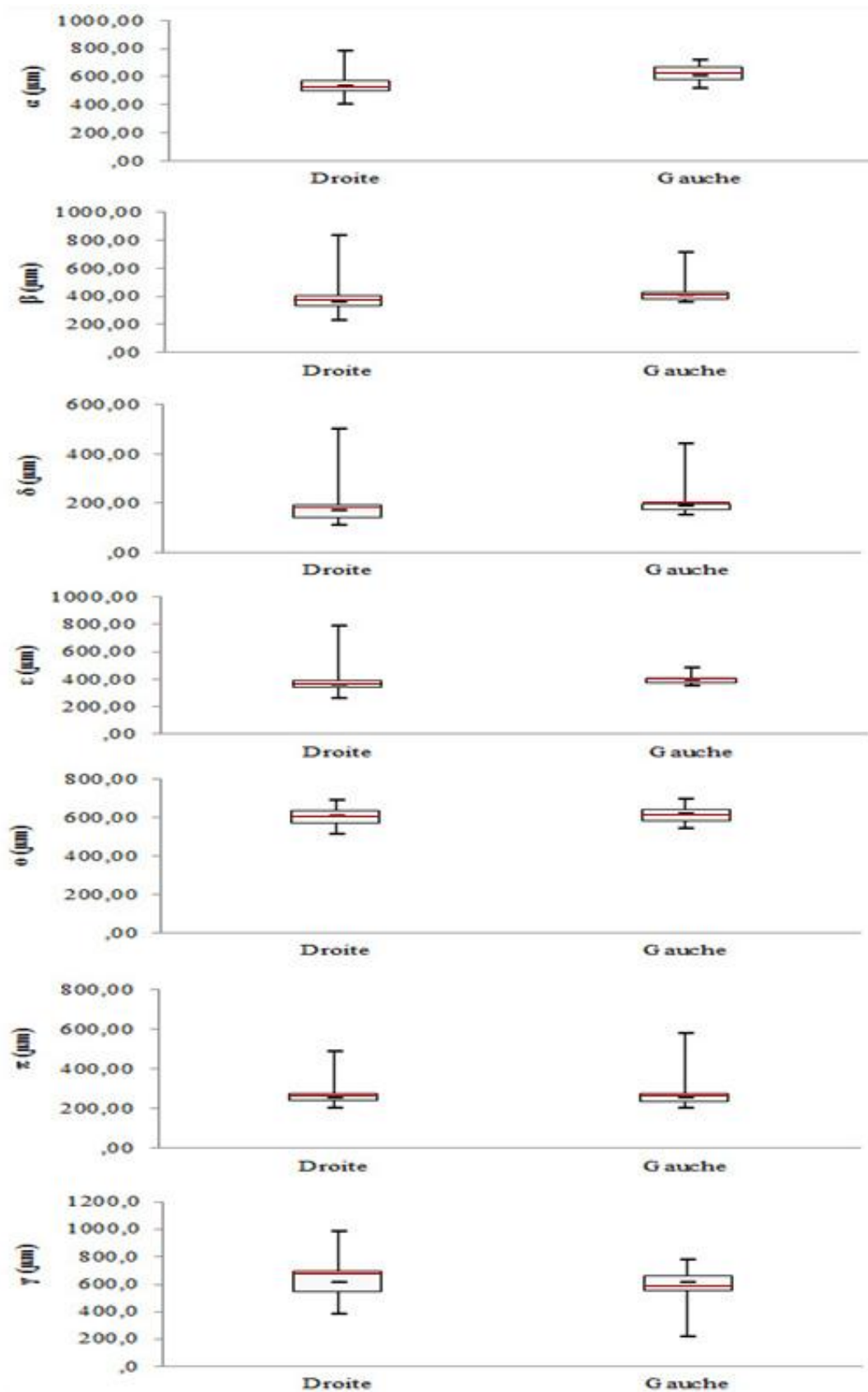


Figure 56. Boîtes à moustaches représentant la forme des ailes droites et gauches des mâles de *P. sergenti* dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

II. VARIATION SPATIALE DE LA TAILLE ET DE LA FORME DE L'AILE DE *P. SERGENTI*

La taille de l'aile droite de *P. sergenti* était différente en fonction de l'origine géographique (Fig. 57) comme le montre les rapports de corrélation entre l'origine et la longueur, la largeur ou la taille de centroïde (0,68 et 0,56 et 0,74, respectivement). De même, toutes les sept distances (Fig. 58) montraient des différences situationnelles de la forme des ailes (rapport de corrélation et test t student) avec β , θ et γ comme distances plus variables. Que ce soit pour la taille ou pour la forme, les ailes de *P. sergenti* d'Afourer étaient statistiquement significativement différentes des autres stations.

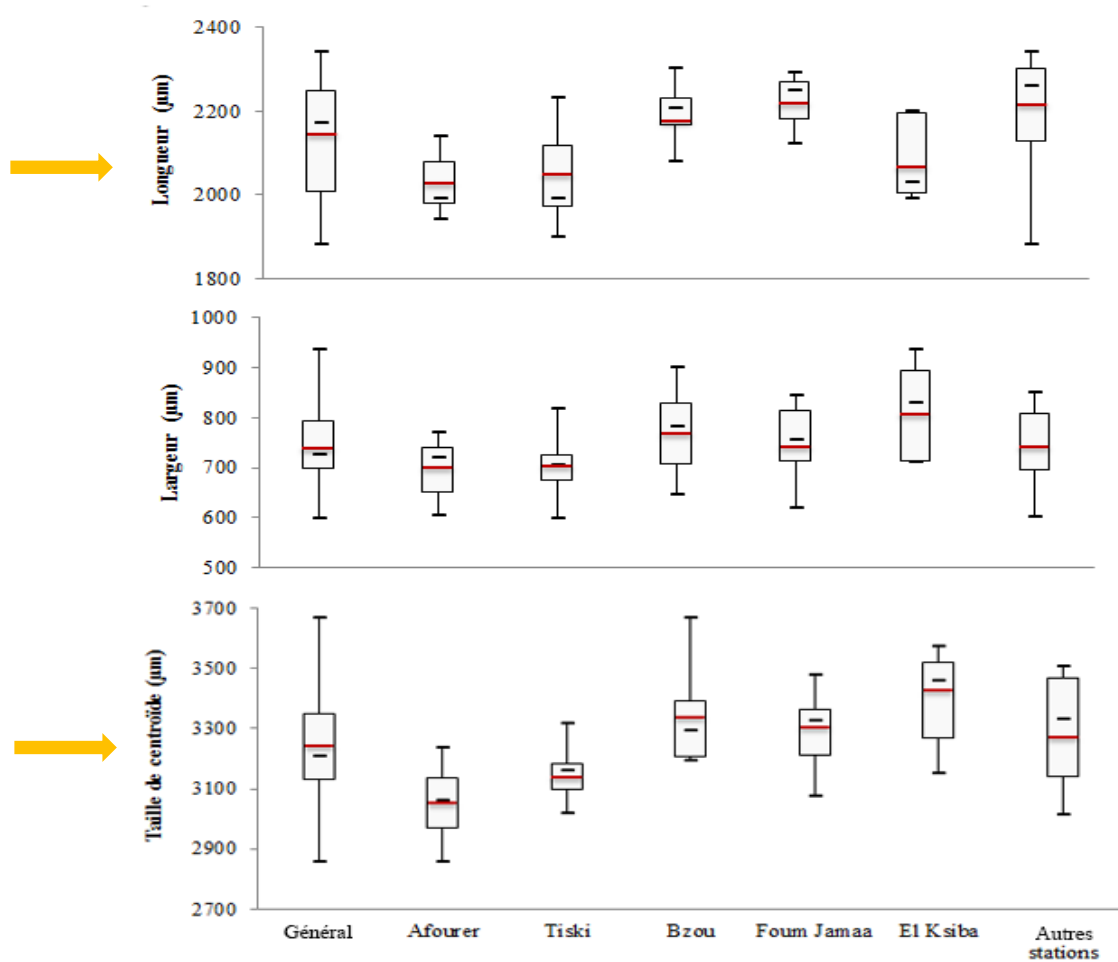


Figure 57. Boîtes à moustaches représentant les longueurs, largeurs et les tailles de centroïde des ailes droites des mâles de *P. sergenti* dans chaque station de collecte dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

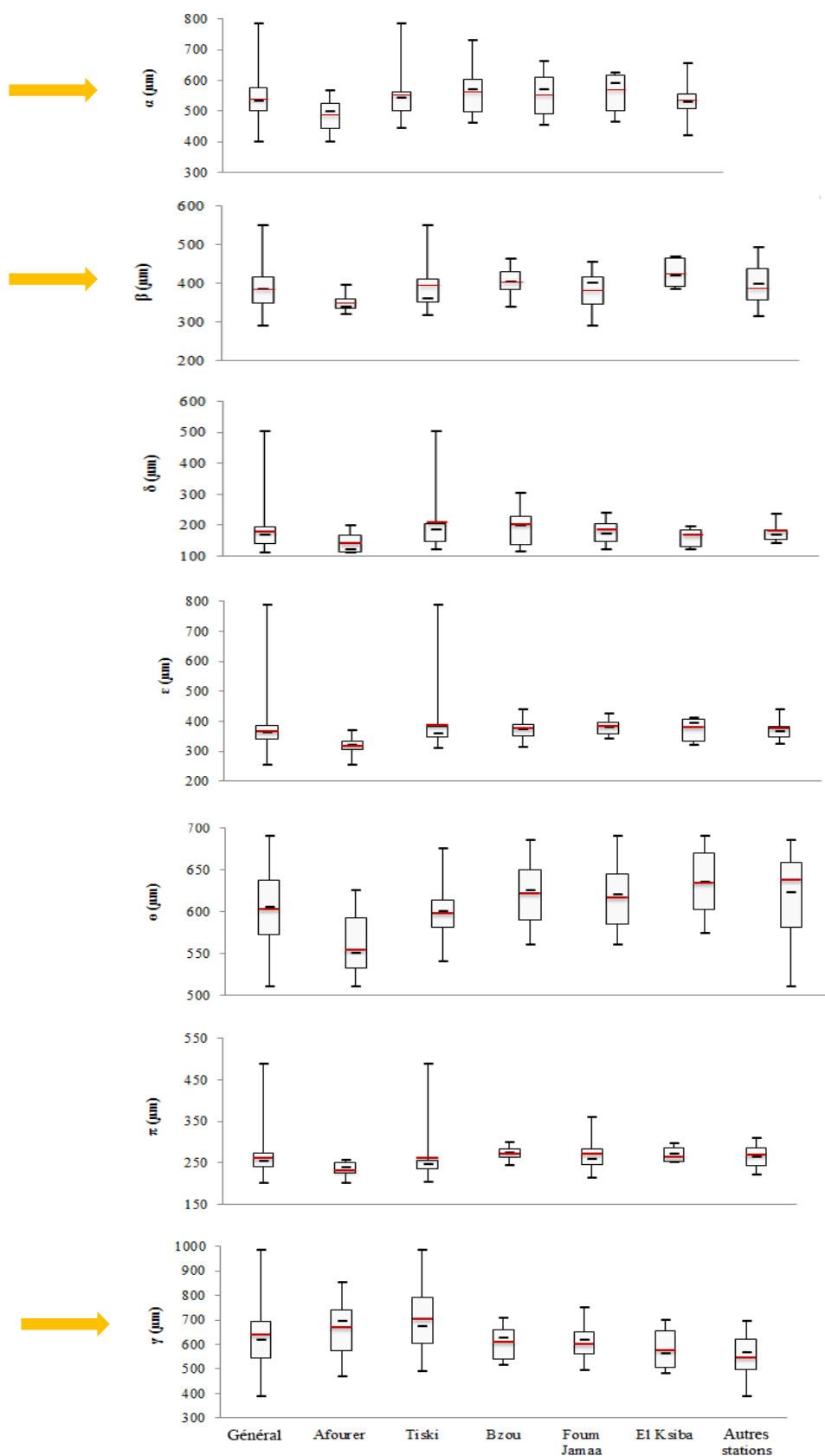


Figure 58. Boîtes à moustaches représentant la forme des ailes droites des mâles de *P. sergenti* dans chaque station de collecte dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

III. MORPHO-TYPOLOGIE DE LA TAILLE ET DE LA FORME DES AILES DE *P. SERGENTI*

1. ANALYSES EN COMPOSANTES PRINCIPALES DE LA TAILLE ET DE LA FORME DE *P. SERGENTI*

Les résultats des analyses multi-variées de la taille et de la forme des ailes de *P. sergenti* sont illustrés dans la figure 59. Les analyses canoniques de la taille ainsi que de la forme montrent des variations selon leur origine géographique. Elles viennent consolider les résultats obtenus par l'analyse descriptive.

A propos de la taille, les projections dans les plans factoriels expliquent 92,57% de l'inertie totale (canonical variate 1: 76.43% et canonical variate 2: 16.14%) (Fig. 59A). L'analyse canonique indique que la taille des individus est différente d'une station à l'autre. En effet, il y a une succession des individus selon l'origine géographique ; d'abord on remarque les spécimens originaires d'Afourer situés à droite suivis de ceux de Tiski, puis de Bzou, Foum Jamaa, et les autres stations (stations 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 13 et 14).

Pour la forme, l'inertie totale dans les plans factoriels explique 63,08% (canonical variate 1: 43.23% et canonical variate 2: 19.85%) (Fig. 59B). Cependant, de la même façon que la taille, l'analyse canonique révèle une variation graduelle des ailes droites en fonction des stations.

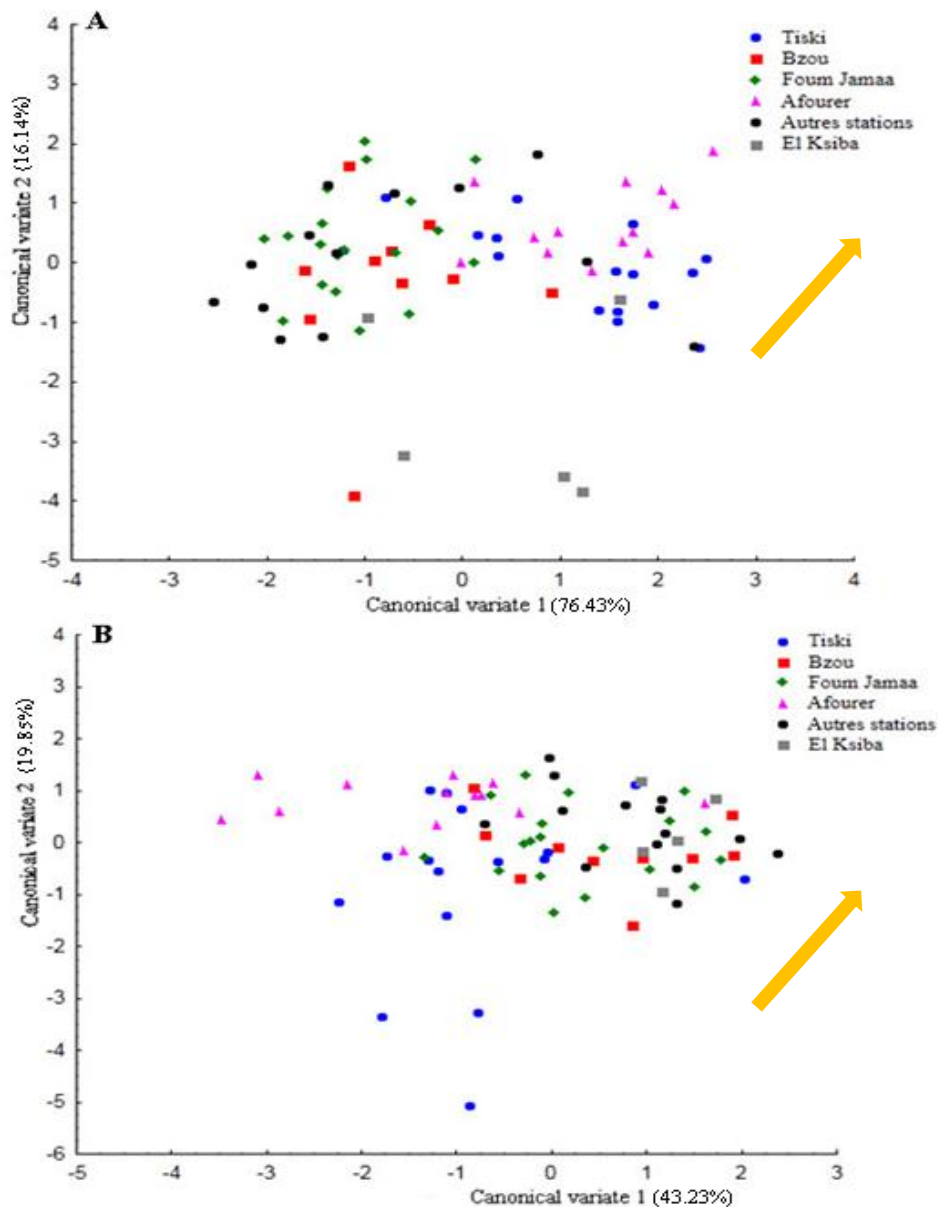


Figure 59. Analyse canonique de la variation de la taille (A) (92,57% de l’inertie totale) et de la forme (B) (63,08% de l’inertie totale) des ailes de *P. sergenti* en fonction de l’origine géographique.

2. CLASSIFICATION HIERARCHIQUE SELON LA TAILLE ET LA FORME DES SPECIMENS DE *P. SERGENTI*

Les arbres de classification hiérarchique à liaison unique séparant chaque individu de chaque origine géographique corroborent avec les résultats de l’analyse canonique pour la taille (Fig. 60A) et aussi pour la forme de l’aile (Fig. 60B). Deux groupes se distinguent ; les populations d’Afouner et Tiski se montrent différentes de celles de Foum Jamaa, Bzou et les autres stations, avec des ailes plus petites considérant tous les paramètres mesurés.

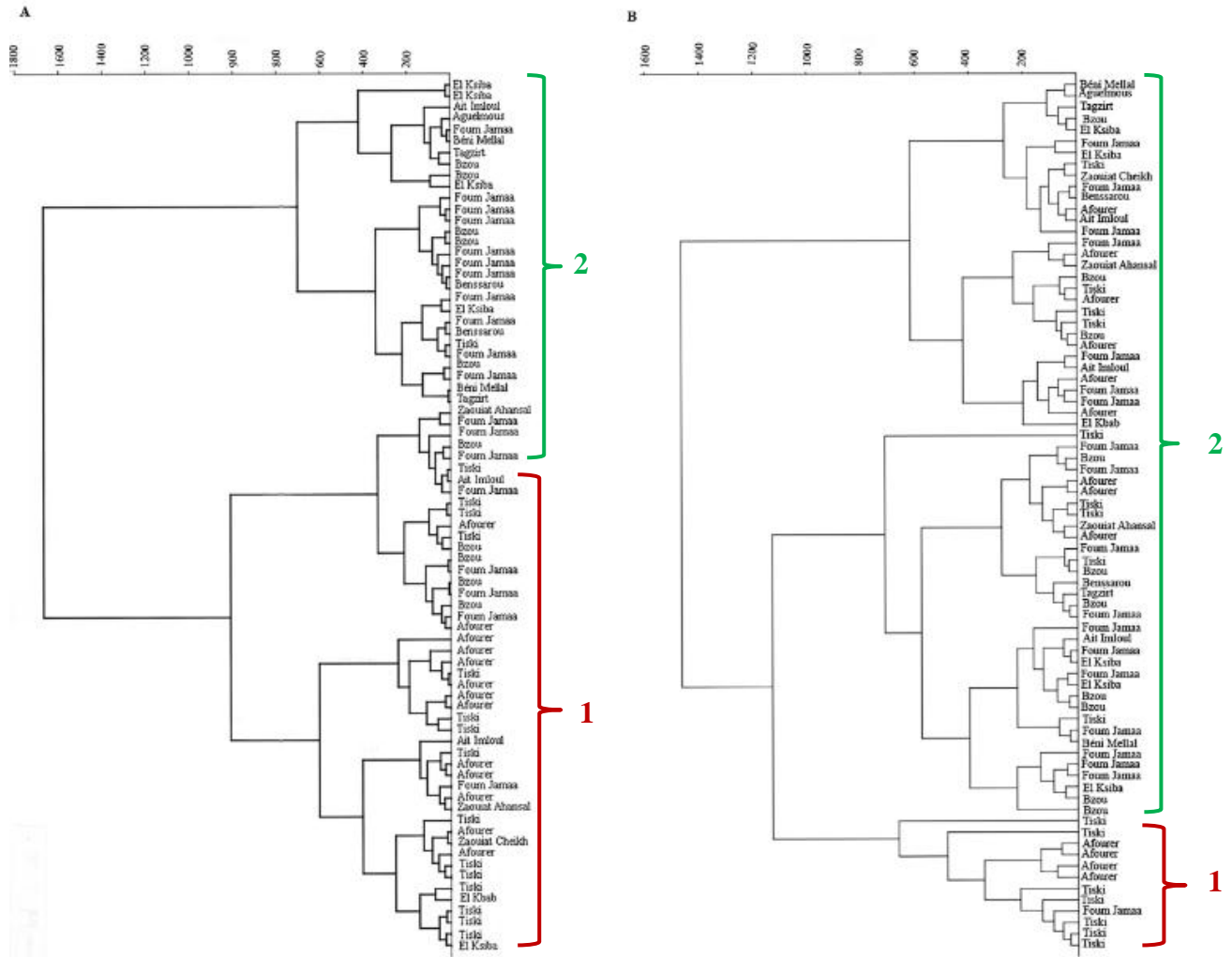


Figure 60. Arbre de classifications hiérarchiques à liaison unique selon (A) la taille et (B) la forme des ailes droites des mâles de *P. sergenti* capturés dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra.

3. SUPERPOSITION DES CONFIGURATIONS

Les configurations moyennes des formes des ailes droites varient selon l'origine géographique avec des différences plus marquées chez les deux populations d'Afourer et Tiski (Fig. 61).

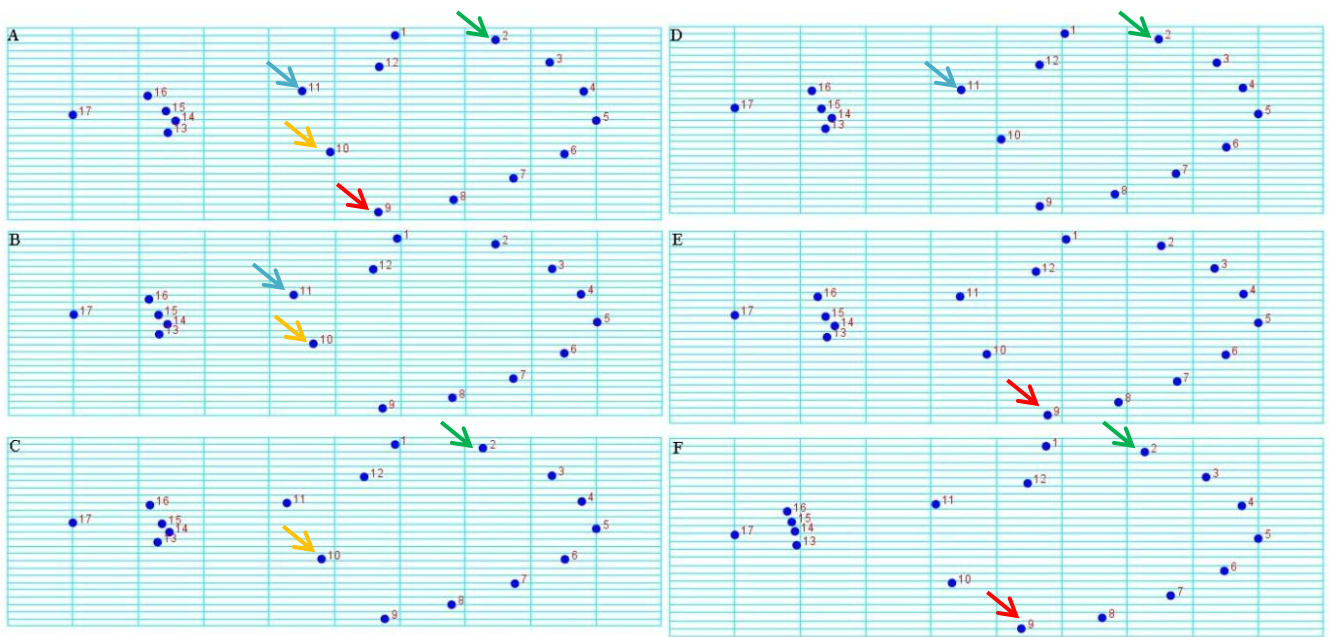


Figure 61. Superposition des configurations moyennes des ailes mâles droites de points de repère de *P. sergenti* capturés à Afouer (A), Tiski (B), El Kbab (C), Bzou (D), Foum Jamaa (E) et dans les autres stations (F) de la zone d'étude.

DISCUSSION

P. sergenti est un vecteur prouvé de *L. tropica* (Killick-Kendrick 1990) à l'Arabie Saoudite (Al-Zahrani *et al.*, 1988) et en Israël (Jacobson, 2003) et notamment au Maroc (Guilvard *et al.*, 1991). Les études antérieures montrent *P. sergenti* comme un complexe d'espèces considérant la grande diversité génétique de ses populations sur son aire de distribution (Depaquit *et al.*, 2002, Dvorak *et al.*, 2006, Barón *et al.*, 2008). Deux lignées de *P. sergenti* en Espagne ont été montrées ; une lignée mitochondriale typiquement espagnole et une autre commune au Maroc. Au Maroc Yahia *et al.* (2004) ont identifié trois lignées mitochondriales chez *P. sergenti* échantillonné dans trois foyers de *L. tropica*. Malgré, aucun indicateur morpho-typique n'est disponible, jusqu'à aujourd'hui, pour caractériser cette diversité.

Dans ce sens, les méthodes géo-morphométriques des ailes constituent un indicateur important de la réaction des populations aux variations des facteurs environnementaux. D'ailleurs, ils ont montré leur intérêt chez *P. tobbi*, *P. papatasi* et *P. ariasi* (Belen *et al.*, 2004, Prudhomme *et al.*, 2012 ; 2016, Oguz *et al.*, 2017). Ils ont permis la séparation des populations de *P. papatasi* du versant sud de celles du versant nord dans la chaîne du Haut-Atlas au Maroc (Prudhomme *et al.*, 2012). Cette séparation a été consolidée récemment en comparant génétiquement ces mêmes populations (Guernaoui *et al.*, 2020).

Cette étude, la première qui concerne *P. sergenti*, démontre encore l'intérêt de la géo-morphométrie des ailes comme marqueur des populations. Nos résultats montrent des variations significatives dans la taille et la forme des ailes pour les différentes populations échantillonnées au centre du Maroc. Concernant la taille ; la longueur, la largeur et la taille de centroïde étaient significativement

différentes en fonction de l'origine géographique, avec des ailes gauches relativement de taille plus importante que celles des droites. Les rapports de corrélation entre le côté des ailes et la longueur, la largeur ou la taille du centroïde étaient de 0,73 et 0,46 et 0,84, respectivement, précisant la longueur et la taille du centroïde comme paramètres discriminants. Contrairement, chez *P. papatasi* marocain, aucune différence entre les ailes droites et gauches n'a été soulignée (Prudhomme *et al.*, 2012). Les femelles, malgré leur faible effectif, présentaient des ailes de taille plus petite que celle des mâles.

En parallèle des variations de la taille, la forme des ailes des populations de *P. sergenti* étudiées présentaient aussi des variations importantes, particulièrement au niveau des deux distances ; α et β . Cependant, la forme de l'aile droite était différente de celle de l'aile gauche avec des rapports de corrélation de 0.59 et 0.55, pour les deux distances α et β , respectivement.

La taille et la forme des ailes droites de *P. sergenti* montraient des variations spatiales en fonction de l'origine géographique. La longueur, la largeur, la taille de centroïde, ainsi que les sept distances étaient significativement différentes d'une station à autre, avec des rapports de corrélation supérieurs à 50%. La population d'Afourer était différente considérant toutes les mensurations.

Les résultats de l'analyse descriptive concernant les variations de la taille et de la forme en fonction de l'origine géographique sont consolidées par les résultats des analyses multi-variées. Les analyses canoniques révèlent une variation graduelle, dans la taille (92,57% de l'inertie totale) et dans la forme (63,08% de l'inertie totale), dans les différentes stations étudiées. Les deux populations d'Afourer et Tiski se distinguent nettement avec des ailes relativement plus petites. Ce résultat corrobore celui des classifications hiérarchiques. Les superpositions des configurations moyennes des ailes mâles droites signalent des variations importantes dans la position des points de repères 2, 9, 10, et 14. Les travaux antérieurs ont corrélé les variations de la taille et la forme chez *P. tobbi* et *P. papatasi* avec un gradient altitudinal (Dujardin *et al.*, 2003 ; Belen *et al.*, 2004 ; Prudhomme *et al.*, 2012). L'altitude, même indirectement, ne pourrait être à l'origine de cette variation graduelle chez *P. sergenti*. Les populations d'Afourer et Tiski qui s'individualisent étant situées dans la même zone altitudinale que Bzou et Foum Jamaa. D'ailleurs, ces stations, situées dans la même région, ne sont distantes que de 60 km à peu près. En même temps, l'effet de versant observé chez les femelles *P. ariasi* (Prudhomme *et al.*, 2016) ne peut être la cause chez *P. sergenti*. Les stations comparées étant situées sur le même versant du Haut-Atlas. Il nous semble que les variations observées chez *P. sergenti* au centre du Maroc doivent être corrélées avec l'adaptation à un environnement local. D'ailleurs, écologiquement, *P. sergenti* au Maroc est une espèce constante avec une abondance et une densité directement liées au micro-habitat qu'elle occupe (Guernaoui & Boumezzough, 2009). Ce phénomène d'adaptation à un environnement local est aussi signalé chez *P. ariasi* dans le massif de l'Oiselette au sud de la France (Prudhomme *et al.*, 2016).

SYNTHESE ET CONCLUSION GENERALE

Durant les dernières trente ans, la leishmaniose cutanée due à *Leishmania tropica* cause un obstacle majeur de la santé publique au Maroc. Depuis, les recherches sur l'éco-épidémiologie de la maladie de certaines espèces dans différentes régions du pays ont été effectuées pour comprendre et lutter contre cette maladie.

Notre travail a eu pour objectif de mener des études sur le terrain sur les phlébotomes et sur les leishmanioses dans le premier foyer classique de leishmaniose cutanée au centre marocain afin d'aider les autorités à lutter contre les leishmanioses.

L'analyse éco-épidémiologique rétrospective de leishmaniose cutanée dans le foyer de Tadla-Azilal sur une période de 2009-2015 a montré que les femmes et les enfants représentent la population la plus risquée. Des résultats similaires obtenus au Maroc (Guernaoui, 2006 ; Ramaoui *et al.*, 2008) et dans autres pays (Khosravani *et al.*, 2016 ; Özkeklikçi *et al.*, 2016). En effet, chez les femmes et chaque année, la tranche d'âge à risque est plus grande principalement dans les provinces de Fquih Ben Salah et Béni Mellal où la maladie s'installe récemment. Cela pourrait être la cause d'une éventuelle acquisition d'immunité au cours des années dans la province d'Azilal. Ceci a été déjà observé dans le foyer de Chichaoua par Guernaoui (2006).

De plus, la leishmaniose cutanée migre vers les piémonts de la montagne. Les altitudes de 400 à 500 m et de 800 m à 900 m constituent une distribution spatiotemporelle fréquente de la maladie.

La situation et la durée de la période de diagnostic de leishmaniose cutanée différent selon l'altitude. Cela pourrait être lié à la saisonnalité des populations vectrices de LC dans le foyer de Tadla-Azilal.

Les études entomologiques nous ont permis d'identifier les espèces phlébotomiennes dans le foyer de Béni Mellal-Khénifra et d'étudier la morphométrie et la géo-morphométrie de l'espèce *P. sergenti*. 11 espèces ont été collectées. Une nouvelle espèce pour cette région a été identifiée ; *P. langeroni*.

La richesse et la biodiversité sont importantes à Béni Mellal. Cette station est urbaine, et correspond à la zone de transition entre la plaine et la montagne.

P. sergenti, *P. perniciosus* et *P. longicuspis* sont des espèces abondantes dans la région étudiée. Ceci pourrait être lié à des micro-habitats préférentiels.

P. sergenti est fortement anthropophile. Il est largement répandu dans les zones du Haut-Atlas (Foum Jamaa, Bzou, Tiski et Afourer). Les ruines à proximité des habitations humaines constituent son habitat préférentiel (Guernaoui, 2006). Il est collecté surtout dans les habitats domestique et péri-domestique. Le suivi de la dynamique saisonnière indique qu'elle est bimodale à Afourer avec un maximum en mai et septembre, uni-modale à Bzou et Foum Jamaa dont le pic maximal enregistré en juin. Au centre marocain, Boussaa *et al.* (2005) ont montré une activité monophasique de *P. sergenti* à

Marrakech de mai à juillet avec une maximale en juillet. A Chichaoua, Guernaoui *et al.*, (2005a) ont trouvé que le pic maximal a été en juillet et août et minimal entre septembre et novembre.

L'espèce *P. perniciosus* est très anthropophile. Elle est abondante à El Kbab et Tiski où les climats sont subhumides et semi-aride, respectivement. Cette espèce a une préférence à la faune des étables et des biotopes riches en fumier. Ses densités maximales sont enregistrées dans les milieux péri-domestiques et sauvages. L'activité saisonnière de *P. perniciosus* a indiqué une activité uni-modale à Afourer, Tiski et à Foug Jamaa et bimodale à Bzou. Guernaoui *et al.*, (2006) et Zouirech *et al.*, (2013) ont découvert une activité uni-modale. Talbi *et al.* (2015) ont observé dans la province de Sefrou, une activité bimodale de cette espèce.

P. longicuspis est une espèce également anthropophile. Il est abondant dans quatre stations ; El Kbab, Tiski, Afourer et Béni Mellal. Les habitats préférentiels de cette espèce sont caractérisés par la présence des étables et de bétails. Ses densités sont maximales dans les milieux sauvages. Son activité est monophasique à Afourer, Tiski et Bzou et diphasique à Foug Jamaa. Des résultats ont montré une activité uni-modale de cette espèce dans différents foyers (Faraj *et al.*, 2013 ; Zouirech *et al.*, 2013).

L'activité saisonnière de *P. sergenti* et du complexe *P. perniciosus* est contrôlée par le facteur climatique. Ces espèces ont une adaptation aux variations saisonnières en changeant leur activité selon la température et l'humidité relative. Même résultat obtenus par Guernaoui *et al.* (2006b).

Les études morphométriques du génitalia du complexe *P. sergenti* dans la province d'Azilal de 19 caractères morphométriques révèlent des variations spatio-temporelles. Les populations montrées une hétérogénéité remarquable. Ceci pourrait être expliqué par les conditions environnementales.

Les analyses morphométriques spatiales montrent que la longueur de style, les distances entre la base de style et la 2^{ème} et la 3^{ème} épines, la longueur de coxite, les longueurs des valves et de la pompe génitale variées dans le même sens. En Brésil, sept caractères morphométriques représentent les principales différences entre les populations du complexe *Lu. longipalpis* (Santos *et al.*, 2015).

Pour une différenciation des sous-populations en se basant sur les longueurs de style et de coxite. Noteila (2011) a trouvé que les longueurs de coxite et de la pompe génitale étaient des caractères permettant la différenciation des populations de *P. papatasi* collectées au Soudan.

Trois morphotypes de *P. sergenti* se distinguent dans le foyer étudié : le premier morphotype avec des styles, des distances entre les bases de style et la deuxième et troisième épines, coxites, valves et des pompes courts ; le second dont les spécimens ont des caractères morphométriques intermédiaires et le troisième morphotype indique des styles, des distances entre bases de style et la deuxième et la troisième épines, des coxites, des valves et des pompes longues. En 2010, Guernaoui *et al.* ont indiqué une variation phénotype des organes génitaux de *P. papatasi*.

Les recherches géo-morphométriques des ailes de *P. sergenti* prouvent des différences de la taille et la forme en fonction du côté de l'aile, du sexe et d'origine géographique. Chez *P. papatasi* marocaine, aucune différence signalée entre les deux côtés des ailes mâles (Prudhomme *et al.*, 2012). Le gradient altitudinal et l'effet de versant remarqué chez *P. papatasi* et *P. ariasi* (Belen *et al.*, 2004 ; Prudhomme *et al.*, 2012 ; Prudhomme *et al.*, 2016) pourraient pas être l'origine de la variation graduelle spatiale chez *P. sergenti*. Les variations de cette espèce pourraient être dues à son adaptation à l'environnement local.

La longueur, la taille de centroïde, les distances alpha et beta sont les caractères discriminants pour différencier entre les populations.

En conclusion, ce travail présente un inventaire des espèces phlébotomiennes au centre du Maroc et leur écologie. Il traite également la morphométrie des génitalia et la géo-morphométrie des ailes du complexe *P. sergenti*. Les différences expliquant la capacité d'adaptation de ce vecteur de *L. tropica* aux conditions environnementales locales.

Les données obtenues jusqu'à aujourd'hui permettent de proposer différentes périodes de lutte contre les phlébotomes en gérant l'environnement par la sensibilisation des populations locales et le danger de cette maladie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abonnenc E., 1972. Les phlébotomes de la région éthiopienne (Diptera, Psychodidae). Mémoires ; *ORSTOM., Série Entomologie Médicale et Parasitologie.* 289p.

Abou-Elaaz F.Z., Outourakht A., Bouhout S., Himmi O., Guernaoui S., 2019. Thirty years of cutaneous leishmaniasis in Tadla-Azilal focus, Morocco. *Parasite Epidemiology and Control*, 3 e00091.

Ajaoud M., Es-Sette N., Charrel R.N., Laamrani-Idrissi A., Nhammi H., Riyad M., Lemrani M., 2015. *Phlebotomus sergenti* in a Cutaneous Leishmaniasis Focus in Azilal Province (High Atlas, Morocco): Molecular Detection and Genotyping of *Leishmania tropica*, and Feeding Behavior. *PLoS Negl Trop Dis.*, 9, 3, e0003687.

Akhoundi M., Baghaei A., Depaquit J., Parvizi P., 2013. Molecular characterization of *Leishmania* infection from naturally infected sand flies Caught in a focus of cutaneous leishmaniasis (Eastern Iran). *Journal Arthropod-Borne Diseases*, 7, 122-131.

Ali N., Ullah A., Wahid S., Khisroon M., Rasheed S.B., 2016. Distribution, species composition and relative abundances of sandflies in North Waziristan Agency, Pakistan. *Medical of Veterinary Entomology*, 30, 89-94.

Al Zahrani M.A., Peters W., Evans D.A., Chin C., Smith V., Lane R.P., 1988. *Phlebotomus sergenti*, a vector of *Leishmania tropica* in Saudi Arabia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 82, 416.

ANOFEL : Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie, 2014. Leishmanioses. *Université Médicale virtuelle Francophone*, 16p.

Arroub H., Belmekki M., Bencharki B., Bahdaoui K., Habbari K., 2016. Spatio-temporal distribution of cutaneous leishmaniasis under Moroccan semi-arid conditions. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 14, 187-197.

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

Ashford R.W., 2000. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal of Parasitology*, 30,1269-1281.

Ashford R.W., 1996. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinical Dermatology*. 14, 523-32.

Ayadi A., Ben-Ismaïl R., Ben-Rachid M.S., 1991. Extension de l'aire de transmission du Kala Azar a *Leishmania infantum* (Nicolle 1908) vers le centre et le sud de la Tunisie. *Arch. Institut Pasteur de Tunis*, 68, 269-273.

Azizi K., Rassi Y., Javadian E., Motazedian M.H., Rafizadeh S., Yaghoobi-Ershadi M.R., Mohebbali M., 2006. *Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri*: a probable vector of *Leishmania infantum* in Iran. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 100, 63–68.

Artemiev M.M. & Neronov V.M., 1984. Distribution and ecology of sand flies of the old world (genus *Phlebotomus*). Institute of Evolutionary Morphology and Animal Ecology USSR Academy of Sciences, 208p.

Bailly Choumara H., Abonnenc E., Pastre J., 1971. Contribution à l'étude des Phlébotomes du Maroc (Diptera, Psychodidae). Données faunistiques et écologiques. *Entomologie médicale et Parasitologie*, 4, 431-460.

- Barón S., Martín-Sánchez J., Gállego M., Morales-Yuste M., Boussaa S., Morillas- Márquez F., 2008.** Intraspecific variability (rDNA ITS and mtDNA Cyt *b*) of *Phlebotomus sergenti* in Spain and Morocco. *Acta Tropica*, 107, 259 -267.
- Belen A., Alten B., Aytakin A.M., 2004.** Altitudinal variation in morphometric and molecular characteristics of *Phlebotomus papatasi* populations. *Journal of Medical Entomology*, 18, 431-460.
- Benabdennbi, I. & Pesson, B., 1998.** A propos de la variabilité morphologique de *Phlebotomus perniciosus* (Diptera : Psychodidae). *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, 16, 53-60.
- Benabdennbi 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. *Journal of Medical Entomology*, 36, 116-120.
- Benallal K., Gassen B., Bouiba L., Depaquit J., Harrat Z., 2013.** Entomological investigation following the resurgence of human visceral leishmaniasis in southern Algeria. *Acta Tropica*, 128, 518-521.
- Ben-Ismaïl R., Hellal H., Bach H., Ben Rachid M.S., 1987.** Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* dans un foyer de leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 80, 613-614.
- Ben-Ismaïl R., 1993.** Incrimination de *Phlebotomus perniciosus* comme vecteur de *Leishmania infantum*. *Archives d'Institut Pasteur Tunis*, 70, 91-110.
- Berchi S., 1993.** Les phlébotomes (Insecta, Diptera, Psychodidae), vecteurs de leishmanioses dans l'Est algérien. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 118, 341-349.
- Bichichi M., Riyad M., Guessouss-Idrissi N., 1999.** Isoenzyme characterization of *Leishmania tropica* in the emerging epidemic focus of Taza (north Morocco). *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92, 21-22.
- Blaustein L., Ostfeld R.S., Holt R.D., 2010.** A Community-Ecology Framework for Understanding Vector and Vector-Borne Disease Dynamics. *Israel Journal of Ecology and Evolution*, 56, 251-262.
- Bongiorno G., Habluetzel A., Houry C., Maroli M., 2003.** Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Tropica*, 88, 109-116.
- Bounamous A., 2010.** Biosystématique et caractérisation par la biologie moléculaire des phlébotomes de l'est algérien. *Thèse de Doctorat. Faculté des sciences de la Nature et de la Vie*. Université Mentouri de Constantine, 302p.
- 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, 86- 91.
- Boussaa S., Neffa M., Pesson B., Boumezzough A. 2010.** Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of southern Morocco: results of entomological surveys along the Marrakech–Ouarzazat and Marrakech–Azilal roads. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 104, 163-170
- Boussaa S. & Boumezzough A., 2014.** Identification et caractérisation des gîtes larvaires de phlébotomes (Diptera: Psychodidae) à Marrakech (Maroc). *Entomologie Faunistique*, 67, 93-101.
- Casanova C., Costa A.I., Natal D., 2005.** Dispersal pattern of the sand fly *Lutzomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis endemic rural area in Southeastern Brazil. *The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100, 719-724.

- Campino L., Cortes S., Dionísio L., L. Neto, Afonso M.O., Maia C., 2013.** The first detection of *Leishmania major* in naturally infected *Sergentomyia minuta* in Portugal. *The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 108, 516-518,
- Chavy A., 2019.** Influence de l'environnement sur le cycle de transmission de la leishmaniose cutanée en Guyane, à multi-échelle spatiale. *Thèse de Doctorat*. Université de Guyane, Guyane, 284p.
- Chemkhi J., Guerbouj S., Guizani I., Ben Salah A., 2015.** First Report of Abnormal Spermathecae in *Phlebotomus (Larrousius) longicuspis* Nitzulescu, 1930 (Diptera: Psychodidae), in Tunisia. *Journal of Life Sciences*, 9, 465-471.
- Colacicco-Mayhugh M.G., Grieco J.P., Putnam J.L., Burkett D.A., Coleman R.E., 2011.** Impact of Phlebotomine sand flies on United States military operations at Tallil Air Base, Iraq: 5. Impact of weather on sand fly activity. *Journal of Medical Entomology*, 48, 538-545.
- Coleman R.E., Burkett D.A., Putnam J.L., Sherwood V., Caci B., Jennings B.T., Hochberg L.P., Spradling S.L., Rowton E.D., Blount K., Ploch J., Hopkins G., Raymond J.L.W., Oguinn M.L., Lee J.S., Weina P.J., 2006.** Impact of Phlebotomine sandflies on U.S. military operations at Tallil Air Base, Iraq: 1. background, military situation, and development of a “Leishmaniasis Control Program”. *Journal of Medical Entomology*, 43, 647- 662.
- Corti M., Aguilera M., Capanna E., 1998.** Phylogeny and size and shape changes in the skull of the South American rodent *Proechimys*. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungarica*, 44, 139-150.
- Croset H., 1969.** Ecologie et systématique des Phlebotomini (Diptera : Psychodidae) dans deux foyers Français et Tunisien, de leishmaniose viscérale. Essai d'interprétation épidémiologique. Thèse en Science, Université de Montpellier, 642p.
- Croset H., Rioux J.A., Maistre M., Bayar N., 1978.** Les phlébotomes de Tunisie (Diptera: Psychodidae). Mise au point systématique, chorologique et éthologique. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 53, 711-749.
- Croset H., Rioux J.A., Léger N., Houin R., Cadi Soussi M., Benmansour N., Maistre M., 1974.** Les méthodes d'échantillonnage des populations de phlébotomes en région méditerranéenne. In: Rioux, J.A. (Ed.), *Ecologie des leishmanioses*. CNRS, Paris, pp. 139–151.
- Cruz A.K., de Toledo J.S., Falade M., Terraio M.C., Kamchonwongpaisan S., Kyle D.E., Uthaipibull C., 2009.** Current treatment and drug discovery against *Leishmania spp.* and *Plasmodium spp.*: a review. *Current Drug Targets*, 10, 178-192.
- Cunze S., Kochmann J., Koch L.K., Hasselmann K.J.Q., Klimpel S., 2019.** Leishmaniasis in Eurasia and Africa: geographical distribution of vector species and pathogens. *Royal Society Open Science*. 6, 1-12.
- Dajoz R., 1975.** Précis d'écologie. 3ème Edition, Dunod, Paris, 549p
- Dajoz R., 1985.** Précis d'écologie. Edition, Dunod, Paris, 505p.
- Dajoz R., 2006.** Précis d'écologie. 8ème Edition, Dunod, Paris, 631p.
- Dedet J.P., Addadi K., Belazzoug S., 1984.** Les Phlébotomes (Diptera: Psychodidae) d'Algérie. *Cah. ORSTOM. Ser. Entomologie Médicale et Parasitologie*, 22, 99-127.
- Dedet J.P. 2001.** Répartition géographique des leishmanioses. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 31, 178-183.
- Dedet J.P., 2009.** Leishmanies, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique. Edition Elsevier Masson SAS, Paris, *Maladies infectieuses*, 8, 506-510.

- Delanoë P., 1916.** Existence de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) à Mazagan. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 9, 762.
- Depaquit J., Léger N., Ferté H., 1998a.** Le statut taxonomique de *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917, vecteur de *Leishmania tropica* (Wright 1903) en *Phlebotomus similis* Perfiliev, 1963 (Diptera-Psychodidae). Approches morphologique et morphométrique. Corollaires biogéographiques et épidémiologiques. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 91, 346-352.
- Depaquit J., Leger N., Killick-Kendrick R., 1998b.** Description de *Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi* n. sp. (Diptera: Psychodidae) d’Afrique de Nord. *Parasite* 5,151-158.
- Depaquit J., Ferté H., Léger N., 2000a.** Révision du sous-genre *Paraphlebotomus* (*Phlebotomus* – Phlebotominae – Psychodidae - Diptera). Approches morphologique et moléculaire. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 58, 333-340.
- Depaquit J., Ferte H., Leger N., Killick-Kendrick R., Rioux J.A., Killick-Kendrick M., Hanafi-HAnafi A., Gobert S., 2000b.** Molecular systematics of the Phlebotomine sandflies of the subgenus *Paraphlebotomus* (Diptera, Psychodidae, *Phlebotomus*) based on ITS2 rDNA sequences. Hypotheses of dispersion and speciation. *Insect Molecular Biology*, 9, 293–300.
- Depaquit J., Ferté H., Léger N., Lefranc F., Alves-Pires C., Hanafi H., Maroli M., Morillas-Marques 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*. *International Journal for Parasitology*, 32, 1123–1131.
- Depaquit J., Léger N., Robert V., 2008.** Les phlébotomes de Madagascar. VI- Un sous-genre nouveau (*Vattieromyia*) avec trois espèces nouvelles: *Sergentomyia (Vat.) sclerosiphon*, *S. (Vat.) namo* et *S. (Vat.) anka*. *Parasite*, 15, 15-26.
- Dereure J., Velez I.D., Pratlong F., Denial M., Lardi M., Moreno G., Serres E., Lanotte G., Rioux J.P., 1986.** La leishmaniose viscérale autochtone au Maroc méridional. Présence de *Leishmania infantum* MON-1 chez le Chien en zone présaharienne. *Leishmania. Taxonomie et Phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques. Coll. Int. CNRS/INSERM*, 1984. IMEEE, Montpellier, 421-425.
- Desjeux P., 2001.** The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene*, 95,239-243.
- Dolmatova A.V. & Demina N.A., 1971.** Les phlébotomes (Phlebotominae) et les maladies qu'ils transmettent (Vol. 18). *Office de la recherche scientifique et technique outre-mer*, 169p.
- Dujardin J.P., Le Pont F., Baylac M., 2003.** Geographical versus interspecific differentiation of sand flies (Diptera: Psychodidae): a landmark data analysis. *Bulletin of Entomological Research*, 93, 87-90.
- Dujardin J.P., 2008.** Morphometrics applied to medical entomology. *Infection, Genetics and Evolution*, 8, 875-890.
- Durand-Delacre R., 1948.** Quelques observations biologiques sur les Phlebotomes de Beni -Ounif-de-Fguig (Sahara Oranais). *Archives d’Institut Pasteur d’Alger*, 36, 406-430.
- Dvorak, V., Aytakin A.M., Alten B., Skarupova S., Votypka J., Volf P., 2006.** A comparison of the intraspecific variability of *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917 (Diptera: Psychodidae). *Journal of Vector Ecology*, 31, 229-238.
- Echchakery M., Chicharro C., Boussaa S., Nieto J., Carrillo E., Sheila O., Moreno J., Boumezzough A., 2017.** Molecular detection of *Leishmania infantum* and *Leishmania tropica* in rodent species from endemic cutaneous leishmaniasis areas in Morocco. *Parasites and Vectors*, 10, 454.

- Echchakery M., Fajali N., Boussaa S., Nieto J., Ortega S., Souhail K., Aijly H., Chawki N., Chicharro C., Moreno J., Boumezzough A., Addebous A., 2017.** The first indigenous case of *Leishmania infantum*-HIV co-infection in the Marrakech-Safi region, Morocco. *Annales des Sciences de la Santé*, 1, 1-12.
- El Kammah K.M., 1973.** Studies of autogeny in *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 10, 261-263.
- El Miri H., Rhajaoui M., Himmi O., Ouahabi S., Benhoussa A., Faraj C., 2013.** Etude entomologique de cinq foyers de leishmaniose cutanée dans la province de Sidi Kacem au nord du Maroc. *Annales de la Société entomologique de France*, 49, 154-159.
- El Miri H., Faraj C., Himmi O., Hmamouch A., Maniar S., Laaroussi T., Rhajaoui M., Sebti F., Benhoussa A., 2016.** Cutaneous leishmaniasis in Ouazzane and Sidi Kacem provinces, Morocco (1997–2012). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 109, 376-380.
- El Sawaf B.M., Shoukry A., El Said S., Lane R.P., Kenawy M.A., Beier J.C., Abdel Sattar S., 1987.** Sand fly species composition along an altitudinal transect in Southern Sinai, Egypt. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 62, 467-473.
- El Sawaf B.M., Mansour N.S., El Said S.M., Daba S., Youssef F.G., Kenawy M.A., Beier J.C., 1989.** Feeding patterns of *Phlebotomus papatasi* and *Phlebotomus langeroni* (Diptera: Psychodidae) in El Agamy, Egypt. *Journal of Medical Entomology*, 26, 497-498.
- Es-Sette N., Ajaoud M., Laamrani-Idrissi A., Mellouki F., Lemrani M., 2014.** Molecular detection and identification of *Leishmania* infection in naturally infected sand flies in a focus of cutaneous leishmaniasis in northern Morocco. *Parasites and Vectors*, 7, 305.
- Estevez Y., 2009.** Activité leishmanicide de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle Péruvienne et de molécules de synthèse ; étude relation structure activité. *Thèse doctorat en Innovation Pharmaceutique*, Université de Toulouse, 79p.
- Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires, 1993.** Etat d'avancement de lutte contre les leishmanioses, 45-63.
- Euzeby J., Prom S., Rossignol J. F., 1980.** Expérimentation des propriétés anthelminthiques de la nitazoxanide chez le chien, le chat et les ovins. *Recueil de Médecine Vétérinaire Exotique*, 76, 146-149.
- Faraj C., El Bachir A., El Rhazi M., Ouahabi S., Lakraa L., El Kohli M., Ameer B., 2013.** Distribution and bionomic of sandflies in five ecologically different cutaneous leishmaniasis foci in Morocco. *ISRN Epidemiology*, 1-8.
- Faraj C. & Himmi O., 2020.** Liste actualisée des Phlebotominae (Diptera : Psychodidae) du Maroc. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 112, 296-301.
- Fares W., Charrel R.N., Dachraoui K., Bichaud L., Barhoumi W., Derbali M., Cherni S., Chelbi I., de Lamballerie X., Zhiouaa E., 2015.** Infection of sand flies collected from different biogeographical areas of Tunisia with phleboviruses. *Acta Tropica*, 141, 1-6.
- Frahtia-Benotmane K., 2015.** Détection moléculaire des leishmanies à partir du genre *Phlebotomus* (Diptera : Psychodidae) : tendance vers la régression de la leishmaniose à constantine? *Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*, Université des Frères Mentouri, Constantine, 141p.
- França C., 1918.** Note sur les espèces portugaises du genre *Phlebotomus*. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 11, 730-733.

- Faurie, C., Ferra C., Medori P., Devaux J., Hemptienne J.L., 2003.** Écologie, Approche scientifique et pratique. 5ème Edition, *Editors Tec and Doc.*, Paris, 407p.
- Galati E.A.B., Galvis-Ovallos F., Lawyer P., Léger N., Depaquit J., 2017.** An illustrated guide for characters and terminology used in descriptions of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). *Parasite*, 24, 1-35.
- Gálvez R., Descalzo M.A., Miró G., Jiménez M.I., Martín O., Dos Santos-Brandao F., Guerrero I., Cubero E., Molina R., 2010.** Seasonal trends and spatial relations between environmental/meteorological factors and leishmaniasis sand fly vector abundances in Central Spain. *Acta.Tropica*, 115, 95-102.
- Gaud J. & Laurent J., 1952.** Observations sur les phlébotomes de la région de Rabat. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelle du Maroc*. 27, 207-212.
- Gaud J., 1947.** Phlébotomes du Maroc. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, Maroc*. 27, 207-212.
- Gaud J., 1954.** Phlébotomes du Maroc. *Bulletin de l'Institut d'Hygiène, Maroc*. 14, 91-107.
- Gebre-Michael T. & Balkew M., 2002.** On the occurrence of *Phlebotomus (Paraphlebotomus) mireillae* (Diptera: Psychodidae) in Ethiopia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 96, 421-425.
- Gebre-Michael T. & Balkew M., 2003.** *Phlebotomus (Paraphlebotomus) gemetchi* (Diptera: Psychodidae), a new sand fly species from Ethiopia. *Journal of Medical Entomology*, 40, 141-145.
- Gebre-Michael T., Balkew M., Ali A., Ludovisi A., Gramiccia M., 2004.** The isolation of *Leishmania tropica* and *L. aethiopica* from *Phlebotomus (Paraphlebotomus)* species (Diptera: Psychodidae) in the Awash Valley, northern Ethiopia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98, 64-70.
- Grace-Lema D.M., Yared S., Quitadamo A., Janies D.A., Wheeler W.C., Balkew M., Hailu A., Warburg A., Clouse R.M., 2015.** A phylogeny of sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), using recent Ethiopian collections and a broad selection of publicly available DNA sequence data. *Systematic Entomology*, 40, 733-744.
- Guan L.R., Xu Y.X., Li B.S., Dong J., 1986.** The role of *Phlebotomus alexandri*, Sinton, 1928 in the transmission of kala-azar. *Bulletin of the World Health Organization*, 64, 107-112.
- Guernaoui S., Pesson B., Boumezzough A., Pichon G., 2005a.** Distribution of phlebotomine sandflies, of the subgenus *Larrousius*, in Morocco. *Medical and Veterinary Entomology*, 19, 111-115.
- Guernaoui S., Boumezzough A., Pesson B., Pichon C., 2005b.** Entomological investigations in Chichaoua: an emerging epidemic focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of Medical Entomology*, 42, 697-701.
- Guernaoui S., Boumezzough A., Laamrani A., 2006a.** Altitudinal structuring of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in the High-Atlas Mountains, Morocco. *Acta Tropica*, 97, 346-351
- Guernaoui S., Boussaa S., Pesson B., Boumezzough A., 2006b.** Nocturnal activity of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in Chichaoua, Morocco. *Parasitology Research*, 98, 184-188.
- Guernaoui S., 2006.** Les leishmanioses dans les zones arides et semi-arides du sud-ouest marocain. Ecologie, épidémiologie, modélisation et aide à la décision pour la lutte anti-vectorielle. *Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences, Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech*. 166p.

- Guernaoui S. & Boumezzough A., 2009.** Habitat preferences of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in Southwestern Morocco. *Journal of Medical Entomology*, 46, 1187-1194.
- Guernaoui S., Ramaoui K., Rahola N., Barnabe C., Sereno D., Boumezzough A., 2010.** Malformations of the genitalia in male *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) (Diptera: Psychodidae). *Journal of Vector Ecology*, 35, 13-9.
- Guernaoui S., Hamarsheh O., Garcia D., Fontenille D., Sereno D., 2020.** Population genetics of *Phlebotomus papatasi* from endemic and nonendemic areas for zoonotic cutaneous leishmaniasis in Morocco, as revealed by *Cytochrome Oxidase* gene subunit I sequencing. *Microorganisms*, 8, 1-12.
- Guessous-Idrissil N., Chiheb S., Hamdani A., Riyad M., Bichichi M., Hamdani S., Krimech A., 1997.** Cutaneous leishmaniasis: an emerging epidemic focus of *Leishmania tropica* in North Morocco. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91, 660–663.
- Guerbouj S., Chemkhi J., Kaabi B., Rahali A., Ben Ismail R., Guizani I., 2007.** Natural infection of *Phlebotomus* (Larrousius) *langeroni* (Diptera: Psychodidae) with *Leishmania infantum* in Tunisia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101, 372-377.
- Guilvard E., Rioux J.P., Gallego M., Pratlong F., Mahjour J., Martinezorlega E., Dereure J., Saddiki A., Martini A. 1991.** *Leishmania tropica* au Maroc III- Rôle de *Phlebotomus sergenti*. A propos de 89 isolats. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 66, 96-99.
- Haddad N., Léger N., Sadek R., 2003.** Sandflies of Lebanon: Faunistic Inventory. *Parasite*, 10, 99-110.
- Hamdani A., 1999.** Etude de la faune phlébotomienne dans trois foyers de leishmanioses au Nord du Maroc: Espèces, Abondance, Saisonnalité et incrimination du vecteur. Thèse de 3ème cycle, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, 57p.
- Hanafi-Hanafi A., 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.
- Haut-Commissariat au Plan, 2017.** Monographie régionale Béni Mellal-Khénifra.
- Izri M.A., Belazzoug S., Pratlong F., Rioux J. A., 1992.** Isolement de *Leishmania major* chez *Phlebotomus papatasi* a Biskra (Algérie). Fin d'une épopée éco-épidémiologique. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 67, 31-32.
- Jacobson R.L., 2003.** *Leishmania tropica* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) – a perplexing parasite. *Folia Parasitologica*, 50, 241-250.
- Jait N., Khibri H., Maamar M., Erghouni M., El F.F.Z., Ammouri W., Mouatassim N., Harmouche H., Tazi Mezalek Z., Adnaoui M., 2021.** Co-infection leishmaniose et VIH : à propos de 4 cas. *La Revue de Médecine Interne*, 42, A437.
- Jaouadi K., Ghawar W., Salem S., Gharbi M., Bettaieb J., Yazidi R., Harrabi M., Hamarsheh O., Ben Salah A., 2015.** First report of naturally infected *Sergentomyia minuta* with *Leishmania major* in Tunisia. *Parasites and Vectors*, 8, 649
- Kahime K., Boussaa S., Laamrani-El Idrissi A., Nhammi H., Boumezzough A., 2016.** Epidemiological study on acute cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of Acute Disease*, 5, 41-45.
- Kahime, K., Boussaa S., El Mzabi A., Boumezzough A., 2015.** Spatial relations among environmental factors and phlebotomine sand fly populations (Diptera: Psychodidae) in central and southern Morocco. *Journal of Vector Ecology*, 40, 342–354.

- Kakarsulemankhel J.K., 2004a.** A comparative analysis of key parameters of the species of the subgenus *Paraphlebotomus* (Diptera, Psychodidae). *Journal of Biological Science*, 4, 456-462.
- Kakarsulemankhel J.K., 2004b.** Taxonomic morphology of *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) *sergenti* Parrot (1917) and *Phlebotomus alexandri* Sinton (1928) (Diptera, Psychodidae) of Pakistan. *Journal of Biological Science*, 7, 640- 650.
- Kassem H.A., El Nogoumy N.N., El Sawaf B.M., 2012.** Impact of urbanization on the sand fly *Phlebotomus langeroni* Nitzulescu in an Old focus of visceral leishmaniasis in Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 42, 619-624.
- Kavur H., Arikan H., Ozbel Y., 2018.** *Phlebotomus halepensis* (Diptera: Psychodidae) vectorial capacity in Afyon and Nigde Province, Turkey. *Journal of Medical Entomology*, 55, 317-322.
- Khosravani M., Nasiri Z., Keshavarz D., Rafat-Panah A., 2016.** Epidemiological trend of cutaneous leishmaniasis in two endemic focus of disease, South of Iran. *Journal of Parasitology Diseases*, 40, 1609-1613.
- Killick-Kendrick R., 1985.** Some epidemiological consequences of the evolutionary fit between Leishmaniae and their phlebotomine vectors. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 78, 747-755.
- Killick-Kendrick R., Leaney A.J., Peters W., Rioux, J.A., Bray R.S., 1985.** Zoonotic cutaneous leishmaniasis in Saudi Arabia: The incrimination of *Phlebotomus papatasi* as the vector in the Al-Hassa oasis. *Transaction of the Royal, Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79, 252-5.
- Killick-Kendrick R., 1990.** Phlebotomine vectors of leishmaniasis: a review. *Medical and Veterinary Entomology*, 4, 1-24.
- Killick- Kendrick R., 1999.** The biology and control of Phlebotomine sandflies. *Clinics in Dermatology*, 17, 279-289.
- Killick-Kendrick R. & Killick-Kendrick M., 1999.** Biology of sand fly vectors of Mediterranean canine leishmaniasis. In : *Canine Leishmaniasis : an update. Proceedings of a canine Leishmaniasis Forum*, Barcelona, 28-31.
- Koch L.K., Kochmann J., Klimpel S., Cunze S., 2017.** Modeling the climatic suitability of leishmaniasis vector species in Europe. *Scientific Reports*, 7.
- Krüger A., Struven L., Post R.J., Faulde M., 2011.** The sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in military camps in northern Afghanistan (2007–2009), as identified by morphology and DNA 'barcoding'. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 105, 163-76.
- Lahouiti K., El Oualilalami A., Maniar S., Bekhti K., 2013.** Seasonal fluctuations of phlebotomines sand fly populations (Diptera: Psychodidae) in the Moulay Yacoub province, centre Morocco: Effect of ecological factors. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 7, 1028-1036.
- Lane R. & Ready P., 1985.** Multivariate discrimination between *Lutzomyia wellcomei*, a vector of mucocutaneous leishmaniasis, and *Lu. complexus* (Diptera: Psychodidae). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 79, 469-472.
- Lane R.P., 1986.** The Sandflies of Egypt (Diptera: Phlebotominae). *Bulletin of the British Museum (Natural History)*, 52, 1-35.
- Lane R.P., 1988.** Geographic variation in Old World Phlebotomine sand flies. *Biosystematics of haematophagous insects. The Systematic Association, Clarendon Press, Oxford, United Kingdom, In M. W. Service (ed.)*, 77-90.

- Latrofa M.S., Iatta R., Dantas-Torres F., Annoscia G., Gabrielli S., Pombi M., Gradoni L., Otranto D., 2018.** Detection of *Leishmania infantum* DNA in phlebotomine sand flies from an area where canine leishmaniosis is endemic in southern Italy. *Veterinary Parasitology*, 253, 39-42.
- Lawyer P.G. & Perkins P.V. 2000.** Leishmaniasis and Trypanosomiasis. *Medical Entomology*, 231-298.
- Legendre P. & Legendre L., 1998.** Numerical Ecology, 2nd English edition. *Elsevier Science BV, Amsterdam*, 853p.
- Lemrani M., Nejjar N., Benslimane A., 1999.** A new focus of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in Northern Morocco. *Giornal Italiano di Medicina Tropical*, 4, 3-4.
- Leng Y.J., 1987.** A preliminary survey of phlebotomine sandflies in limestone caves of Sichuan and Guizhou provinces, South West China, and description and discussion of a primitive new genus *Chinius*. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 81, 311-317.
- Lewis D.J. 1971.** Phlebotomid sandflies. *Bulletin of World Health Organization*, 44, 535-551.
- Lewis D.J., 1982.** A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). *Bulletin of the British Museum of Natural History*, 45, 121-209.
- Léger N., Rioux J.A., Croset H., Cadi Soussi M., Benmansour N., 1974.** Le «complexe» *Sergentomyia (Sergentomyia) antennata* (Newstead, 1912). Remarques systématiques et écologiques, à propos de 948 exemplaires récoltés dans le Sud-marocain. *Annales of Parasitology*, 49, 577-591.
- Léger N., Pesson B., Madulo-Leblond G., Abonnenc E., 1983.** Sur la différenciation des femelles du sous-genre *Larroussius* Nitzulescu, 1931 (Diptera: Phlebotomidae) de la région méditerranéenne. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 58, 611-623.
- Léger N. & Depaquit J., 1999.** Les Phlébotomes. In *Dedet J-P., Les Leishmanioses. Ellipses Editon, Paris*. 89-108.
- Léger N. & Depaquit J., 2001.** Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. *Revue Française des Laboratoires*, 338, 41-48.
- Lightburn E., Meynard J.B., Morand J.J., Garnotel E., Kraemer P., Hovette P., Banzet S., Dampierre H., Lepage J., Carme 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*, 62, 545-553.
- Lucientes J., Osacar J.J., Caliente C., Benito I., Castillo J.A., 1994.** Sobre la presencia de *Phlebotomus (Larroussius) langeroni* Nitzulescu, 1930 (Diptera : Psychodidae) en Aragon. *Zapateri Revta Aragon Ent*, 4, 19-22.
- Maazoun R., Pratlong F., Lanotte G., Rioux J.A., 1986.** Le complexe *Leishmania major*. A propos de l'analyse numérique de 35 souches identifiées par la méthode enzymatique. In: *Leishmania. Taxonomie et Phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques. Édition Rioux J.A.. Montpellier, France: Institut Méditerranéen d'Etudes Épidémiologiques et Ecologiques*, 129-137.
- Maltezou H.C., 2010.** Drug Resistance in Visceral Leishmaniasis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 1-8.
- Mansour N.S., Fryauff D.J., Modi B., Mikhail E.M., Youssef F., 1991.** Isolation and characterization of *Leishmania major* from *Phlebotoms papatasi* and military personnel in north Sinai, Egypt. *Transactions of the Royal society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85, 590-591.

- Maroli M., Jalouk L., Al Ahmed M., Bianchi R., bongiorno G., Khoury C., Gradoni L., 2009.** Aspects of the bionomics of *Phlebotomus sergenti* sandflies from an endemic area of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Aleppo governorate, Syria. *Medical and Veterinary Entomology* 23, 148-154.
- Martinez Ortega E., Conesa Gallego E., Goyena Salgado M., Romera Lozano H., 1992.** Presencia de *Phlebotomus (Larrousius) langeroni* Nitzulescu, 1930 (Diptera : Psychodidae) en la Peninsula Ibérica. *Bolm Soc Port Ent*, 139, 196.
- Marty P., Le Fichoux Y., Pralong F., Rioux J.A., Rostain G., Lacour J.P., 1989.** Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a young Moroccan child observed in Nice, France. *Transaction the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83, 510.
- Matias A., de la Riva J.X., Torrez M., Dujardin, J.P., 2001.** Rhodnius robustus in Bolivia identified by its wings. *Memoires Institute Oswaldo Cruz*, 96, 947–950.
- Mhaidi I., El Kacem S., Ait Kbaich M., El Hamouchi A., Sarih M., Akarid K., Lemrani M., 2018.** Molecular identification of *Leishmania infection* in the most relevant sand fly species and in patient skin samples from a cutaneous leishmaniasis focus, in Morocco. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 1-13.
- Michelle G.C.M., Penny M M., John P.G., 2010.** Ecological niche model of *Phlebotomus alexandri* and *P. papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the Middle East. *International Journal of Health Geographics*, 9, 2.
- Ministère de la santé publique, 1997.** Lutte contre les leishmanioses. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Rabat, Maroc.
- Ministère de la santé publique, 2001, 2003.** Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Rabat, Morocco.
- Ministère de la santé publique, 2016.** Santé en chiffre. Direction de la planification et des ressources financière. Division de la planification et des études, Service des études et de l'information sanitaire, 168p.
- MI, 2015. (Ministère de l'intérieur).** Monographie générale de la région de Béni Mellal-Khénifra.
- Morillas Marquez F., Guevara Benitez D.C., Gil Collando J., Ubeda Ontiveros J.M., 1982.** Presencia en Espana de *Phlebotomus (Larrousius) longicuspis* (Diptera, Phlebotomidae). *Revision Ebert Parasitology, Extra* 191-196.
- Morrison A.C., Ferro C., Morales A., Tesh R.B., Wilson M.L., 1993.** Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *Journal of Medical Entomology*, 30, 427-435.
- Moin-Vaziri V., Depaquit J., Yaghoobi-Ershadi M.R., Oshaghi M.A., Derakhshandef-Peykar P., Ferté H., Kaltenbach M., Bargues M.D., Leger N., Nadim A., 2007.** Intraspecific variation within *Phlebotomus sergenti* (Diptera, Psychodidae) based on mtDNA sequences in Islamic Republic of Iran. *Acta Tropica*; 102, 29-37.
- Müller G.C., Kravchenko V.D., Rybalov L., Schlein Y., 2011.** Characteristics of resting and breeding habitats of adult sand flies in the Judean Desert. *Journal of Vector Ecology*, 36, S195-S205.
- Munstermann L.E., Morrison A.C., Ferro C., Pardo R. Torres M., 1998.** Genetic structure of local populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Central Colombia. *Journal of Medical Entomology*, 35, 82–89.

- Muñoz C, Risueño J, Yilmaz A, Pérez-Cutillas P., Goyena E., Ortuño M., Bernal L.J., Ortiz J., Alten B., Berriatua E., 2017.** Investigations of *Phlebotomus perniciosus* sand flies in rural Spain reveal strongly aggregated and gender-specific spatial distributions and advocate use of light-attraction traps. *Medical and Veterinary Entomology*, 32, 186-196.
- Neronov V.M., Strelkova M.V., Shurkhl A.A., Luschekina A.A., Artemyev M.M., 1987.** Natural focality of zoonotic cutaneous leishmaniasis in the Mongolian People's Republic; results and objectives of integrated research. *Folia Parasitologica*, 34, 1-9.
- Noteila M.K.A., 2011.** Morphometrics and molecular differentiation of *Phlebotomus* (*Phlebotomus*) sandflies from Sudan. *Doctorat thesis*. Faculty of Science. University of Khartoum, Soudan, 220p.
- Nozais J.P., 1999.** Traité de Parasitologie Médicale. Edition. Flammarion. Paris. 355p.
- Oguz G., Kasap O.E., Alten B., 2017.** Wing morphology variations in a natural population of *Phlebotomus tobbi* Adler and Theodor 1930. *Journal of Vector Ecology*, 42, 223-232.
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé, 2019.** Principaux repères sur la leishmaniose. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> (Accessed 5 September 2019)
- Orshan L., Elbaz S., Ben-Ari Y., Akad F., Afik O., Ben-Avi I., Dias D., Ish-Shalom D., Studentsky L., Zonstein I., 2016.** Distribution and Dispersal of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in a Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis Focus, the Northern Negev, Israel. *PLOS Neglected Tropical Disease*, 10, e0004819.
- Ouanaimi F., Boussaa S., Boumezzough A., 2015.** Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of Morocco: results of an entomological survey along three transects from northern country. *Asian Pac Journal of Tropical Disease*, 5, 299-306.
- Ouadia Z., Akhdari N., Hocar O., Amal S., Tassi N., 2016.** Polymorphic lesions of cutaneous leishmaniasis revealing human immunodeficiency virus infection. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 46, 393-395.
- Özkeklikçi A., Karakus M., Özbel Y., Töz S., 2016.** The new situation of cutaneous leishmaniasis after Syrian Civil War in Gaziantep city, Southeastern region of Turkey. *Acta Tropica*, 166, 35-38.
- Parrot L., 1917.** Sur un nouveau phlébotome algérien *Phlebotomus sergenti* sp. nov.. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 10, 564-567.
- Parrot L., Donatien A., Plantureux E., 1941.** Sur l'infection naturelle des phlébotomes par la leishmaniose générale de l'homme et du chien en Algérie. *Archives de l'Institut Pasteur Algérie*, 19, 209-17.
- Parrot L., 1942.** Notes sur les Phlebotomes, XXXIX. A propos de deux *Phlebotomus* d'Algérie : *Phlebotomus minutus* var. *signatipensis* et *Phlebotomus fallax*. *Archives de l'Institut de Passeur d'Algérie*, 4, 322-335.
- Passerat De Silans L.M.N., Guilvard E., Picot M.C., Lebbe J., Dedet J.P., 1996.** Wing morphometry of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae): calibration of methods with a laboratory population. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 90, 543-550. **Pesson B., Ready J.S., Benabdennbi I., Martin-Sanchez J., Esseghir S., Cadi Soussi M., Morillas-Marquez 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. *Medical and Veterinary Entomology*, 18, 25-37.
- Petrischeva P.A., 1971.** The natural focality of Leishmaniasis in the URSS. *Bulletin of the World Health Organisation*, 44, 567-576.

- Peira S., Pita-Pereira D., Araujo-Pereira T., Britto C., Costa-Rego T., Ferrolho J., Vilhena M., Rangel E.F., Vilela M.L., Afonso M.O., 2017.** First molecular detection of *Leishmania infantum* in *Sergentomyia minuta* (Diptera: Psychodidae) in Alentejo, southern Portugal. *Acta Tropica*, 174, 45-48.
- Pratlong F., Rioux J.A., Dereure J., Mahjour J., Gallego M., Guilvard E., Lanotte G., Périères J., Martini A., Saddiki A., 1991.** *Leishmania tropica* au Maroc. IV. Diversité isozymique intrafocale. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 66, 100-104.
- Prudhomme J., Gunay F., Rahola N., Ouanaimi F., Guernaoui S., Boumezzough A., Bañuls A.L., Sereno D., Alten B., 2012.** Wing size and shape variation of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) populations from the south and north slopes of the Atlas Mountains in Morocco. *Journal of Vector Ecology*, 37, 137-147.
- Prudhomme J., Cassan C., Hide M., Toty C., Rahola N., Vergnes B., Dujardin J.P., Alten B., Sereno D., Bañuls A.L., 2016.** Ecology and morphological variations in wings of *Phlebotomus ariasi* (Diptera: Psychodidae) in the region of Roquedur (Gard, France): a geometric morphometrics approach. *Parasites and Vectors*, 9, 578.
- Ready P.D., 2013.** Biology of Phlebotomine sandflies as vectors of disease agents. *Annual Review of Entomology*, 58, 227-50.
- Ramaoui K., Guernaoui S., Boumezzough A., 2008.** Entomological and epidemiological study of a new focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Parasitology Research*, 103, 859-863.
- Remilinger P., 1926.** Au sujet de la leishmaniose au Maroc. *Maroc Médicale*, 52, 117-118.
- Rémy-Kristensen A., Perrotey S., Pesson B. Garcia-Stoeckel M., Ferte H., Morillas-Marquez F., Léger N., 1996.** *Phlebotomus sergenti*; Parrot, 1917: morphological and isoenzymatic comparisons of two natural populations from Tenerife (Canary Islands, Spain) and Crete (Greece). *Parasitology Research*, 82, 48-51.
- Rhajaoui M., Fella H., Pratlong F., Dedet J.P. , Lyagoubi M., 2004.** Leishmaniasis due to *Leishmania tropica* MON-102 in a new Moroccan focus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 98, 299-301.
- Rhajaoui M., Abdelmajed N., Fella H., Azmi K., Amrir F., Al-jawabreh A., Ereqat S., Planer J., Abdeen Z., 2007.** New clinic-epidemiologic profile of cutaneous leishmaniasis, Morocco. *Emerging Infectious Diseases*, 13, 1358-1360.
- Rhajaoui M., 2011.** Les leishmanioses humaines au Maroc : une diversité nos géographique Human leishmaniasis in Morocco: A nosogeographical diversity. *Pathologie Biologie*, 59, 226-229.
- Rioux J.A., Golvan Y.J, Croset H, Houin R, Juminer B, Bain O., Tour S., 1967.** Ecologie de leishmanioses dans le sud de la France. Les phlébotomes. Echantillonnage, éthologie. *Annales de Parasitologie*, 42, 561-603.
- Rioux J.A., Croset H., Léger N., Bailly-Choumara H., 1974.** *Phlebotomus (Larroussius) mariae* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Annales de Parasitologie*, 49, 91-101.
- Rioux J.A., Croset H., Léger N., Benmansour N., Cadi Soussi M., 1975.** Présence au Maroc de *Phlebotomus bergeroti*, *Phlebotomus chabaudi*, *Phlebotomus chadlii* et *Sergentomyia christophersi*. *Annale de Parasitologie*, 50, 493-506.
- Rioux J.A., Croset H., Léger N., Rosin G. 1977.** Présence au Maroc de *Phlebotomus perfiliewi* Parrot, 1930. *Anales de Parasitologie*, 52, 377-380.

- Rioux J.A., Pirieres J., Killick-Kendrick R., 1978.** Confirmation de l'existence en Tunisie de *Sergentomyia antennata* (Newstead, 1912) (Diptera-Psychodidae). *Annales de Parasitologie*, 53, 431-435.
- Rioux J.A., Lanotte G., Maazoun R., Perello R., Pratlong F., 1980.** Parasitologie animale-*Leishmania infantum* Nicolle, 1908, agent du bouton d'Orient autochtone. A propos de l'identification biochimique de deux souches isolées dans les Pyrénées-Orientales. *Compte Rendue des Séances de l'Académie des Sciences, Paris*, 291,701-703.
- Rioux J.A., Petter F., Akalay O., Lanotte G., Ouazani A., Seguignes M. & Mohcine A. 1982.** *Meriones shawi* (Duvernoy, 1842) (Rodentia, Gerbillidae), réservoir de *Leishmania major* Yakimoff et Shokhor, 1914 dans le Sud Marocain. *Compte Rendue des Séances de l'Académie des Sciences, Paris*, 294, 515-517.
- Rioux J.A., Rispail P., Lanotte G., Lepart J., 1984.** Relations phlébotomes bioclimats en écologie des leishmanioses. Corollaires épidémiologiques. L'exemple du Maroc. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 131, 549-557.
- Rioux J.A., Lanotte G., Petter F., Dereure J., Akalay O., Pratlong F., Velez G., Fikri N.B., Maazoun R., Denial M., Jarry D.M., Zahaf A., Ashford R.W., Cadi Soussi M., Killick-Kendrick R., Benmansour N., Moreno G., Périères J., Guilvard E., Zribi M., Kennou M.F., Rispail P., Knechtli R., Serres E., 1986a.** Les leishmanioses cutanées du bassin méditerranéen occidental: de l'identification enzymatique à l'analyse éco épidémiologique, l'exemple de trois 'foyers', tunisien, marocain et français. In *Leishmania. Taxonomie et Phylogénèse. Applications Éco-épidémiologiques*, édition Rioux J.A. Montpellier, France : *Institut Méditerranéen d'Etudes Épidémiologiques et Ecologiques*, 365-395.
- Rioux J.A., Guilvard E., Dereure J., Lanotte G., Denial M., Pratlong F., Serres E., Belmonte A., 1986b.** Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786) par *Leishmania major* MON-25. A propos de 28 souches isolées dans un foyer du Sud Marocain. In : *Leishmania. Taxinomie et Phylogénèse. Applications écoépidémiologiques*. Montpellier, France : *Institut Méditerranéen d'Etudes Épidémiologiques et Ecologiques*, 471-480.
- 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* (Duvernoy, 1842) (Rodentia: Gerbillidae) en Tunisie. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 61, 139-145.
- Rioux J.A., Guilvard E., Gallego J., Moreno G., Pratlong F., Portus M., Rispail P., Gallego M., Bastien P., 1986d.** *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921, *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911, vecteurs du complexe *Leishmania infantum* dans un même foyer. In : *Leishmania. Taxinomie et phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques*. (Coll. Int. CNRS/INSERM, 1984). IMEEE, Montpellier, France, 439-444.
- Rioux J.A., Velez I.D., Denial M., Dereure J., Périères J., Lanotte G. ; El Mellouki W. 1986e.** Presence in Morocco of *Phlebotomus (Paraphlebotomus) kazeruni* Theodor and Mesghali. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 61, 473-81.
- Rioux J.A., Mahjour J., Gallego M., Dereure J., Périères J., Laamrani A., Riera C., Saddiki A., Mouki B., 1996.** Leishmaniose cutanée humaine à *Leishmania infantum* MON-24 au Maroc. *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, 14, 179-183.
- Rioux J.A., Akalay O., Périères J., Dereure J., Mahjour J., Le Houérou H.N., LégerN., Desjeux P., Gallego M., Saddiki A., Barkia A., Nachi H. 1997.** L'évolution éco-épidémiologique du « risque

leishmanien au Sahara atlantique marocain. Intérêt heuristique de la relation phlébotomes bioclimats». *Ecologia Mediterranea*, 23, 73-92.

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

Rispail P., Dereure J., Jarry D., 2002. Risk zones of human leishmaniasis in the western Mediterranean basin. Correlations between vectors sand flies, bioclimatology and phytosociology. *The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 97, 477-483.

Ristorcelli A., 1939. Contribution à l'étude des phlébotomes du Maroc. *Annales de Parasitologie, Humaine et Comparée*, 17, 364-365.

Ristorcelli A., 1940. Sur les phlébotomes du Maroc. *Archives de l'Institut Pasteur du Maroc*. 2, 367-381.

Ristorcelli A., 1941. Sur les phlébotomes du Maroc (2° note). *Archives de l'Institut Pasteur du Maroc*. 2, 521-533.

Ristorcelli A., 1945. Sur les phlébotomes du Maroc (3° note). *Archives de l'Institut Pasteur du Maroc*. 3, 105-109.

Ristorcelli A., 1947. Sur les phlébotomes du Maroc (4° note). *Archives de l'Institut Pasteur du Maroc*. 3, 487-488.

Rohlf F.J. & Slice D., 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39, 40-59.

Ruiz-Postigo J.A., Jain S., Mikhailov A., Maia-Elkhoury A.N., Valadas S., Warusavithana S., Osman M., Lin Z., Beshah A., Yajima A., Gasimov E., 2021. Global leishmaniasis surveillance: 2019–2020, a baseline for the 2030 roadmap. *Relevé Épidémiologique Hebdomadaire*, 35, 401-419.

Russo J., Rioux J.A., Lambert M., Rispail P., Belmonte A., Berchi S., 1991. Chorologie des phlébotomes de l'Est Algérien (Diptera: Psychodidae). *Annale de Parasitologie Humaine et Comparée*, 66, 247-251.

Santos M. F. C., Andrade Filho J. D., Fernandes C. E. S., Mateus N. L. F., Eguchi G. U., Fernandes W. D., Brazil R. P., Oliveira E. F., Oliveira A. G., 2015. Morphometric Analysis of *Longipalpis* (Diptera: Psychodidae) Complex Populations in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 1-9.

Schnur L.F., Nasereddin A., Eisenberger C.L., Jaffe C.L., El Fari M., Azmi K., Anders G., Killick-Kendrick M., Killick-Kendrick R., Dedet J.P., Pratlong F., Kanaan M., Grossman T., Jacobson R.L., Schonian G., Warburg A., 2004. Multifarious characterization of *Leishmania tropica* from a Judean desert focus, exposing intraspecific diversity and incriminating *Phlebotomus sergenti* as its vector. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70, 364-372.

Sharma U. & Singh S., 2008. Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45, 255-272.

Shipunov A.B. & Bateman R.M., 2005. Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (Orchidaceae) diversity in European Russia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85, 1-12.

Shirzadi M.R., Esfahania S.B., Mohebalia M., Ershadia M.R.Y., Gharachorlo F., Rzavia, M.R., Postigo J.A.R., 2015. Epidemiological status of leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran, 1983-2012. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 21, 736-742.

- Seddik R., 2007.** La leishmaniose viscérale infantile cas colligés à l'hôpital d'enfants de rabat entre 2000 et 2006. Thèse de pharmacie, Université Mohamed V, Rabat.
- Sharma U. & Singh S., 2008.** Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45, 255-272.
- Soto-Mancipe J., Buffet P., Grogl M., Berman J., 1994.** Successful treatment of Colombian cutaneous leishmaniasis with four injections of pentamidine. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50, 107-111.
- Soto-Mancipe J., Grogl M., Berman J.D., 1993.** Evaluation of pentamidine for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia. *Clinical Infections Diseases*, 16, 417-425.
- Srinivasan R. & Panicker K.N., 1993.** Laboratory observations on the biology of the phlebotomid sandfly, *Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786). *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 24, 536-539.
- Srinivasan R. & Jambulingam P., 2012.** Morphological and Anatomical Variations among *Phlebotomus* (*Phlebotomus*) *papatasi* Sensu Lato (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 49, 441-444.
- Surendran, S.N., Kajadeepan N., Hawkes N.J., Ramasamy R., 2005.** First report on the presence of morpho-species A and B of *Phlebotomus argentipes sensu lato* (Diptera: Psychodidae) in Sri Lanka: implications for *Leishmania* transmission. *Journal of Vector Borne Diseases*, 42, 155-158.
- Svobodová M., Votýpka J., Nicolas L., Volf P., 2003.** *Leishmania tropica* in the black rat (*Rattus rattus*): persistence and transmission from asymptomatic host to sand fly vector *Phlebotomus sergenti*. *Microbes and Infections*, 5, 361-364.
- Svobodová M., Volf P., Votýpka J., 2006.** Experimental transmission of *Leishmania tropica* to hyraxes (*Procavia capensis*) by the bite of *Phlebotomus arabicus*. *Microbes and Infection*, 8, 1691-1694.
- Talbi F, El Ouali A., Lalami A., Idrissi A.J., Sebti F., Faraj C., 2015.** Leishmaniasis in Central Morocco: Seasonal fluctuations of phlebotomine sand fly in Aichoun locality, from Sefrou province. *Pathology Research International*, 1-4.
- Tesh R.B. & Guzman H., 1996.** Sandflies and the agents they transmit. In: Beaty B.J. Marquardt W.C. The biology of disease vectors. *Edition Colorado*, 632p.
- Theodor O., 1936.** On the relation of *Phlebotomus papatasi* to the temperature and humidity of the environment. *Bulletin of entomological Research*, 27, 653-671.
- Toprak S. & Ozer N., 2005.** Sand fly species of Sanliurfa province in Turkey. *Medical and Veterinary Entomology*, 19, 107-110.
- Vasconcelos dos Santos T., Prévot G., Ginouvès M., Duarte R., Silveira F.T., Póvoa M.M., Rangel E.F., 2018.** Ecological aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) and the transmission of American cutaneous leishmaniasis agents in an Amazonian/ Guianan bordering area. *Parasites and Vectors*, 11, 612.
- Vélez I.D., Carrillo L.M., Cadena H., Muskus C., Robledo S.M., 2017.** Application of the eco-epidemiological method in the study of leishmaniasis transmission foci. In: Claborn D (ed), *The Epidemiology and Ecology of Leishmaniasis*, In TechOpen, 31-56.
- Vialatte C. & Parrot L., 1921.** Phlébotomes du Maroc. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 14,566

Volf P., Ozbel Y., Akkafa F., Svobodová M., Votýpka J., Chang K.P., 2002. Sand flies (Diptera: Phlebotominae) in Sanliurfa, Turkey: Relationship of *Phlebotomus sergenti* with the Epidemic of Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis. *Journal of Medical Entomology*, 39, 12-15.

Warburg A., Saraiva E., Lanzaro G.C., Titus R.G., Neva F., 1994. Saliva of *Lutzomyia longipalpis* sibling species differs in its composition and capacity to enhance leishmaniasis. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 345, 223-230.

Yahia H., Ready P.D., Hamdani A., Testa J.M., Guessous-Idrissi N., 2004. Regional genetic differentiation of *Phlebotomus sergenti* in three Moroccan foci of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica*. *Parasite*, 11, 189- 199.

Zahraei-Ramazani, A.R., Yaghoobi-Ershadi M.R., Akhavan A.A., Abdoli H., Jafari R., Jalali-Zand A.R., Arandian M.H., Shareghi N., Ghanei M., 2008. Some ecological aspects of Phlebotominae sand flies (Diptera: Psychodidae) in an endemic focus of anthroponotic cutaneous leishmaniasis of Iran. *Journal of Entomology*, 5, 17-23.

Zahraei-Ramazani A.R., Yaghoobi-Ershadi M.R., Mokhtari A.R., Akhavan A.A., Abdoli H., Arandian M.H., 2007. Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in nonendemic quarters of a central city in Iran. *Iranian Journal of Public Health*, 36, 7-11.

Zarrouk A., Kahime K., Boussaa S., Belqat B., 2015. Ecological and epidemiological status of species of the *Phlebotomus perniciosus* complex (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in Morocco. *Parasitology Research*, 1-7.

Zerrouk A., 2018. Les phlébotomes du Nord Marocain (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): Taxonomie, Ecologie, Nuisances et Epidémiologie des leishmanioses au Maroc. *Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences, Université Abdelmalek Essaadi, Tetouan.* 244p.

Zhioua E., Kaabi I., Chelbi I., 2007. Entomological investigations following the spread of visceral leishmaniasis in Tunisia. *Journal of Vector Ecology*. 32, 371-374.

Zouirech M., Belghyti D., El Kohli M., Faraj C., 2013. Entomological investigation of an emerging leishmaniasis Focus in azilal province, morocco. *Pakistan Entomologist*, 35, 11-15.

Zouirech M., Faraj C., Belghyti D., 2015. Entomological and epidemiological investigations of an emerging focus of cutaneous leishmaniasis in Bzou, Morocco. *Faunistic Entomology*, 68, 201-211.

Zouirech M., Rhajaoui M., Faraj C., El Guamri Y., Amahmid O., El Hachimi M.Y., Bouhout S., El Kharrim K., Belghyti D., 2018. Entomological inventory of phlebotomine sand flies and epidemiological study of leishmaniasis in Afourer, Azilal province, High Atlas, Morocco. *Médecine et Santé Tropicales*, 28, 385-389.

ANNEXES

ANNEXE I

MATRICE DE L'ACP DE GENITALIA DE *P. SERGENTI*

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
Groupe	a	c	d	f	s	L	m	p								
1	63	66	66	176	15	39	52	40								
1	82	86	72	188	15	52	47	40								
1	65	68	66	158	25	40	42	41								
1	64	66	65	162	22	43	37	39								
1	70	93	90	245	18	29										
1	64	68	67	132	25	37	50	38								
1	67	65	65	151	15	43	39	35								
1	74	85	76	169	28	75	50	31								
1	66	70	75	153	30	42	45	30								
1	69	67	77	162	28	44	47	36								
1	59	65	68	152	25	30	51	29								
1	46	52	42	167		61	49	35								
1	61	42	59	164	24	51	48	41								
1	58	63	64	154	24	38	35	31								
1	68	70	76	165	28	37	45	24								
1	72	73	74	155	24	45	63	34								
1	69	72	72	149	28	52	49	30								
1	67	70	74	166	25	48	46	36								
1	69	76		178	28	48	44	43								
1	64	65	69	171	15	46	48	30								

Style: a: Longueur; d: Distance entre la base du style et la 2^{ème}; e: la 3^{ème} épines;
 Coxite: f: Longueur;
 Lobe basal: i: Longueur; l: Nombre de soies; m: Distance entre la base du coxite et le lobe basal;
 Valves: n: Longueur;

ANNEXE II

MATRICE DE L'ACP DE LA TAILLE ET LA FORME DES AILES DE *P. SERGENTI*

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1		mai-17	01-sept		02-déc	12-nov	01-déc	nov-14	10-nov	03-déc	04-nov
2	Origin	L	l	Centroïde	α	β	δ	γ	π	ϵ	θ
3	Tiski	2230	725	3318	535	356	156	790	243	359	605
4	Tiski	2110	741	3097	557	347	201	601	251	386	610
5	Tiski	1998	817	3136	673	413	212	566	299	429	675
6	Tiski	2120	772	3197	570	408	193	677	257	352	585
7	Tiski	2110	726	3169	554	420	182	638	247	371	600
8	Tiski	2120	708	3181	563	352	192	540	203	787	615
9	Tiski	1990	668	3181	782	550	299	984	488	352	560
10	Tiski	1970	654	3166	502	379	502	809	249	358	600
11	Tiski	1990	681	3029	508	533	203	810	256	347	580
12	Tiski	1990	681	3111	474	356	186	757	206	413	585
13	Tiski	1982	700	3181	522	405	162	790	242	371	625
14	Tiski	1920	675	3015	501	317	135	609	243	326	555
15	Tiski	1900	598	3042	443	340	122	639	271	309	540
16	Tiski	1990	721	3104	551	351	171	765	238	372	625
17	Tiski	1910	700	3150	499	362	119	665	231	344	590
18	Tiski	2210	725	3205	560	357	144	490	236	350	605
19	Bzou	2230	805	3312	590	420	214	525	273	388	625
20	Bzou	2300	900	3456	730	390	301	645	276	312	560
21	Bzou	2190	720	3277	512	461	138	515	287	364	625
22	Bzou	2210	825	3320	565	405	189	640	271	390	665
23	Bzou	2080	807	3205	595	436	205	546	299	385	645
24	Bzou	2200	847	3668	633	427	239	706	282	437	685
25	Bzou	2230	646	3373	459	338	113	591	243	334	560

ANNEXE III
MATRICE DE L’AFC DES ESPECES PHLEBOTOMIENNES

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1		Béni Mellal	Afourer	Tanant	Tiski	Bzou	Foum Jamaa	Zaouiat Cheikh	El Kbab
2	P. papatas	0,07950	0,20671	0,00398	0,08348	0,05963	0,17888	0,00398	0,00000
3	P. sergent	0,06360	0,21863	0,02385	0,26236	0,18286	0,41342	0,05168	0,00028
4	P. alexand	0,00000	0,01193	0,00000	0,01590	0,01988	0,01988	0,00000	0,00004
5	P. pernicio	0,16298	0,22261	0,01193	0,68372	0,03578	0,21863	0,15106	0,01137
6	P. longicu	0,38956	0,24646	0,00795	0,47304	0,03180	0,03975	0,34981	0,00688
7	P. langero	0,01590	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00398	0,00000
8	P. mariae	0,00398	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
9	S. dreyfus	0,07950	0,13913	0,01193	0,02783	0,05963	0,01590	0,00000	0,00004
10	S. fallax	0,27826	0,20273	0,04770	0,04770	0,05963	0,64795	0,02385	0,00000
11	S. minuta	0,37764	0,28621	0,02385	0,05168	0,07950	0,21863	0,05963	0,00175
12	S. antenn	0,00795	0,00000	0,00000	0,00000	0,00398	0,00000	0,00000	0,00000
13									
14									

ANNEXE IV

MATRICE D'ANALYSE DE PROCUSTE GENERALISEE

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI	
2	Afovere	1811	1825	1702	2065	1600	2195	1501	2206	1421	2203	1382	2088	1374	1962	1378	1858	1443	1624	1620	1854	1756	1621	1748	1778	1828	1237	1848	1268	1891	1252	1934	1223	1449	104	
3	Afovere	1388	1751	1352	2102	1198	2291	1393	2226	1409	2298	1630	2242	1622	2266	1741	2022	1634	1892	1708	1734	1673	1609	1462	1763	1821	1395	1778	1317	1760	1200	1728	1221	1634	106	
4	Afovere	1454	1649	1372	1885	1372	2042	1413	2166	1469	2245	1600	2168	1703	2065	1842	1885	1930	1729	1835	1635	1637	1707	1446	1676	1611	1938	1227	1895	1225	1693	1195	1898	1131	1934	98
5	Afovere	1464	1637	1395	1948	1404	2091	1443	2179	1494	2221	1634	2184	1866	2103	1774	1950	1839	1736	1735	1644	1636	1653	1636	1704	1804	1261	1777	1270	1756	1249	1737	1167	1811	101	104
6	Afovere	1790	1692	1677	1825	1930	2100	1477	2076	1411	2062	1347	1992	1337	1928	1342	1632	1376	1478	1900	1426	1745	1425	1727	1629	1802	1076	1639	1107	1666	1093	1901	1848	1313	67	
7	Afovere	1501	1581	1427	1846	1430	1897	1464	2120	1533	2160	1635	2128	1749	2009	1846	1916	1966	1888	1838	1661	1712	1427	1698	1686	1695	1159	1909	1167	1901	1139	1884	1059	2012	86	
8	Afovere	1361	1697	1323	1980	1337	2028	1376	2131	1442	2175	1621	2122	1636	2009	1700	1836	1770	1761	1727	1637	1674	1458	1456	1642	1759	1159	1727	1163	1719	1144	1683	1036	1743	94	
9	Afovere	1340	1647	1309	1947	1340	2036	1493	2160	1493	2109	1693	2121	1859	2003	1743	1847	1790	1708	1858	1617	1624	1416	1416	1634	1672	1093	1642	1102	1623	1664	1811	1027	1762	6	
10	Afovere	1302	1607	1263	1873	1273	2029	1333	2121	1396	2177	1619	2110	1602	2003	1691	1880	1778	1867	1844	1669	1610	1406	1401	1671	1703	1095	1668	1109	1642	1686	1604	1020	1731	79	
11	Afovere	1402	1604	1332	1940	1347	2016	1393	2117	1445	2181	1657	2117	1860	2010	1778	1864	1974	1832	1758	1662	1645	1388	1607	1659	1699	1066	1625	1077	1616	1634	1608	966	1908	80	
12	Afovere	1683	1734	1791	1988	1676	2111	1676	2177	1453	2201	1436	2095	1400	1934	1997	1779	1422	1646	1622	1456	1737	1404	1600	1647	1768	1076	1604	1102	1635	1100	1913	1071	1539	64	
13	Afovere	1427	1681	1378	1913	1398	2026	1450	2131	1507	2172	1618	2121	1712	2009	1793	1832	1898	1737	1746	1629	1622	1446	1616	1633	1801	1143	1775	1161	1782	1132	1716	1086	814	93	
14	Tiski	1103	1720	1062	1973	1085	2124	1136	2205	1195	2266	1234	2198	1386	2085	1464	1957	1636	1810	1405	1692	1303	1600	1202	1672	1494	1173	1471	1189	1451	1163	1437	1126	1051	97	
15	Tiski	1601	1940	1443	2116	1214	2217	1203	2254	1113	2254	1092	2137	1131	1995	1801	1639	1277	1696	1495	1607	1638	1624	1649	1627	1690	1007	1700	1242	1745	1240	1011	1230	1054	117	
16	Tiski	1430	1649	1398	1797	1439	1973	1482	2050	1672	2100	1660	2022	1473	1900	1914	1785	1859	1634	1730	1426	1600	1345	1618	1619	1752	1004	1724	1019	1711	989	1636	959	1760	76	
17	Tiski	1024	1689	1001	1931	1049	2097	1094	2168	1168	2202	1257	2131	1338	2018	1404	1893	1469	1700	1320	1616	1203	1442	1111	1635	1356	1075	1333	1098	1317	1096	1278	1038	1349	83	
18	Tiski	1574	1737	1442	1951	1242	2067	1245	2162	1167	2110	1120	2095	1113	1828	1134	1650	1168	1493	1431	1381	1655	1394	1640	1634	1099	1643	1035	1678	1023	1722	1020	1763	89		
19	Tiski	1176	1658	1131	1795	1190	1841	1191	2028	1241	2078	1339	2022	1444	1907	1627	1788	1603	1619	1474	1324	1374	1382	1268	1618	1656	1052	1627	1172	1613	1041	1479	999	1656	82	
20	Tiski	1104	1695	1058	1926	1091	1970	1144	2078	1205	2129	1298	2052	1386	1948	1463	1633	1634	1372	1440	1274	1391	1185	1657	1446	1692	1427	1002	1418	1262	1400	964	1454	829		
21	Tiski	1022	1426	971	1713	993	1855	1043	1951	1100	2016	1208	1946	1268	1635	1390	1637	1472	1627	1584	1265	1245	1184	1122	1178	1437	857	1403	864	1204	631	1043	913	1424	65	
22	Tiski	1819	1679	1702	1941	1683	1955	1495	2011	1403	2025	1598	1892	1361	1743	1368	1682	1399	1469	1643	1290	1778	1305	1759	1646	1623	936	1641	985	1676	992	1901	935	1840	76	
23	Tiski	1095	1403	1211	1643	1213	1800	1238	1992	1282	1971	1400	1926	1609	1848	1639	1702	1785	1633	1686	1286	1690	1189	1424	1355	1696	883	1636	896	1616	884	1785	826	1626	63	
24	Tiski	1432	1610	1455	1901	1496	2032	1654	2165	1629	2239	1737	2168	1840	2040	1949	1671	2024	1658	1634	1382	1744	1300	1614	1627	1644	965	1910	972	1637	937	1629	905	1639	67	
25	Tiski	1460	1652	1400	1905	1423	2071	1464	2180	1630	2231	1632	2182	1743	2075	1850	1930	1939	1749	1807	1641	1630	1418	1652	1619	1910	1094	1094	1098	1116	1638	1106	1763	1046	1914	86
26	Tiski	1431	1650	1381	1990	1416	2091	1456	2167	1526	2223	1617	2159	1786	2052	1809	1901	1885	1761	1782	1465	1698	1373	1645	1695	1690	1105	1656	1117	1638	1098	1824	1055	1899	87	
27	Tiski	1274	1620	1186	1766	1208	1947	1246	2023	1289	2076	1404	2001	1606	1827	1616	1796	1714	1849	1645	1259	1633	1268	1388	1461	1765	994	1731	1010	1712	963	1657	942	1780	77	
28	Tiski	1797	1733	1706	1982	1608	2166	1658	2177	1432	2202	1372	2089	1336	1826	1334	1746	1653	1667	1471	1726	1444	1735	1660	1730	1694	1754	1133	1738	1124	1859	1101	1695	91		
29	Tiski	1834	1670	1788	1960	1678	2090	1600	2147	1600	2180	1444	2078	1422	1918	1423	1722	1667	1470	1679	1411	1628	1395	1628	1611	1816	1090	1037	1126	1677	1107	1827	1095	1653	89	
30	Bzou	1450	1641	1380	1753	1396	1977	1437	2077	1503	2166	1632	2100	1764	1977	1871	1636	1692	1646	1626	1441	1717	1267	1659	1434	1604	1036	1663	1042	1648	1033	1611	933	1696	76	
31	Bzou	1353	1632	1189	1896	1424	2104	1237	2168	1347	2113	1462	2148	1665	2033	1680	1694	1736	1714	1651	1653	1489	1392	1397	1616	1693	1049	1695	1096	1636	1036	1696	1066	1686	79	
32	Bzou	1218	1724	1188	1997	1231	2168	1285	2245	1349	2305	1454	2241	1663	2117	1700	1909	1735	1686	1676	1659	1435	1441	1330	1652	1612	1101	1690	1109	1661	1032	1674	1012	1634	821	81
33	Bzou	1370	1619	1260	1976	1249	2038	1269	2142	1319	2210	1458	2184	1686	2085	1671	1909	1809	1934	1622	1660	1698	1395	1610	1674	1699	1090	1065	1102	1646	1067	1698	1006	2059	94	
34	Bzou	1422	1619	1359	1945	1388	2029	1463	2153	1470	2191	1693	2166	1694	2039	1807	1678	1895	1649	1672	1651	1653	1409	1633	1671	1697	1041	1691	1046	1640	1006	1626	976			

ANNEXE V

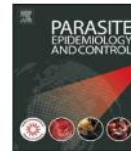
THIRTY YEARS OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN TADLA-AZILAL FOCUS, MOROCCO (PUBLICATION)

Parasite Epidemiology and Control 3 (2019) e00091



Contents lists available at ScienceDirect

Parasite Epidemiology and Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/parepi

Thirty years of cutaneous leishmaniasis in Tadla-Azilal focus, Morocco

Abou-Elaaz Fatima-zahra^{a,b}, Outourakht Aboubakre^a, Bouhout Souad^c,
Himmi Oumnia^b, Guernaoui Souad^{a,*}

^a Laboratory of Biotechnology and Valorisation of Plant Genetic Resources, Faculty of Sciences and Techniques, University of Sultane Moulay Slimane, Beni Mellal, Morocco

^b Geophysics, Natural Patrimony and Green Chemistry Research Center (GEO PAC), Geo-Biodiversity and Natural Patrimony Laboratory (GEOBIOL), Scientific Institute, Mohammed V University, Rabat, Morocco

^c Directorate of Epidemiology and Disease Control, Ministry of Health, Rabat, Morocco

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 October 2018

Received in revised form 20 December 2018

Accepted 30 January 2019

Keywords:

Cutaneous leishmaniasis

Age structure

Space-time distribution

Altitude

Tadla-Azilal

Morocco

ABSTRACT

Cutaneous leishmaniasis (CL) due to *Leishmania tropica* is a major health problem in Tadla-Azilal focus, Morocco, where the first case was registered, here, in one locality named Tanant in 1987. So far, CL remains endemic and largely widespread. The objective of this study was to analyze the current eco-epidemiological situation after thirty years of active transmission. Data used are the official ones, obtained from the Moroccan Ministry of Health.

Between 1998 and 2015, 5518 CL cases were registered in three provinces; Azilal, Béni Mellal and Fquih Ben Salah. CL has spread, from the historical focus in Azilal along two axes; one to the Northeastern Mountains and the other to the Northwestern plains.

CL infected both genders and all ages, with large number of women (53%) and children (75% had <9 years old). More interestingly, age range at risk was larger within females than males, and this difference was more pronounced in Fquih Ben Salah where the disease had newly emerged. Similarly, age ranges at risk were larger and fluctuated significantly each year particularly in new emerging areas in Béni Mellal and Fquih Ben Salah. All these variations may testify, at least in part, to the process of acquiring immunity.

Altitude structured CL spatiotemporal distribution. CL was more prevalent in two altitudes ranges; 400–500 m and 800–900 m. The situation and duration of period of diagnostic of CL varied largely according to the altitude. These different scenarios could be related to the seasonal dynamics of vector populations.

© 2019 Published by Elsevier Ltd on behalf of World Federation of Parasitologists. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Leishmaniasis is a parasitic vector-borne disease, caused by the flagellate protozoa of the genus *Leishmania* (Trypanosomatida, Trypanosomatidae) (Reithinger et al., 2007), and transmitted by the bite of an infected female of sandflies (Diptera, Psychodidae) (Khezzani and Bouchemal, 2016).

In Morocco, cutaneous and visceral leishmaniasis are endemic and are classified in the list of compulsory-declared diseases (ministerial order n° 683–95 from March the 3th, 1995). Cutaneous leishmaniasis (CL) is a major public health problem, where 2813 cases were recorded in 2015 (Moroccan Ministry of Health, 2016; Kahime et al., 2016). It's due particularly to *Leishmania tropica* and *L. major* (Moroccan Ministry of Health, 2016). Infections due to a dermatotropic variant of *L. infantum* also have

* Corresponding author at: Faculty of Sciences and Techniques, B.P. 523, Beni Mellal, Morocco.
E-mail address: guernaouisouad@gmail.com. (S. Guernaoui).

<https://doi.org/10.1016/j.parepi.2019.e00091>

2405-6731/© 2019 Published by Elsevier Ltd on behalf of World Federation of Parasitologists. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

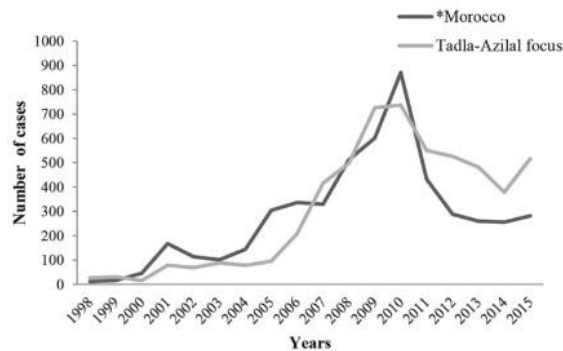


Fig. 1. Cutaneous leishmaniasis in Morocco and in Tadla-Azilal focus between 1998 and 2015. (Data source: Moroccan Ministry of Health, 2016). *Number of cases multiplied by 10^{-1} .

been found (Rioux et al., 1996; Lemrani et al., 1999). CL due to *L. tropica* is transmitted by *Phlebotomus sergenti* (Guilvard et al., 1991; Pratlong et al., 1991). The cycle is considered to be anthroponotic despite the parasite being isolated from dogs (Dereure et al., 1991). In 1989, the first hypo-endemic rural focus of CL due to *L. tropica* was diagnosed in Central Morocco (Marty et al., 1989), where the first case was notified in one locality named Tanant (Azilal province). Other comparable foci were identified in semi-arid areas in Smimou (Pratlong et al., 1991), Taza (Guessous-Idrissil et al., 1997) and Zouagha Moulay Yaacoub

Table 1

Number of CL cases in the three provinces of Azilal, Béni Mellal and Fquih Ben Salah between 2009 and 2015.

Province	Sanitary sectors	Years							Total
		2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
Azilal	Afourer	145	61	44	42	51	51	39	433
	Ait Attab	5	16	11	5	10	32	13	92
	Ait Majden	8	16	1	5	3	0	9	42
	Azilal	5	9	12	3	0	0	0	29
	Bzou	85	90	45	67	90	62	50	489
	Bni Hassane	53	62	26	23	11	0	19	194
	Bin Elouidan	11	8	8	8	2	0	2	39
	Beni Ayyat	35	2	0	0	0	0	0	37
	Demnate	2	8	4	6	1	0	4	25
	Foum jamaa	41	51	33	40	58	69	94	386
	Timouilite	28	21	19	14	1	0	7	90
	Tabia	10	29	17	25	4	0	24	109
	Tiski	20	50	40	21	12	0	35	178
	Taounza	4	7	17	18	9	0	9	64
	Tilouguite	2	0	13	4	4	0	1	24
	Tibihite	3	0	0	10	0	0	0	13
	Ouaouizrt	87	23	19	19	26	28	4	206
	Tanant	33	38	35	31	23	21	26	207
	My Aissa Ben Driss	5	0	1	0	0	0	0	6
	Sidi Ali Ben Brahim	0	4	1	4	4	0	18	31
Tanfarda	0	12	24	6	1	0	3	46	
Tidli	0	28	6	2	6	6	0	48	
Tisilt	0	11	0	5	0	0	0	16	
Béni Mellal	Bouchiba	0	0	10	2	5	0	4	21
	Foum oudi	0	0	14	11	19	0	0	44
	Foum Al-Anser	7	16	9	6	7	1	5	51
	Béni Mellal	13	17	22	9	13	6	10	90
	Fariyata	1	3	1	8	1	3	4	21
	Tagzirt	2	7	3	7	4	8	2	33
	Tanougha	7	11	10	12	13	8	12	73
	Tadla	1	0	0	1	0	0	0	2
Fquih Ben Salah	Zaouiat cheikh	47	19	17	26	43	19	31	202
	Ouled Ayyad	16	5	14	29	40	32	33	169
	Had Boumoussa	0	1	1	0	0	6	4	12
Total		676	625	477	469	461	352	462	3522



Fig. 2. Map of Tadla-Azilal region showing the different provinces with CL cases.

(Rhajaoui et al., 2004). Since then, CL was epidemic in Chichaoua (Guernaoui et al., 2005), and recently in Sidi Kacem (El Miri et al., 2016).

After the first case diagnostic in Tadla-Azilal region, CL still, after 30 years, considered as a major health problem. 3916 CL cases registered between 2009 and 2015 according to the data base of the Direction of Epidemiology and the Disease Control, Rabat, Morocco.

The objective of this paper is to analyze the current epidemiological situation after thirty years of active transmission, to extract the main factors that manage the spatio-temporal distribution of the disease and also to interpret the CL spread in this large focus and in neighboring regions.

2. Materials and methods

2.1. Study area

Tadla-Azilal is situated in Central Morocco, between 32.0043 N and 6.5783 W, over an area of 17,125 km² (Fig. 2). Administratively, this region is divided into three provinces; Azilal, Béni Mellal and Fquih Ben Salah and 16 municipalities; 9 from urban and 7 from rural areas (Fig. 2). The total population from this region was about 1,516,200 people in 2012 representing 4.65% of total population in Morocco (High Commission for Planning Morocco, 2013). Agriculture is the most important activity, followed by tourism and trade.

Tadla-Azilal region has a high ecological and climatic diversity due to its location between the two important Moroccan mountains ranges: the High and the Middle Atlas. The climate varied from semi-arid to humid. The averages annual temperature show significant differences; they vary between a maximum of 40 °C in Béni Mellal province and a minimum of 2 °C in Azilal province. The average rainfall is 100 mm in arid zones and 600 mm in wetlands. The vegetation is principally forestier, occupies a 396,743 ha area. The pins, juniper, holm oak and thuya are the main natural forest species (Taïbia et al., 2015).

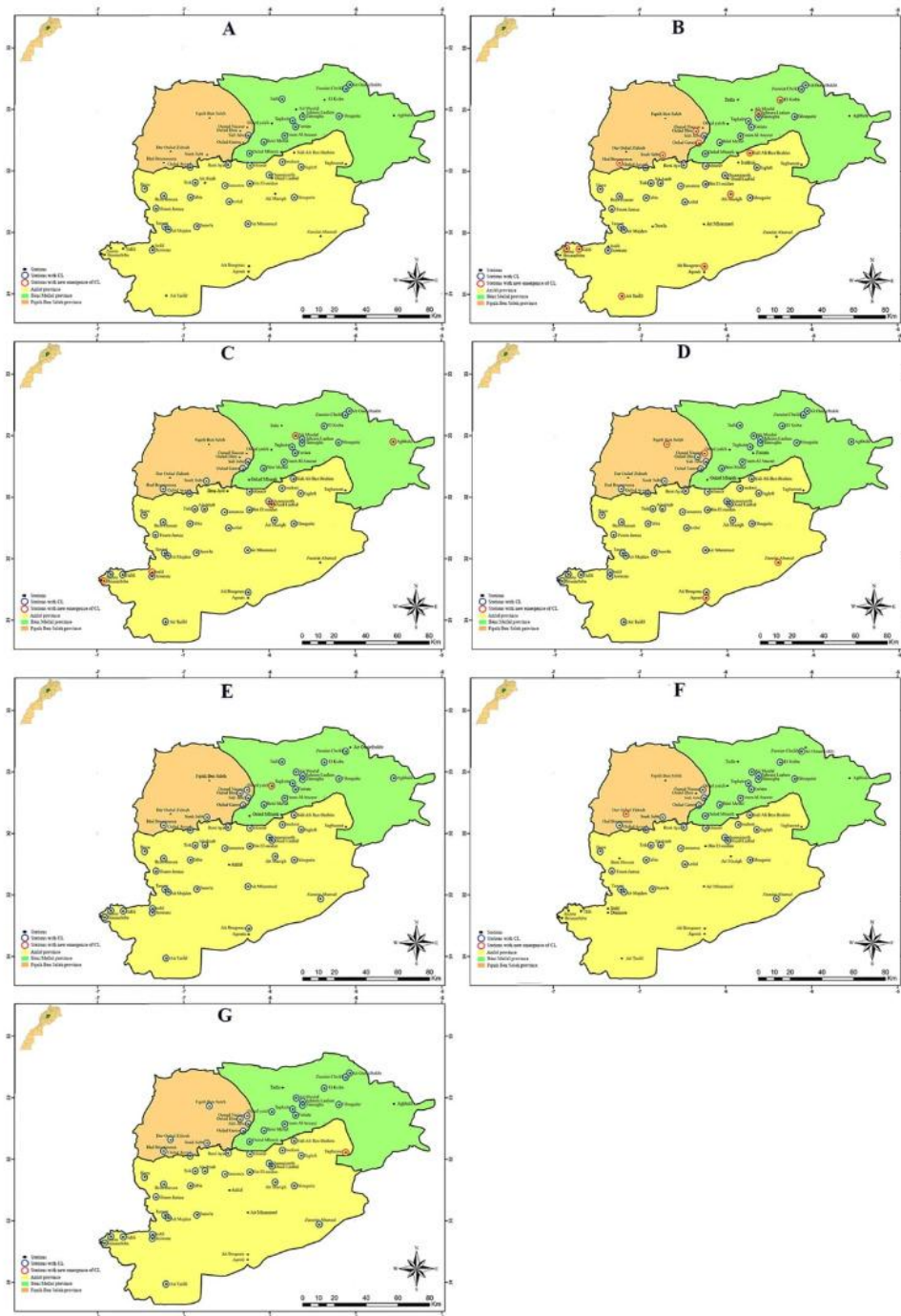


Fig. 3. Spatio-temporal dynamics of CL cases in Tadla-Azilal from 2009 to 2015.

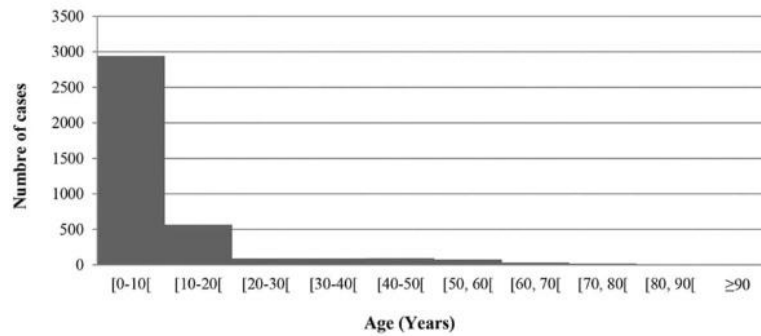


Fig. 4. CL patient's ages in Tadla-Azilal focus from 2009 to 2015.

2.2. Data collection

Data presented here are the official ones, obtained from the Moroccan Ministry of Health (MMH), Direction of Epidemiology and the Disease Control, Rabat, Morocco. CL patients were diagnosed clinically, and the diagnostic was confirmed by officials in hospitals and health services in Tadla-Azilal region.

As the obligation to declare the disease was effective in Morocco from 1998, the information available, from 1998 to 2008, included only the number of CL cases in each region. From 2009, the patient file was more detailed; and contained information about sex, age, time of diagnostic (year and month) and geographical location (province, sanitary sector and locality).

2.3. Data analysis and mapping

Data were entered in a Microsoft Excel 2010 file. The χ^2 test was used for comparison of categorical variables. For all test, the significance level was 0.05. The Student *t*-test used to compare between the mean numbers of CL cases in different altitude ranges. Box plots were prepared and the correlation report was calculated for comparing age structure in different provinces for both sexes and also for each year.

We studied the spatio-temporal dynamics of CL (dissemination of *Leishmania* parasite) by mapping the distribution of cases, each year, in the different provinces, using ArcGIS software (ArcGIS 10.2.2).

3. Results and discussions

In this large focus, The ITS1 PCR-RFLP was used and identified *L. tropica*: from patients in Foug Jamâa, and from *P. sergenti* in Azilal (Arroub et al., 2013; Ajaoud et al., 2015).

According to data registered by the Direction of Epidemiology and the Disease Control, Rabat, Morocco, between 1998 and 2015, 5518 cases of CL were registered in Tadla-Azilal focus, corresponding to 10.89% of total cases in Morocco (Fig. 1). In general, for this same period, the annual evolution of number of CL cases in Tadla-Azilal focus, is proportionally correlated with than in Morocco (Fig. 1). During the first 12 years (1998, 2010), the number of CL cases increased significantly, and passed from 26 in 1998 to 737 in 2010. A significant decrease was registered between 2011 and 2014. The CL number passed from 550 to 379, and in 2015, we observed that CL progresses again. The difference being statistically significant ($\chi^2 = 856.82$).

3.1. Evolution of spatio-temporal distribution of CL

Table 1 shows the most important sanitary sectors with CL from 2009 to 2015 in Tadla-Azilal focus. Results demonstrated the large spatial distribution of the disease. In this region, according to administrative subdivision, CL is registered in three provinces; Azilal, Béni Mellal and Fquih Ben Salah. The latest situation registered in 2015 declared the presence of CL in 25 sectors and 210 localities.

Diversity of epidemiological profiles is shown in Fig. 3. Furthermore, in 2009 (Fig. 3A), CL was registered in Azilal province. Here, the disease was largely widespread, concerned 32 sanitary sectors and 195 localities (703 cases). Epidemiological situation was stable. Moreover, the disease is well installed in this area where the transmission is assured for 30 years. Moreover, the first case of CL due to *L. tropica* recorded was registered here, precisely in Tanant in 1987 (Marty et al., 1989).

In 2009 (Fig. 3A), CL emerged for the first time in Béni Mellal province. Here, the disease is specifically registered in mountainous areas from Béni Mellal city to Zaouiat Cheikh (716 m a.s.l.).

The propagation still continuous and in 2010 (Fig. 3B), from Azilal region to Northwestern localities in Fquih Ben Salah province (Had Boumoussa, Souk Sebt, Oulad Ganou and Oulad Illou) and to Southeastern mountainous localities (Tidili, Anzou, Ait Mazigh, Ait Tanlil and Ait Bougumez).

The situation stills stable in 2011 and in 2012, in three provinces of the region (Fig. 3B). CL propagation remained continuous in the two precedent axes, with the emergence of the disease in the urban area of Fquih Ben Salah city, and in some High-mountains region at Zaouiat Ahansal (1629 m), Aghbala (1715 m) and Agouti (1810 m) (Fig. 3C, D).

The period between 2013 and 2014 marked a phase of regression with a net and significant decrease ($\chi^2 = 10.08$) in the number of CL cases. The presence of the disease in endemic areas was remarkable in 36 sectors in 2013 and 20 sectors in 2014; notably in Bzou, Tanant, Afourer, Foug Jamaa and Ait Attab (Fig. 3E, F).

In 2015 (Fig. 3G), CL started again and recolonized the former endemic areas with a clear increase in the number of cases (512 cases).

Considering the space-time dynamic of CL in this large focus, our data are analyzed comparing the situation in Azilal province, where the disease is present since 1987, in Béni Mellal and in Fquih Ben Salah provinces, where CL emerged recently, in 2009 and 2011, respectively (Fig. 3, Table 1).

3.2. Evolution of age structure of both genders according the time and space

In general, in Tadla-Azilal focus, both genders are concerned by CL; females were more affected (53% of total cases). The overall male: female ratio was 0.9, and each year, this difference was statistically significant ($\chi^2 = 7.58$, p-value < 0.05).

This result is in agreement with those reported in others Moroccan foci, notably in Taza (Guessous-Idrissil et al., 1997), Taounat (Chiheb et al., 1999), Chichaoua (Guernaoui, 2006), Al Haouz (Ramaoui et al., 2008), Sidi Kacem (El Miri et al., 2016), and other countries as in Southern Iran (Khosravani et al., 2016). In contrary, in other studies, males have a higher probability to be affected by CL in general than females like in the Islamic Republic of Iran and in Algeria (Shirzadi et al., 2015; Khezzani and Bouchemal, 2016).

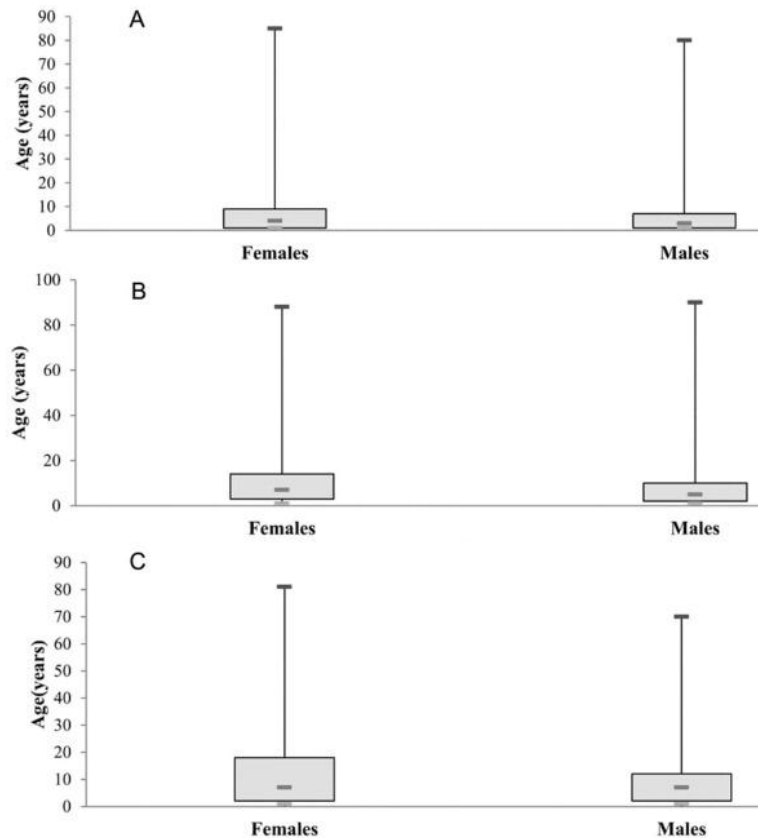


Fig. 5. Box plots of age within males and females in Azilal (A), Béni Mellal (B), and Fquih Ben Salah (C) provinces from 2009 to 2015.

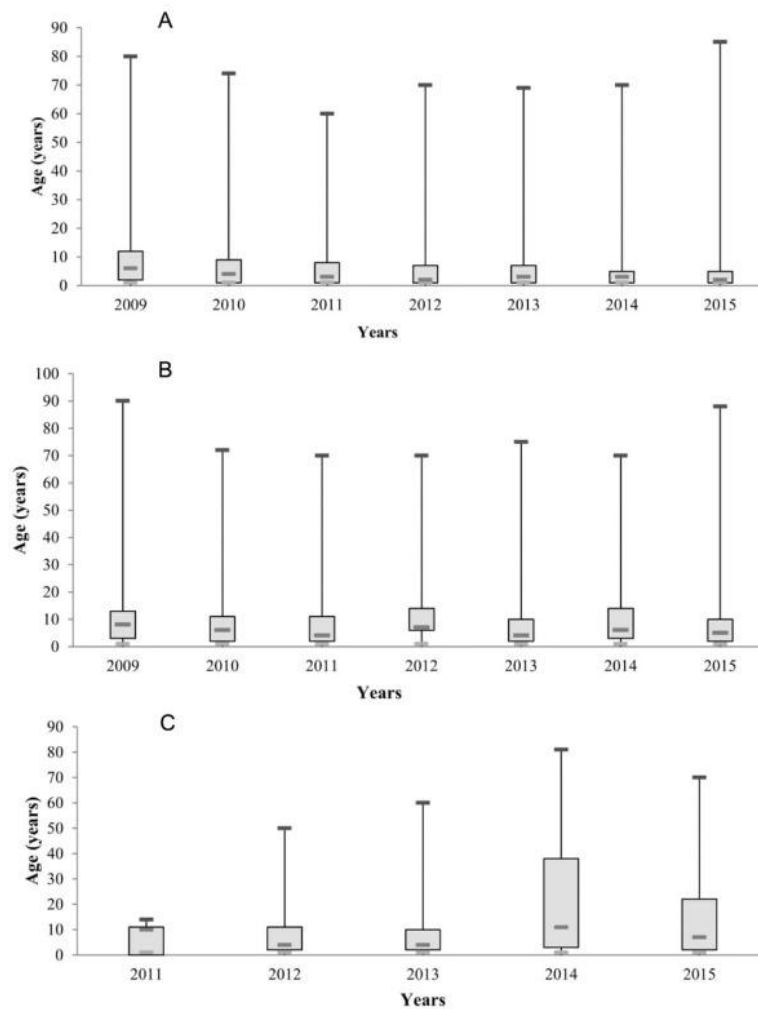


Fig. 6. Box plots of age according to the year in Azilal (A), Béni Mellal (B), and Fquih Ben Salah (C) provinces from 2009 to 2015.

The number of cases by age group is shown in Fig. 4. Patient's age ranged from 1 to 90 years old. Mean \pm Standard deviation and median ages were 51.58 ± 23.71 and 4 years, respectively. 75% of CL cases have <9 years old, demonstrating that children are the most important population at risk in this focus. The same result was registered in Chichaoua and in Al Haouz Moroccan foci (Guernaoui, 2006; Ramaoui et al., 2008) and was explained by the peri-domiciliar ability of *P. sergenti* to transmit *Leishmania*. In Spain, 56% and 30% of cases were children <5 years or <14 years respectively in Granada and in Toledo (Alcalde et al., 1989; Urrutia et al., 2000). The high percentage of children could be explained by immune system immaturity and their sensitivity to infection (Özkeklikçi et al., 2016; Shirzadi et al., 2015).

More interestingly, CL infected both genders and all age groups, with large number of women and children. The age structure was different according to the gender (Fig. 5). Age range at risk was larger within females than males, and this difference was more pronounced in Fquih Ben Salah province where the disease had newly emerged. Indeed, the correlation report between gender and age was 0.15, 0.17, and 0.23 in Azilal, Béni Mellal and Fquih Ben Salah provinces, respectively.

Similarly, data analysis (Fig. 6) showed that the age range at risk varied significantly each year. In Azilal, the range of ages affected was relatively the same. In Béni Mellal and Fquih Ben Salah where CL had newly emerged, age ranges were larger and

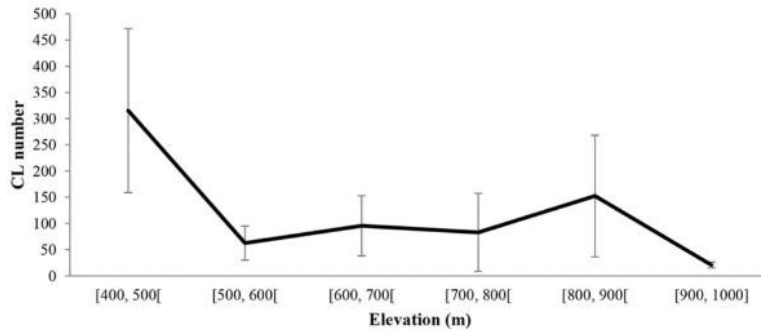


Fig. 7. Mean annual number of CL cases (\pm SD) in different altitude ranges in Tadla-Azilal focus from 2009 to 2015.

fluctuated significantly. The correlation report between age and year was 0.28 in Azilal, 0.41 in Béni Mellal and 0.39 in Fquih Ben Salah.

The variation of age range decreased after each year in Azilal province, and it could be due to acquisition of the system immune since the disease is old in this province. Furthermore, in Béni Mellal and Fquih Ben Salah provinces, the large variation of age range could be due to the recent installation of CL in these areas.

3.3. Altitude and spatio-temporal distribution of CL in Tadla-Azilal focus

In this large focus, the relief showed being an important ecological factor. Furthermore, Azilal province, the historical focus of *L. tropica* in Morocco, is situated in High-Atlas Mountains. While in Béni Mellal (507 m) - Zaouiat Cheikh (716 m) placed in Atlas of Béni Mellal, this latter marked the transition between the High-Atlas and Middle-Atlas Mountains in Morocco (Fig. 2).

Two zones were highly prevalent for CL (Fig. 7). The first one, situated between 400 and 500 m a.s.l., and where the maximum mean number of CL was reported (315.33 ± 156.07). The second one, with altitudes varying from 800 to 900 m a.s.l. Here, an average of 152.40 ± 116.11 was registered. CL was also recorded from stations between 500 and 800 m a.s.l., with CL mean number varying from 62.80 to 95.75 cases (Fig. 7). The difference was statistically significant between altitude from 400 to 500 m a.s.l. and from 800 to 900 m a.s.l. ($t = 0.036$).

In the same manner, altitude seemed influencing the period of diagnostic of CL in this focus (Fig. 8). This period was long, 9 to 10 months, in localities with altitudes ranging from 500 to 800 m a.s.l., notably in Tiski, Zaouiat Cheikh, and Foum Jamaa. Here, the cases started to appear in October and this continued until June–July (Fig. 8).

On the other hand, this period was relatively short, earlier from December to Mai-June (6 month) as in Bzou (429 m) and Afourer (491 m), and later, from February to June each year (5 month), as in Tanant (885 m) and Ouauizerth (861 m) (Fig. 8).

These different scenarios must, at least in part, be related to the seasonal dynamics of vector populations in these regions. Moreover, in the High-Atlas Mountains, Morocco, the spatial distribution and seasonal activity of vectors are structured according to altitude (Guernaoui et al., 2006). The question of the existence of other vectors than *P. sergenti* must also be tested.

Sectors	Elevation (m)	Month											
		D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Bzou	429												
Afourer	491												
Tabia	559												
Tiski	677												
Zaouiat Cheikh	716												
Ait Attab	796												
Foum Jamaa	813												
Tanant	885												
Ouauizerth	861												

— Period of diagnostic; — Maximum of CL cases; - - Min of number of CL; - - Absence of diagnostic

Fig. 8. Months of diagnostic of CL patients in different altitudes in Tadla-Azilal focus from 2009 to 2015.

4. Conclusion

Tadla-Azilal region, after 30 years of CL active transmission, still a divers and complex focus. The current situation shows that the problem persists and increases. The disease spreads in space along two axes; one to the Northeastern Mountains and the other to the Northwestern plains areas. Various CL distribution models, in time and in space, are structured by the altitudinal zones. And this makes the control very difficult in practice. Serious studies of vector populations should be undertaken for better programming CL control in this focus and for limiting its spread in neighboring areas.

References

- Ajaoud, M., Es-Sette, N., Charrel, R.N., Laamrani-Idrissi, A., Nhammi, H., Riyad, M., Lemrani, M., 2015. *Phlebotomus sergenti* in a cutaneous leishmaniasis focus in Azilal province (High Atlas, Morocco): molecular detection and genotyping of *Leishmania tropica*, and feeding behavior. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9, 1–17.
- Alcalde, M., Morillas, F., Delgado, V., Naranjo, R., 1989. Leishmaniasis cutánea en Granada: características clínicas. *Actas Dermosifiliogr.* 80, 267–272.
- Arroub, H., Hamdi, S., Ajaoud, M., Habbari, K., Lemrani, M., 2013. Epidemiologic study and molecular detection of *Leishmania* and sand fly species responsible of cutaneous leishmaniasis in Fom Jamâa (Azilal, Atlas of Morocco). *Acta Trop.* 127, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.03.005>.
- Chiheb, S., Guessous-Idrissi, N., Hamdani, A., Riyad, M., Hamdani, S., Krimech, A., 1999. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica*: clinical features in a new focus in northern Morocco. *Ann. Dermatol. Venereol.* 126, 419–422.
- Dereure, J., Rioux, J.A., Gallego, M., Perieres, J., Pratlong, F., Mahjour, J., Saddiki, A., 1991. *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85, 595. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(91\)90356-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(91)90356-4).
- El Miri, H., Faraj, C., Himmi, O., Hmamouch, A., Maniar, S., Laaroussi, T., Rhajaoui, M., Sebti, F., Benhoussa, A., 2016. Cutaneous leishmaniasis in Ouazzane and Sidi Kacem provinces, Morocco (1997–2012). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 109, 376–380. <https://doi.org/10.1007/s13149-016-0522-1>.
- Guernaoui, S., 2006. Les leishmanioses dans les zones arides et semi-arides du sud-ouest marocain. Ecologie, épidémiologie, modélisation et aide à la décision pour la lutte antivectorielle. (Thèse de Doctorat). Cadi Ayyad University, Faculty of Sciences, Semlalia, Marrakech (166p.).
- Guernaoui, S., Boumezzough, A., Pesson, B., Pichon, C., 2005. Entomological investigations in Chichaoua: an emerging epidemic focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *J. Med. Entomol.* 42, 697–701. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2005\)042\[0697:EIICAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2005)042[0697:EIICAE]2.0.CO;2).
- Guernaoui, S., Boumezzough, A., Laamrani, A., 2006. Altitudinal structuring of sand flies (Diptera: Psychodidae) in the High-Atlas mountains (Morocco) and its relation to the risk of leishmaniasis transmission. *Acta Trop.* 97, 346–351. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2006.01.001>.
- Guessous-Idrissi, N., Chiheb, S., Hamdani, A., Riyad, M., Bichichi, M., Hamdani, S., Krimech, A., 1997. Cutaneous leishmaniasis: an emerging epidemic focus of *Leishmania tropica* in North Morocco. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 91, 660–663. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(97\)90511-3](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(97)90511-3).
- Guilvard, E., Rioux, J.A., Gallego, M., Pratlong, F., Mahjour, J., Martinez-Ortega, E., Dereure, J., Saddiki, A., Martini, A., 1991. *Leishmania tropica* au Maroc III-Rôle de *Phlebotomus sergenti*. A propos de 89 isolats. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 66, 96–99. <https://doi.org/10.1051/parasite/199166396>.
- High Commission for Planning Morocco, 2013. Regional direction of Tadla-Azilal. Monographie régionale (130p.).
- Kahime, K., Boussa, S., Laamrani-El Idrissi, A., Nhammi, H., Boumezzough, A., 2016. Epidemiological study on acute cutaneous leishmaniasis in Morocco. *J. Acute Dis.* 5, 41–45. <https://doi.org/10.1016/j.joad.2015.08.004>.
- Khezani, B., Bouchemal, S., 2016. Demographic and spatio-temporal distribution of cutaneous leishmaniasis in the Souf Oasis (Eastern South of Algeria): results of 13 years. *Acta Trop.* 166, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.11.012>.
- Khosravani, M., Nasiri, Z., Keshavarz, D., Rafat-Panaah, A., 2016. Epidemiological trend of cutaneous leishmaniasis in two endemic focus of disease, South of Iran. *J. Parasit. Dis.* 40, 1609–1613. <https://doi.org/10.1007/s12639-015-0740-7>.
- Lemrani, M., Nejjar, N., Benslimane, A., 1999. A new focus of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in northern Morocco. *Giorn. It. Med. Trop.* 4, 3–4.
- Marty, P., Le Fichoux, Y., Pratlong, F., Rioux, J.A., Rostain, G., Lacour, J.P., 1989. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a young Moroccan child observed in Nice, France. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 83, 510. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(89\)90268-X](https://doi.org/10.1016/0035-9203(89)90268-X).
- Moroccan Ministry of Health, 2016. Santé en chiffre. Direction de la planification et des ressources financière. Division de la planification et des études, Service des études et de l'information sanitaire (168p.).
- Özkeklikçi, A., Karakuş, M., Özbel, Y., Töz, S., 2016. The new situation of cutaneous leishmaniasis after Syrian Civil War in Gaziantep City, Southeastern Region of Turkey. *Acta Trop.* 166, 35–38. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.10.019>.
- Pratlong, F., Rioux, J.A., Dereure, J., Mahjour, J., Gallego, M., Guilvard, E., Lanotte, G., Perieres, J., Martini, A., Saddiki, A., 1991. *Leishmania tropica* au Maroc. IV-Diversité isozymique intrafocale. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 66, 100–104. <https://doi.org/10.1051/parasite/1991663100>.
- Ramaoui, K., Guernaoui, S., Boumezzough, A., 2008. Entomological and epidemiological study of a new focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Parasitol. Res.* 103, 859–863. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1068-3>.
- Reithinger, R., Dujardin, J.C., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B., Brooker, S., 2007. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect. Dis.* 7, 581–596. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70209-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70209-8).
- Rhajaoui, M., Fellah, H., Pratlong, F., Dedet, J.P., Lyagoubi, M., 2004. Leishmaniasis due to *Leishmania tropica* MON-102 in a new Moroccan focus. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98, 299–301. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(03\)00071-3](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(03)00071-3).
- Rioux, J.A., Mahjour, J., Gallego, M., Dereure, J., Périères, J., Laamrani, A., Riera, C., Saddiki, A., Mouki, B., 1996. Leishmaniose cutanée humaine à *Leishmania infantum* MON-24 au Maroc. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* 14, 179–183.
- Shirzadi, M.R., Esfahania, S.B., Mohebalia, M., Ershadia, M.R.Y., Gharachorlo, F., Rzaavia, M.R., Postigo, J.A.R., 2015. Epidemiological status of leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran, 1983–2012. *East Mediterr. Health J.* 21, 736–742. <https://doi.org/10.26719/2015.21.10.736>.
- Taïbia, N., El Khalki, Y., El Hannani, M., Giffon, S., Haouach, M., Arab, C., Ballouche, A., 2015. Atlas régional région du Tadla-Azilal Maroc. Université d'Angers (51p.).
- Urrutia, S., García, C., Schoendorff, C., Sáez, A., Olivares, M., García Almagro, D., 2000. Leishmaniasis cutánea en la provincia de Toledo. Estudio de 43 pacientes. *Actas Dermosifiliogr.* 91, 1–8.

ANNEXE VI

**DESCRIPTIVE AND GEOMETRIC MORPHOMETRY OF THE WINGS OF *PHLEBOTOMUS SERGENTI*
POPULATIONS IN CENTRAL MOROCCO
(PUBLICATION)**

J Arthropod-Borne Dis, Mar 2023, 17(1):

FZ Abou-Elaaz et al.: Descriptive and ...

Original Article

**Descriptive and Geometric Morphometry of the Wings of *Phlebotomus sergenti*
Populations in Central Morocco**

Fatima-Zahra Abou-Elaaz¹, *Denis Sereno², Oumnia Himmi¹, Mohamed Ghamizi³, *Souad Guernaoui⁴

¹Geophysics, Natural Patrimony and Green Chemistry Research Centre (GEOPAC), Geo-Biodiversity and Natural Patrimony Laboratory (GEOBIOL), Scientific Institute, Mohammed V University in Rabat, Morocco

²InterTryp, Parasite Infectiology and Public Health Research Group, MiVegec, IRD, Montpellier University, Montpellier, France

³Water, Biodiversity and Climate Change Laboratory, FSSM, Museum of Natural History of Marrakesh, Cadi Ayyad University, Marrakesh, Morocco

⁴Biotechnology, Conservation and Valorisation of Natural Resources laboratory, Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco

*Corresponding authors: Prof Souad Guernaoui, E-mail: souad.guernaoui@usmba.ac.ma; Dr Denis Sereno, E-mail: denis.sereno@ird.fr

(Received 27 Sep 2022; accepted 14 Feb 2023)

Abstract

Background: *Phlebotomus sergenti*, the proven vector of *Leishmania tropica*, the causative agent of anthroponotic cutaneous leishmaniasis, is widely distributed in Morocco. Previous works using molecular markers (Internal Transcribed Spacer 2 rDNA and Cytochrome B mtDNA) hypothesized the existence of multiple closely related populations of sand fly species (cryptic species) that would exhibit distinct vectorial capacities. This work studies morphotypic diversity using traditional and geometric morphometry analyses carried out on *Ph. sergenti*'s wings from central Morocco, where active *L. tropica* transmission occurs for 30 years.

Methods: Descriptive characteristics (size and shape) of the right wings were measured in *Ph. sergenti*'s specimens collected from fourteen stations in central Morocco. Both traditional and geometric morphometry methods were used to analyse geographic variations in *Ph. sergenti* wing's size and shape.

Results: These analyses support the existence of distinct *Ph. sergenti* populations, enlightening significant phenotypic variations of *Ph. sergenti*'s wings, regarding their size and shape, depending on geographic origin. In addition, traditional and geometric morphometric analyses of the wing's length, centroid size, β , ϵ , and γ distances allowed clear discrimination of *Ph. sergenti* sub-populations.

Conclusion: These data pinpoint the adaptative ability of *Ph. sergenti* to local environmental conditions. Additional studies are now required to further shed light on the genetic structure of *Ph. sergenti* populations in Morocco.

Keywords: *Phlebotomus sergenti*; Wing Traditional Morphometry; Wing Geometric Morphometry; Morocco

Introduction

Sand flies (Diptera, Psychodidae) are vectors of human pathogenic micro-organisms, including parasites of the genus *Leishmania*, bacteria (*Bartonella bacilliformis*), and various arboviruses belonging to the genera *Phlebovirus* and *Vesiculovirus* (1-3). They represent, therefore, a public health scourge. In Morocco, the phlebotomine

fauna encompasses 24 species. Six species are proven, or suspected vectors involved in visceral or cutaneous leishmaniases (4).

Variability in genetic, biochemical, morphometric, or reproductive features between allopatric populations of the subfamily Phlebotominae are frequent and probably favored by their large

geographic distribution and the limited dispersal capacity of populations with reproductive activity near their breeding site (5). These would lead to speciation processes not detectable with dichotomic keys (6). *Phlebotomus sergenti*, Parrot, 1917, is a proven *Leishmania tropica*, vector, the causative agent of anthroponotic cutaneous leishmaniasis (ACL) (1, 7-9). *Phlebotomus sergenti* is distributed from the southern to the western Mediterranean basins. It is replaced in the northeast of this region by *Ph. similis* Perfiliev, 1963 (10). Its distribution extends eastward into Iran, the former USSR, Pakistan, and India. Such geographic distribution vastly exceeds that of *L. tropica* (10). The genetic diversity of *Ph. sergenti* investigated with Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) rDNA and/or Cytochrome B (Cyt b) mtDNA lightened the possibility of closely related sand fly species (cryptic species) that may have distinct vectorial capacities (11-15). *Phlebotomus sergenti* is widely distributed throughout Morocco, with a preference for semi-arid habitats (16, 17). In ACL foci, *Ph. sergenti* is closely associated with the human habitat and involves a domestic and peridomestic transmission of *L. tropica* (17, 18). The analysis of the population's genetic structure of *Ph. sergenti* from Moroccan foci of Taza, Azilal, and Essaouira, using Cyt b mtDNA, disclosed the presence of three mitochondrial lineages with a striking genetic diversity in the Azilal focus (12).

Geometric morphometry (GM) has been applied to analyze morphological variations of insect wings (19). It has a taxonomic value for specimens belonging to puzzling morphological taxa (20) and highlights Spatio-temporal dynamics of some *Phlebotomus* populations; *Ph. tobbi* Adler and Theodor 1930, *Ph. papatasi* (Scopoli, 1786), *Ph. ariasi* Tonnoir 1921 and *Ph. sergenti* (21-25). In this work, traditional and geometric morphometry analyses were carried out on *Ph. sergenti*'s wings from central Morocco, where active *L. tropica* transmission occurs for 30 years (26).

Materials and Methods

Study area

The studied area locates in central Morocco (Fig. 1), where cutaneous leishmaniasis (CL) are widespread (26); the first CL case due to *L. tropica* was reported in 1986 in Azilal (27). The environment is diverse, with altitudes varying from 491m to 1650m above sea level. It encompasses the Tadla plain, the phosphate plateau, and the High and Middle Atlas Mountains (Fig. 1, Table 1).

The climate is continental, with a wet season (November to March) and a dry season (April to October). The annual average temperature is 18 °C but ranges from 2 °C to 40 °C. The temperatures recorded during the capture period are given in Table 1. Precipitation varies from 100mm to 1200mm. Béni Mellal-Khénifra region endow the natural forest of holm oak (*Quercus rotundifolia*), junipers (*Juniperus phoenicea*), thuja (*Tetraclinis articulata*), pines (*Pinus halepensis*, *Pinus pinaster*), cedar (*Cedrus atlantica*), poplar (*Populus nigra*), and carob tree (*Ceratonia siliqua*). This region also has agricultural activity; cereals, olives, citrus fruits, sugar beets, grenadines, almonds, apples, carobs, sesame, and vegetables (28).

Sandflies sampling and identification

Sampling was carried out using sticky paper traps placed in domestic, peridomestic, and wild biotopes in fourteen stations between May and October 2017. Traps were left in the field for a single night to avoid the deterioration of wings. In the laboratory, each specimen was dissected under a binocular. We first separated the wing for each male, and then the head and genitalia were dissected and mounted in Canada balsam. Next, we identified specimens by examining the morphology of the external genitalia. Identification was performed using published keys and descriptions (10, 29).

Wings preparation

Well-preserved wings of specimens identified as *Ph. sergenti* were prepared following the described protocol (30), with modifications by reducing the incubation time to 10min in 5% KOH, in Methylene Blue to 10min. This is sufficient to visualize veins and ribs without damaging the wings. After treatment, wings are mounted in Canada balsam on marked slides and photographed with a digital camera (Leica microsystem CH) connected to a microscope (Leica) in the Museum of Natural History of Marrakech Cadi Ayyad University, Morocco.

Measurements

Measures were carried out using the Gryphax 12.0 software (Jenoptik) (31). In addition, pictures were processed with tps-UTIL 32 version 1.74 and tps-Dig 2 version 2.30 software (32). We considered the 17 landmarks already used in previous studies of other sand fly species (21, 22). These landmarks are located at the wing veins' intersections with their margin and the crossroads of the transverse veins with the prominent veins, as depicted in Fig. 2. The size of *Ph. sergenti* wings is given by measures of length (5-17), width (1-9), and centroid size (CS) (Fig. 2). The CS is defined by the square root of the sum of the squared distances between the centre of the configuration of landmarks and each landmark. It was extracted from each matrix using MorphoJ 1.07a version 1.8.0_251 software (33).

The analysis of the wing shape is based on the coordinates of the 17 landmarks and seven distances α (2-12), β (12-11), δ (1-11), ϵ (3-12), θ (4-11), π (10-11) and γ (11-14) (5, 25).

Data analysis

Traditional Morphometry

Traditional morphometry aims to describe the wing's morphology and delineate quantitative morphological characteristics that allow discrimination of *Ph. sergenti* subpopulations. Firstly, we performed a descriptive analysis of the length, width, CS, and seven distances.

Then, the mean, standard deviation, median, mode, and variation ratio were calculated. Next, the normality and variance homogeneity assumptions were analysed for each variable using normalized plots. Secondly, for each character, the Student t-test was used to compute the significance of the differences at a significance level of 0.05. Finally, the link between each measure (size, shape) (quantitative variable) and station (qualitative variable) was examined by estimating the correlation ratio (r) that is used for allometric analysis to test the link between the wing's shape and size (CS, length, width). Univariate and bivariate statistical analyses were performed using Microsoft Excel 10.

In addition, a typology of wing morphs (size, shape) according to the geographical origin was made using canonical analysis, carried out with the STATISTICA software (34).

Geometric morphometry

The geometric morphometric analysis allows the visualization and comparison of the geometric configurations of *Ph. sergenti* wings. First, Ward's method (35) is used to construct the hierarchical classification dendrograms for wing size and shape, using Past 3.23 software (36). Then, the *Ph. sergenti* wing geometric configurations were investigated using a Generalized Procrustes Analysis (GPA) (37). After GPA, shape variables were measured and analyzed by the principal component of the "relative warps" scores calculated using the Past 3.23 software (36).

Results

This study used descriptive and geometric morphometry analyses of *Ph. sergenti* wings. It investigates the size and shape of a set of stations from central Morocco differing in their ecological characteristics. Ninety-two wings of *Ph. sergenti* were collected in 14 stations in central Morocco (Table 1).

Wing size and shape

As described in the Material and methods section, the wing's size measured is presented in Supplementary data Table 3. Overall, in males, the length of the right wings is $2137.01 \pm 124.05 \mu\text{m}$, the width is $738.17 \pm 69.78 \mu\text{m}$, and the CS is $3236.79 \pm 160.66 \mu\text{m}$.

The shape of *Ph. sergenti* wings is characterized by seven distances: α , β , δ , ϵ , θ , π , and γ (Supplementary data Table 4). The wing shape varies mainly in the β (12-11), θ (4-11), and γ (11-14) distances. All measurements are log-normally distributed.

Allometric analysis was performed to assess the link between wing size and shape by estimating the correlation coefficient. As a result, a positive correlation is recorded particularly between, on the one hand, the 3 distances θ , α , and β , and on the other hand, the size parameters, mainly the CS and the width, as shown in Table 2.

Wings variability analysis

To investigate the spatial variations of *Ph. sergenti*'s wing parameters from stations where the *Ph. sergenti* density is low, we gathered samples from stations 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 13, and 14 into the label "other stations" as shown in (Figs. 3 and 4).

The size of the right wing shows significant differences linked to their geographic origin (Fig. 3), as demonstrated by the correlation ratios computed between the origin and the length, width, or CS (0.68 and 0.56 and 0.74, respectively).

Similarly, the seven distances characterizing the wing shape showed differences according to the stations (Fig. 4), with β , θ , and γ as the most variable distances. The correlation ratios between the collection site and the distances α , β , δ , ϵ , θ , π and γ are 0.39, 0.49, 0.37, 0.39, 0.55, 0.31 and 0.46, respectively.

Wings of *Ph. sergenti* of Afourer exhibit peculiar characteristics, as shown in Figs. 3 and 4. Differences were noticed, especially for the CS, β , and θ distances. Furthermore, the CS in

Afourer is significantly different from all other stations, even the neighbouring ones. The student t-test are; Bzou ($t = -10,626$), Foum Jamaa ($t = -23,531$), Tiski ($t = -4,281$), Ksiba ($t = -10,747$).

As for results from the descriptive analysis, canonical analyses of the size and shape of *Ph. sergenti* wings, illustrated in figure 5, point to substantial variation according to the wings' geographical origin (sampling site). Canonical analysis of the size (Fig. 5A) discloses that the plane (1-2) explains 92.57% of the total inertia (canonical variate 1: 76.43% and canonical variate 2: 16.14%). These results indicate that the wing size differs from station to station. First, specimens from Afourer and Tiski are grouped on the right of the canonical analysis, followed by those from Bzou, Foum Jamaa, and the other stations (stations 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 13, and 14). For the wing shape, the projection in the plane (1-2) explains 63.06% of the total inertia (canonical variate 1: 43.23% and canonical variate 2: 19.83%) (Fig. 5B). As for the parameter of wing size, the canonical analysis reveals gradual variations according to the stations.

The hierarchical single-link classification trees for the measured parameters of size (Fig. 6A) and wing shape (Fig. 6B) demonstrate a clustering according to the geographic origin, which again reinforces the results of the canonical analysis. But, again, and particularly for wing size, two groups stand out; the populations of Afourer and Tiski with smaller wings according to measured parameters vary from those of Foum Jamaa, Bzou, or the other stations.

Likewise, the mean configurations of the wing shapes vary according to the geographical origin, with marked differences in the position of landmarks 2, 9, 10, and 11, as presented in Fig. 7.

Table 1. Stations sampled for *Phlebotomus sergenti* in central Morocco during the period May–October 2017

Stations	N°	Longitude (W)	Latitude (N)	Altitude (m)	Temperature (°C) Mean (Min-Max)	Urbanization	CL cases** (2009 to 2015)	Specimens number
Afourer	1	06°30'00''	32°13'00''	491	26 (18-34)	Urban	433	13
Ait Imloul	2	06°38'18''	32°11'00''	1118	*	Rural	*	6
Aguelmouss	3	05°50'35''	33°09'30''	1217	*	Rural	*	2
Béni Ayyat	4	06°34'01''	32°12'31''	535	*	Rural	37	1
Béni Mellal	5	06°22'32''	32°20'32''	507	27 (23-31)	Urban	90	2
Bzou	6	07°03'18''	32°05'09''	429	26.5 (19-34)	Rural	489	11
El Kbab	7	05°31'01''	32°44'27''	1198	*	Rural	*	1
El Ksiba	8	06°01'58''	32°33'54''	1003	*	Urban	5	8
Foum Jamaa	9	06°59'26''	31°37'54''	813	24.5 (17-32)	Rural	386	21
Tagzirt	10	06°12'01''	32°26'08''	594	*	Rural	33	3
Tiski	11	06°46'12''	32°06'44''	677	25.5 (18-33)	Rural	178	16
Zaouiat Cheikh	12	05°55'01''	32°38'38''	798	*	Urban	202	1
Zaouiat Ahansal	13	06°06'15''	31°49'59''	1629	*	Rural	2	3
Benssarou	14	06°09'42''	32°21'16''	1650	*	Rural	*	4

*Lack of data.

**(26)

CL: Cutaneous leishmaniasis

Table 2. Correlation coefficient (r) between *Phlebotomus sergenti* wing's parameters (shape and size) during the period May–October 2017

Shape	Size		
	CS	Length	Width
θ	0.69	0.54	0.70
α	0.55	0.32	0.66
β	0.47	0.30	0.48
ε	0.34	0.26	0.28
π	0.32	0.14	0.27
δ	0.26	0.08	0.29
γ	0.08	0.19	0.0007

Table 3. Morphometry of *Phlebotomus sergenti* male's right-wing collected in the study region in central Morocco during the period May–October 2017

Numerical parameters	Length	Width	Centroid size
Mean±SD (µm)	2137.01±124.05	738.17±69.78	3236.79±160.66
(Min-Max) (µm)	(1880-2340)	(598-935)	(2855-3668)
Mode (µm)	1990.00	700.00;725.00;	3136.00;3149.00;
		740.00	3181.00
Median (µm)	2170.00	725.50	3205.00
Variation ratio (%)	5.80	9.45	4.96

Table 4. Numerical characteristics of the distances α , β , δ , ϵ , θ , π and γ of *Phlebotomus sergenti* male's right-wing collected in central Morocco during the period May–October 2017

Numerical parameters	α	β	δ	ϵ	θ	π	γ
Mean \pm SD (μm)	540.19 \pm 70.91	375.61 \pm 86.86	173.84 \pm 54.86	367.30 \pm 60.60	604.79 \pm 44.55	260.5 \pm 37.65	621.92 \pm 104.47
(Min-Max) (μm)	(399-782)	(230-835)	(108-502)	(255-787)	(510-690)	(200-488)	(385-984)
Mode (μm)	510.00; 525.00	420.00	118.0;144.0; 161.0;171.0; 182.0; 203.0	320.00; 350.00	560.00; 600.00	243.00	515.00; 560.00; 610.00
Median (μm)	530.00	359.00	168.0	360.00	605.00	253.00	610.00
Variation ratio (%)	13.13	23.12	31.55	16.50	7.36	14.45	16.80

**Fig. 1.** Location of the sampling area for *Phlebotomus sergenti* populations in central Morocco (Source Google Earth)

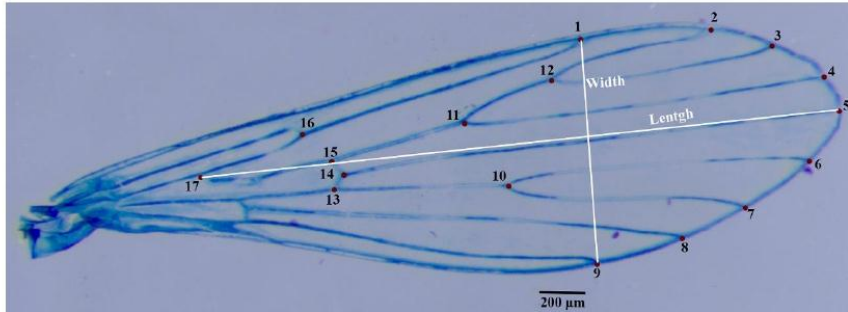


Fig. 2. Location of the 17 landmarks used in this study on the right-wing of *Phlebotomus sergenti*

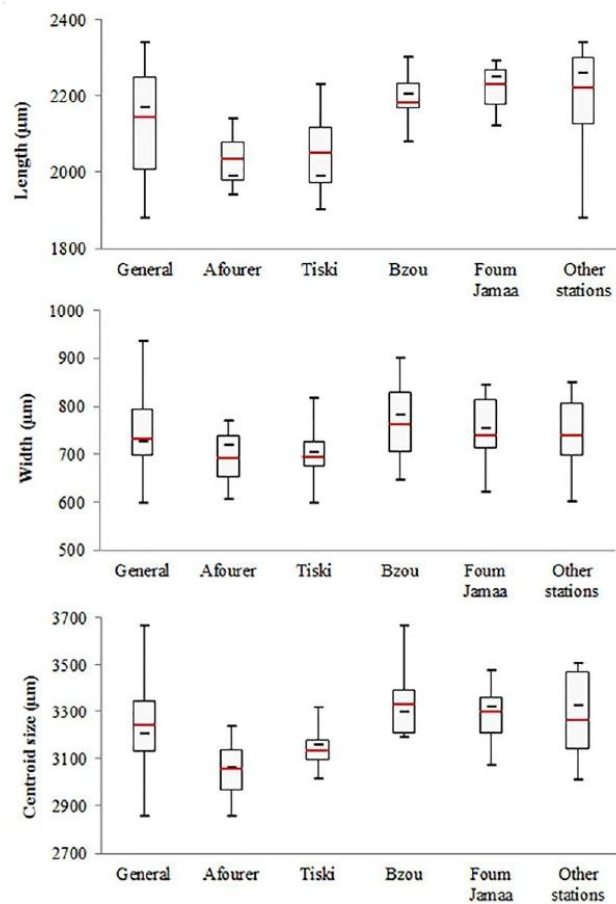


Fig. 3. Boxplots of the lengths, widths, and centroid sizes of *Phlebotomus sergenti* male's right wings in the various station of central Morocco during the period May–October 2017

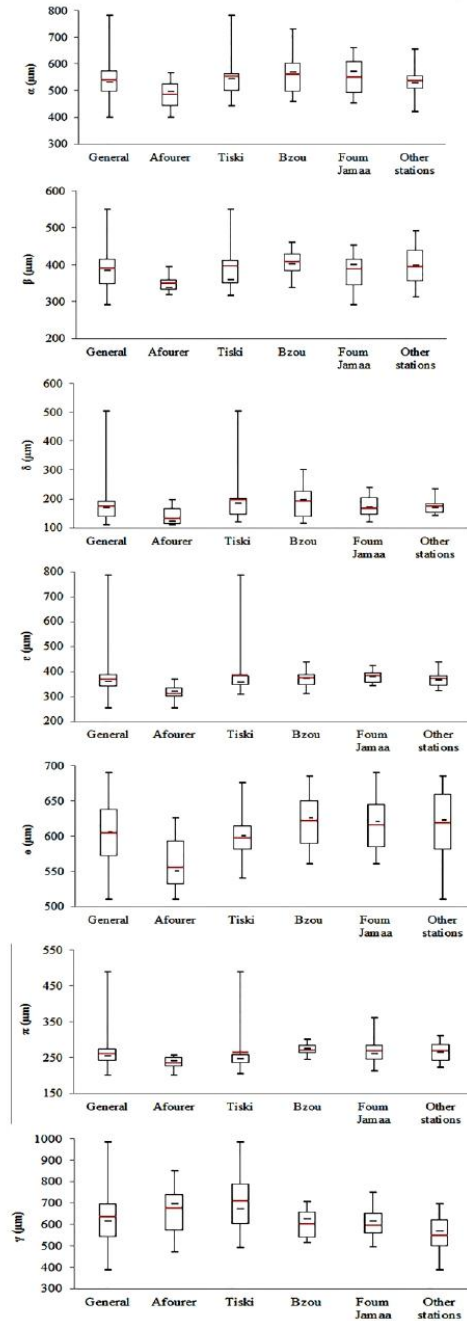


Fig. 4. Boxplots representation of the distances α , β , δ , ϵ , θ , π , and γ of the right wings of *Phlebotomus sergenti*'s males in each station of central Morocco during the period May–October 2017

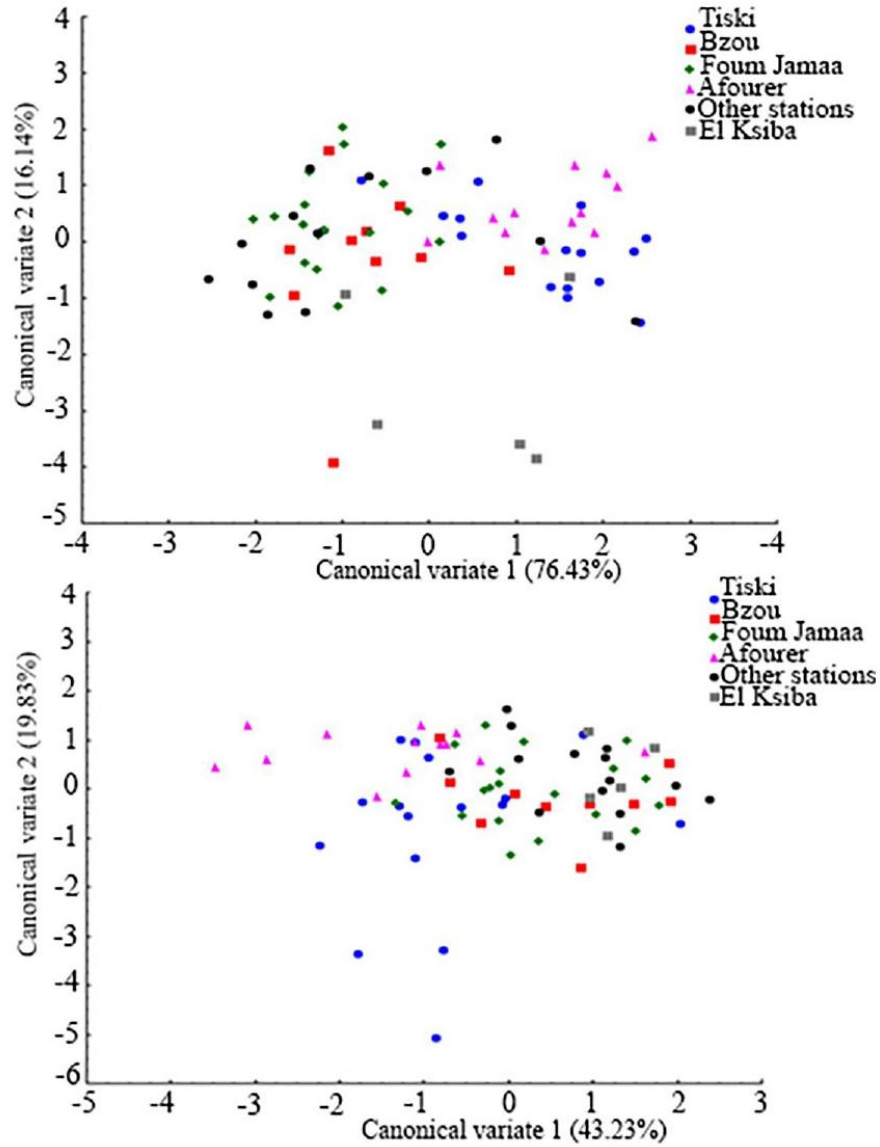


Fig. 5. Canonical analysis of the size variations (A) (92.57% of the total inertia) and the shape (B) (63.06% of the total inertia) of *Phlebotomus sergenti*'s male right wings depending on the geographical origin of central Morocco during the period May–October 2017

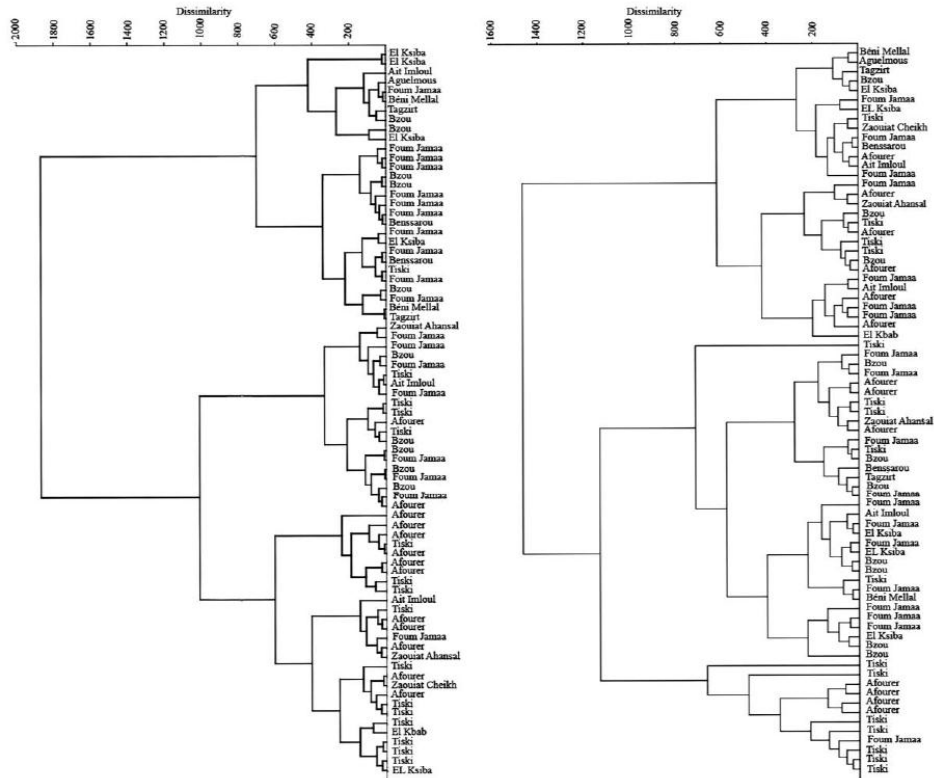


Fig. 6. Hierarchical classifications tree of *Phlebotomus sergenti* right-wings size (A) and shape (B) of central Morocco

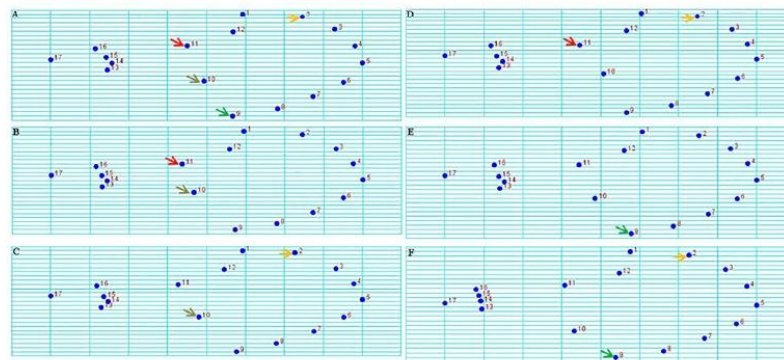


Fig. 7. Superposition of the right-wing landmarks (mean measures) of *Phlebotomus sergenti* males from Afourer (A), Tiski (B), El Ksiba (C), Bzou (D), Fom Jamaa (E), and other stations (F). (Arrows of a given color show variations in the position of a given landmark) of central Morocco during the period May–October 2017

Discussion

Phlebotomus sergenti is a proven and primary vector of *L. tropica* in Saudi Arabia, Morocco, Iran and Israel (1, 7–9, 38). Previous studies have considered *Ph. sergenti* a species complex regarding the tremendous genetic diversity recorded over its distribution (11–13, 39). On the other hand, the cross-mating study showed that there is no reproductive barrier between *Ph. sergenti* from different geographical areas (24), and no statistically important differences were found in wing morphology for all local populations of *Ph. sergenti*, suggesting that the barriers are not sufficient to stop gene flow among local populations of sand flies (25). Despite this ambiguous context, no morphotype indicator is currently available to probe *Ph. sergenti* population diversity. Therefore, the wing's geo-morphometric analyses would help shed light on the population's diversity of *Ph. sergenti*. This has been used successfully on several sand fly species, like *Ph. tobbi*, *Ph. papatasi*, or *Ph. ariasi* (21–23, 30), and has provided evidence of the separation of *Ph. papatasi* populations between the southern and northern slopes of the High Atlas Mountains in Morocco (21). This was further delineated via a genetic analysis of these populations (40). Therefore, we applied descriptive and geometric morphometry analyses to probe *Ph. sergenti* populations' diversity in central Morocco for the first time.

The morphometric parameters of *Ph. sergenti*'s wings sampled in central Morocco show significant variability. The size is variable in length, width, and CS. The shape also showed substantial variations, particularly at the distances; β , θ , and γ . In addition, allometric analyses demonstrate a strong link between size and shape variability. A correlation is recorded between CS or wing width on one side and θ , α or β , on the other side.

Descriptive analyses point to a link between *Ph. sergenti* wing's size and shape and the geographical origin. Length, width, CS, and

the seven distances characterizing the wing's shape differ significantly between stations, with correlation ratios higher than 50%. Population from Afouer locality is notably different, with relatively smaller wings. Multivariate analyses further supported these results. Canonical studies reveal, in addition to the variability, the existence of a gradual variation in size and shape (92.57% and 63.06% of the total inertia, respectively). This population's succession in the factorial plan could testify to a cline variation of the measured parameters.

The results of the geometric analyses corroborate those of the descriptive ones. Hierarchical classifications trace the gradual variation and define two types based on the geographic origin; the Fom Jamaa and Bzou types mainly differ from the Afouer and Tiski types. Relatively smaller wings characterize these last two populations. In addition, superimpositions of the average configurations of *Ph. sergenti* male right wings indicate significant variations in landmarks 2, 9, 10, and 11.

Previous works have focused on the relationship with altitude regarding the origin of the variability of sand fly wings in the natural environment. However, altitude is not an ecological factor, but it can express a variety of climatic factors. In this study, we conducted a bi-monthly sampling to integrate variations in connection with climatic factors in central Morocco. In areas where *Ph. sergenti* is abundant, it was active for only two months, July and August, during the dry period. Therefore, no significant temporal variation in wing parameters (size and shape) was recorded, probably due to the short active period.

Wings of *Ph. ariasi* (France), *Ph. papatasi* and *Ph. tobbi* (Turkey) showed variations in response to an altitudinal gradient (22, 23, 30). But, even via an indirect effect, altitude cannot explain the recorded gradual variation in *Ph. sergenti* from central Morocco. The individualized populations of Afouer and Tiski

locate in the same altitudinal zone as Bzou and Fom Jamaa. Furthermore, the altitudinal structuring of sand flies observed in the High Atlas Mountains concerned *Ph. papatasi*, *Ph. ariasi*, and the species of the *Ph. perniciosus* complex (41). The density and distribution of *Ph. sergenti* did not follow any altitudinal gradient (41).

Altitude can also act indirectly through the slope effect. This has been observed in *Ph. papatasi* on the southern and northern slopes of the Moroccan High Atlas (21) and in *Ph. tobbi* (22) and *Ph. ariasi* (23). But this slope effect cannot be involved in the variation we detected in *Ph. sergenti*; the stations compared to Afourer, Bzou, Tiski, and Fom Jamaa are located on the same High Atlas Mountains slope. Moreover, the stations which show *Ph. sergenti* wing variations are located in the same zone of the High Atlas Mountains, at a maximum of 60km apart. Therefore, they are subject to a similar climate, and considering the low dispersal potential of male sand flies, this adds evidence for a microenvironmental adaptation. This phenomenon is also reported in *Ph. ariasi* in the Oiselette massif in the south of France (23).

Furthermore, local habitat adaptation of *Ph. sergenti* populations was observed in the western Moroccan High Atlas Mountains and other *L. tropica* foci. Although *Ph. sergenti* is a widely distributed species, its abundance is linked to a particular microhabitat where shelters are present (areas in basins) and where the dwellings (construction material) are not made of cement (17).

Conclusions

In conclusion, our results underline the diversity of *Ph. sergenti* in Morocco. Descriptive and geometric morphometry analyses are exciting tools for quantifying phenotypic variability in *Ph. sergenti* populations. They also point out the ability of *Ph. sergenti* to adapt to local environmental conditions. The correlation

between the phenotypic differentiation and the genetic structure of *Ph. sergenti* in Morocco must be further investigated.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Natural History Museum, Cadi Ayyad University, Marrakech, for providing us with their equipment to perform the measurements used for the geomorphometry.

Ethical considerations

No ethical issue.

Conflict of interest statement

The authors declare there is no conflict of interests.

References

1. Killick-Kendrick R (1990) Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol.* 4: 1–24.
2. Depaquit J, Grandadam M, Fouque F, Andry PE, Peyrefitte C (2010) Arthropod-borne viruses transmitted by phlebotomine sandflies in Europe: a review. *Euro Surveill.* 15(10): 19507.
3. Akhouni M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D (2016) A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of *Leishmania* parasites and Sandflies. *PLOS Negl Trop Dis.* 10: 1–40.
4. Faraj C, Himmi O (2019) Liste actualisée des Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) du Maroc. *Bull Soc Pathol Exot.* 112: 296–301.
5. Galati EAB, Galvis-Ovallos F, Lawyer P, Léger N, Depaquit J (2017) An illustrated guide for characters and terminology

- used in descriptions of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). Parasite. 24: 1–35.
6. Florin DA, Davies SJ, Olsen C, Lawyer P, Lipnick R, Schultz G, Rowton E, Wilkerson R, Keep L (2011) Morphometric and molecular analyses of the sand fly species *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) collected from seven different geographical areas in the southeastern United States. J Med Entomol. 48: 154–166.
 7. Al-Zahrani MA, Peters W, Evans DA, Chin C, Smith V, Lane RP (1988) *Phlebotomus sergenti* a vector of *Leishmania tropica* in Saudi Arabia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 82: 416.
 8. Guilvard E, Rioux JA, Gallego M, Pralong F, Mahjour J, Martinez-Ortega E, De-reure J, Saddiki A, Martini A (1991) *Leishmania tropica* au Maroc III-Rôle de *Phlebotomus sergenti*. A propos de 89 isolats. Ann Parasitol Hum Comp. 66: 96–99.
 9. Oshaghi MA, Rasolian M, Shirzadi MR, Mohtarami F, Doosti S (2010) First report on isolation of *Leishmania tropica* from sandflies of a classical urban Cutaneous leishmaniasis focus in southern Iran. Exp Parasitol. 126(4): 445–450.
 10. Depaquit J, Ferté H, Léger N (2000) Révision du sous-genre *Paraphlebotomus* (*Phlebotomus*-Phlebotominae-Psychodidae-Diptera). Approches morphologique et moléculaire. Ann Pharm Fr. 58: 333–340.
 11. Depaquit J, Ferté H, Léger N, Lefranc F, Alves-Pires C, Hanafi H, Maroli M, Morillas-Marques F, Rioux JA, 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.
 12. Yahia H, Ready PD, Hamdani A, Testa JM, Guessous-Idrissi N (2004) Regional genetic differentiation of *Phlebotomus sergenti* in three Moroccan foci of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica*. Parasite. 11: 189–199.
 13. Barón S, Martín-Sánchez J, Gallego M, Morales-Yuste M, Boussaa S, Morillas-Márquez F (2008) Intraspecific variability (rDNA ITS and mtDNA Cyt *b*) of *Phlebotomus sergenti* in Spain and Morocco. Acta Trop. 107: 259–267.
 14. Moin-Vaziri V, Depaquit J, Yaghoobi-Ershadi MR, Oshaghi MA, Derakhshandeh-Peykar P, Ferté H, Kaltenbach M, Barges MD, Léger N, Nadim A (2007) Intraspecific variation within *Phlebotomus sergenti* Parrot (1917) (Diptera: Psychodidae) based on mtDNA sequences in Islamic Republic of Iran. Acta Trop. 102(1): 29–37.
 15. Moin-Vaziri V, Oshaghi MA, Yaghoobi-Ershadi MR, Derakhshandeh-Peykar P, Abai MR, Mohtarami F, Zahraei-Ramezani AR, Nadim A (2016) ITS2-rDNA Sequence Variation of *Phlebotomus sergenti* s.l. (Dip: Psychodidae) Populations in Iran. J Arthropod Borne Dis. 10(4): 462–473.
 16. Rioux JA, Rispail P, Lanotte G, Lepart J (1984) Relations Phlébotomes-bioclimats en écologie des leishmanioses. Corollaires épidémiologiques. L'exemple du Maroc. Bull Soc Pathol Exot. 31: 549–557.
 17. Guernaoui S, Boumezzough A (2009) Habitat preferences of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in Southwestern Morocco. J Med Entomol. 46: 1187–1194.
 18. Guernaoui S, Boumezzough A, Pesson B, Pichon G (2005) Entomological investigations in Chichaoua: An emerging epidemic focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. J Med Entomol. 42: 697–670.
 19. Dujardin JP (2008) Morphometrics applied to medical entomology. Infect Genet Evol. 8: 875–890.
 20. Lane R, Ready P (1985) Multivariate discrimination between *Lutzomyia wellcomei*,

- a vector of mucocutaneous leishmaniasis, and *Lu. complexus* (Diptera: Psychodidae). *Ann Trop Med Parasitol.* 79: 469–472.
21. Prudhomme J, Gunay F, Rahola N, Ouanaimi F, Guernaoui S, Boumezzough A, Bañuls AL, Sereno D, Alten B (2012) Wing size and shape variation of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) populations from the south and north slopes of the Atlas Mountains in Morocco. *J Vector Ecol.* 37: 137–147.
 22. Oguz G, Kasap OE, Alten B (2017) Wing morphology variations in a natural population of *Phlebotomus tobbi* Adler and Theodor 1930. *J Vector Ecol.* 42: 223–232.
 23. Prudhomme J, Cassan C, Hide M, Toty C, Rahola N, Vergnes B, Dujardin JP, Alten B, Sereno D, Bañuls AL (2016) Ecology and morphological variations in wings of *Phlebotomus ariasi* (Diptera: Psychodidae) in the region of Roquedur (Gard, France): a geometric morphometrics approach. *Parasit Vectors.* 9: 578.
 24. Dvorak V, Aytakin AM, Alten B, Skarupova S, Votypka J, Volf P. (2006) A comparison of the intraspecific variability of *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917 (Diptera: Psychodidae). *J Vector Ecol.* 31(2): 229–238.
 25. Aytakin AM, Alten B, Caglar SS, Ozbel Y, Kaynas S, Simsek FM, Kasap OE, Belen A (2007) Phenotypic variation among local populations of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in southern Turkey. *J Vector Ecol.* 32(2): 226–234.
 26. Abou-Elaaz FZ, Outourakht A, Bouhout S, Himmi O, Guernaoui S (2019) Thirty years of cutaneous leishmaniasis in Taddla-Azilal focus, Morocco. *Parasite Epidemiol Control.* 4: e00091.
 27. Marty P, Le Fichoux Y, Pratlong F, Rioux JA, Rostain G, Lacour JP (1989) Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a young Moroccan child observed in Nice, France. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 83: 510.
 28. Haut-Commissariat au Plan (2017) Monographie régionale Béni Mellal-Khénifra. Direction régionale Béni Mellal-Khénifra, Morocco.
 29. Ministry of Public Health Morocco (1997) Lutte contre les leishmanioses. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies, Rabat, Morocco.
 30. Belen A, Alten B, Aytakin AM (2004) Altitudinal variation in morphometric and molecular characteristics of *Phlebotomus papatasi* populations. *J Med Entomol.* 18: 431–460.
 31. Jenoptik Optical Systems GmbH (2020) User Manual for JENOPTIK GRYPHAX® software. Goeschwitzer Strasse 25 07745 Jena, Germany, p. 198.
 32. Rohlf FJ, Slice D (1990) Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst Zool.* 39: 40–59.
 33. Klingenberg CP (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol Ecol Resour.* 11: 353–357.
 34. Stat Soft France (2005) STATISTICA (Logiciel d'analyse des données), version 7.1. Available at: www.statsoft.fr.
 35. Ward Jr JH (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J Am Stat Assoc.* 58: 236–244.
 36. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol Electron.* 4: 1–9.
 37. Gower JC (1975) Generalized Procrustes Analysis. *Psychometrika.* 40: 33–51.
 38. Jacobson LR (2003) *Leishmania tropica* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) – a perplexing parasite. *Folia Parasitol.* 50: 241–250.
 39. Dvorak V, Aytakin AM, Alten B, Skarupova S, Votypka J, Volf P (2006) A compari-

- son of the intraspecific variability of *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917 (Diptera: Psychodidae). J Vector Ecol. 31: 229–238.
40. Guernaoui S, Hamarsheh O, Garcia, D, Fontenille D, Sereno D (2020) Population Genetics of *Phlebotomus papatasi* from Endemic and Nonendemic Areas for Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in Morocco, as Revealed by Cytochrome Oxidase Gene Subunit I Sequencing. Microorganisms. 8(7): 1010.
 41. Guernaoui S, Boumezzough A, Laamrani A (2006) Altitudinal structuring of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in the High-Atlas Mountains, Morocco. Acta Trop. 97: 346–351.