

N° d'ordre : 3566

# THESE

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

**Centre de recherche** : Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement (BIOBIO)

**Structure de recherche** : Laboratoire 'Biotechnologie, Ecologie et Génome'

**Discipline** : Ecologie animale

**Spécialité** : Biodiversité, environnement et santé

Présentée et soutenue le 25/12/2021 par :

**Hicham EL MIRI**

**Phlébotomes du Maroc : Etudes entomologique et épidémiologique au niveau de quelques foyers de leishmanioses cutanées au nord du pays.**

## JURY

FEKHAOUI Mohamed	PES, Institut Scientifique, Université Mohammed V, RABAT	Président
GUERNAOUI Souad	PH, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, FES	Rapportrice
ARAHOU Mohamed	PES, Institut Scientifique, Université Mohammed V, RABAT	Rapporteur
BELQAT Boutaïna	PES, Université Abdelmalek Essaâdi, TETOUAN	Examinatrice
HIMMI Oumnia	PES, Institut Scientifique, Université Mohammed V, RABAT	Co-directrice
BENHOUSSA Abdelaziz	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, RABAT	Directeur de Thèse

Année Universitaire : 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



(قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ)  
"سورة البقرة الآية 32"

عن أم سلمة - رضي الله عنها - : (أن رسول الله صلى الله عليه وسلم - كان  
إذا أصبح قال : اللهم إني أسألك **علماً** نافعاً، **ورزقاً** طيباً، **وعملاً** مقبولاً)

(رواه ابن ماجه، وصححه الألباني).



# Je dédie cette thèse



A **Mon cher père, "Haj" EL MIRI Mohammed**. Plus qu'un père, tu as toujours été mon meilleur ami et mon confident. Ta simplicité de vivre, 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. De tous les pères du monde entier, tu es le meilleur. Tu as été et tu seras pour toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta gentillesse et ta disponibilité. Je ferai mon mieux pour rester ta fierté. Puisse Dieu vous procurer bonheur, santé et longue vie.

A **Ma chère maman, EL IBRAHIMI Amina**. Grand symbole d'amour sans fin, votre bonté et votre générosité sans limites. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Pour tous les encouragements et le réconfort qui n'ont cessé de me servir de guide. Puisse Dieu vous accorder sa sainte miséricorde, santé et longue vie.

A **Ma petite femme Rajae et mes petits anges Ayman et Nada**. Pour l'amour que vous m'avez toujours donné, vous encouragement et toute l'aide que vous m'avez apportée durant mes études. Vous avez toujours su être présent quand il le fallait. Pour tout le bonheur que vous m'apportez et l'avenir devant nous. Puisse le Bon Dieu préserver cette unité, cette entente et cette solidarité entre nous. Que le bon Dieu vous accorde santé et longue vie.

A **Mes sœurs (Majda & Rizlane)**, vous égayez ma vie, je vous dédie ce travail pour tous les moments de confidences, de complicité et d'entente qui nous unissent.

A **la mémoire des mes grands-pères et grand-mère**. Vous serez toujours parmi nous. Que Dieu vous accorde sa grâce et sa miséricorde.

A toutes les membres de la famille **EL MIRI & EL IBRAHIMI** avec l'expression de mon profond dévouement et tout mon attachement.

A **touts personne** ayant participé à la lutte contre la leishmaniose au Maroc et dans le Monde entier.

A **tous mes chers amis (es) et collègues** de l'Université Med V, Agdal de Rabat ainsi que mes collègues de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès - Maroc, pour notre précieuse amitié.

Et à **tous ce qui ont m'enseigné au long de ma vie scolaire**.

# Remerciements

**Ce travail n'aurait probablement jamais été mené à terme sans le soutien d'un grand nombre de personnes que je tiens vivement et très sincèrement à remercier.**

Le travail de recherche présenté ici, a été réalisé au sein de laboratoire d'entomologie médicale à l'Institut National d'Hygiène (INH), en collaboration avec le Laboratoire de parasitologie, Institut National d'Hygiène (INH), Rabat, Maroc. Le présent travail a été éprouver sous la direction scientifique et l'encadrement pédagogique de **Mr. BENHOUSSA Abdelaziz** (Enseignant chercheur à la Faculté des Sciences de l'Université Mohammed V Agdal de Rabat, Maroc) et Co-encadrement de **M<sup>me</sup> HIMMI OUMNIA** (Enseignante Chercheur au Laboratoire de Géo-Biodiversité et du Patrimoine Naturel, Institut Scientifique, Université Mohammed V, Rabat), ainsi que l'encadrement de stage de **M<sup>me</sup> FAJAJ Chafika** (Ingénieure en chef au sein du Laboratoire d'Entomologie Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc).

J'adresse mes remerciements et exprimer ma gratitude à mon directeur de thèse **Pr. BENHOUSSA Abdelaziz**, qui m'a fait l'honneur d'avoir accepté de diriger ce travail, sans oublier ses encouragements et ses conseils, merci pour votre gentillesse et vos qualités humaines.

Je voudrais tout d'abord exprimer ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements à **Pr. HIMMI Oumnia**. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements, pour leurs conseils très précieux et ses encouragements, ainsi que la confiance qu'il m'a constamment témoignée. Elle a acceptée aimablement de Co-encadrer ce travail. Elle a toujours été très disponible et ouverte à la discussion, ce qui m'a permis de bénéficier de son grand savoir scientifiques, sans elle ce travail n'aurait pas abouti.

Je souhaite notamment exprimer mes sincères remerciements et toute ma gratitude à **Pr. GUERNAOUI Souad**, Professeur de l'enseignement supérieur de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz de Fès, pour leur soutien infailible et inconditionnel, leur disponibilité et leur bonne humeur. Je vous suis Pr. reconnaissant de m'avoir fait bénéficier durant ce travail de votre grande compétence, de votre rigueur intellectuelle, de votre efficacité et de vos conseils que je n'oublierai jamais.

Je dois une reconnaissance particulière à **M<sup>me</sup> FAJAJ Chafika**, pour son accueil bienveillant et chaleureux au sein du laboratoire. Au cours de ces années, elle a toujours bien veillée à ce que ce travail aboutisse et elle m'a toujours encouragée pour aller plus loin. Je la remercie particulièrement pour sa confiance, sa générosité et sa gentillesse, ce fut très enrichissant de travailler dans son laboratoire et à toute l'équipe du laboratoire de d'Entomologie Médicale de L'INH, pour le temps et la patience que vous m'avez accordés tout au long de ces années. Je vous suis reconnaissante de m'avoir fait bénéficier durant ce travail de votre grande compétence, de votre rigueur intellectuelle, de votre efficacité et de vos conseils.

J'exprime mes vifs remerciements au **M<sup>me</sup> SEBTI Faiza**, membre du laboratoire de parasitologie, de m'avoir réservé un accueil chaleureux et de m'avoir intégré facilement dans son groupe de recherche, pour ses conseils avisés et précieux et pour sa gentillesse et sa disponibilité et a toute l'équipe du laboratoire de parasitologie de L'INH.

Je souhaite notamment remercier grandement **Pr. FEKHAOUI Mohamed**, qui m'a fait l'honneur de lire et d'évaluer mon manuscrit et de participer à mon jury de thèse autant que président. Soyez assurée de mon entière reconnaissance.

Mes sincères remerciements vont aussi au Pr. **ARAHOU Mohamed**, Professeur chercheur à Institut Scientifique de Rabat, pour l'honneur qu'ils m'ont fait pour leurs participations à mon jury de thèse en qualité de rapporteurs de mon travail et pour le temps consacré à la lecture de cette thèse.

Je teins à adresser mes vifs remerciements et à exprimer ma gratitude au Pr. **BELQAT Boutaina**, Professeur Chercheur à l'Université Abdelmalek Essaâdi de Tétouan, Maroc, qui m'a honoré en acceptant, aimablement et malgré leur nombreuse occupation, d'être l'examinatrice de ma thèse.

J'ai le plaisir aussi de remercier chaleureusement, tous mes collègues du Laboratoire d'Entomologie Médicale et de Parasitologie, de INH pour l'aide, la gentillesse sans limite, leur soutien pendant les périodes difficiles et pour les moments agréables que nous avons partagés au laboratoire.

Mes remerciements vont aussi à **Mr. MANIAR Saâd**, Biologiste responsable de l'Observatoire Régional de la Santé de la Région Fès-Meknès, pour son aide et son soutien qu'ils m'ont toujours réservé.

Je remercie toutes celles et tous ceux qui m'ont accompagné et soutenu durant ces années d'études, spécialement **ma petite femme « mon âme sœur »** sans votre appui la réalisation de ce travail n'aurait pas été possible, **mon fils Ayman « mon petit cœur »**, **ma petite fille Nada « ma princesse »**, **mon cher père, "Haj" EL MIRI Mohammed**, **ma chère maman, EL IBRAHIMI Amina et mes sœurs (Majda & Rizlane)**. Vous êtes ma vie, mon oxygène, ma raison de vivre à présent, je ferais tous pour vous, que vous êtes tort ou raison, je serais toujours à votre écoute, je vous supporterai autant que je vous aimerais, maintenant on va partager notre vie, je vous aime pour le restant de ma vie.

Enfin, J'adresse mes vifs remerciements et ma profonde reconnaissance à mon beau-frère **CHRAA MESBAHI Mostafa** et ma belle-soeur **EL AMRANI Soukaina** et mes chers amis **IDRISSI AIDI Mohammed**, **DRIOUCH Hassan**, **BOUALILI Abdellatif**, **BENADI Mohamed** et **EL-OUALI ALI** pour leur soutien, leur disponibilité, leur bonne humeur et surtout pour leur amitié.

Que ceux qui ne sont pas nommés ici, me pardonnent, s'ils ont été oubliés, ce n'est que par l'écrit



# Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide Désoxybibonucléique
<b>BET</b>	Bromure d’Ethidium
<b>BLAST</b>	Basic Local Aligement Search Tool
<b>CS</b>	Centre de Santé
<b>dNTPs</b>	Désoxynucléotide-triphosphate
<b>ddNTPs</b>	Didésoxynucléotide-triphosphate
<b>EDTA</b>	Ethylène Diamine Tétra-acétate Disodique
<b>FST</b>	Faculté des Sciences et Techniques
<b>GPS</b>	Système de Position Globale
<b>IDR</b>	Intradermoréaction
<b>IRD</b>	Institut de Recherche pour le Developpement
<b>INH</b>	Institut National d’Hygiène
<b>IL</b>	Interleukine
<b>ITS2</b>	Internal Transcribed Spacer 2
<b>KOAc</b>	Acétate de Potassium
<b>L</b>	<i>Leishmania</i>
<b>LCM</b>	Leishmaniose Cutano-muqueuse
<b>LC</b>	Leishmaniose Cutanée
<b>LV</b>	Leishmaniose Viscérale
<b>LCA</b>	LC Américaine
<b>LCD</b>	Leishmaniose cutanée diffuse
<b>LCL</b>	Leishmaniose cutanée localisée
<b>LCM</b>	Leishmaniose cutanée-muqueuse
<b>LCS</b>	Leishmaniose cutanée sporadique
<b>LCZ</b>	Leishmaniose cutanée zoonotique
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Biclorure de Magnisium
<b>NNN</b>	Novy-Nicole-McNeal
<b>NaCl</b>	Chlorure de Sodium

<b>NCBI</b>	Centre National de l'Information pour la Biotechnologie
<b>OMS</b>	Organisation Mondial de la Santé
<b>PED</b>	Pays en voie de Développement
<b>PCR</b>	Polymérase Chaine Réaction
<b>rpm</b>	Rotation par minute
<b>SDS</b>	Sodium Dodécyl Sulfate
<b>Tris HCL</b>	Tris Acide Chloridrique
<b>TAE</b>	Tris acide-Acide acétique glacial-EDTA

# Liste des tableaux

Tableau n°	Le titre du tableau	Page
1	Évolution de la classification des Phlébotomes actuels.	4
2	Transmission des leishmanies par les différentes espèces de phlébotomes	16
3	Les réservoirs des leishmanies.	26
4	Provinces et localités retenues pour l'inventaire des phlébotomes dans la région durant la période de l'étude.	32
5	Répartition de la superficie forestière suivant l'espèce d'arbres.	42
6	Zones touchées par les inondations en 2009 (DPA Sidi Kacem, 2009).	43
7	Composition du Master Mix pour l'amplification ITS1.	54
8	Programme du thermocycleur.	54
9	Composition du Mix pour l'analyse de restriction.	56
10	Effectif et abondance relative (%) des phlébotomes capturés durant la période d'étude	61
11	Phlébotomes collectés dans la province de Sidi Kacem, sex-ratio et abondances relative en fonction des méthodes de capture.	92
12	Nombre de phlébotomes capturés à Sidi Kacem, par pièges adhésifs et par site d'étude.	92

# Liste des figures

Figure n°	Le titre de la figure	Page
1	Phlébotomes adultes mâle et femelle.	6
2	Anatomie de la tête et des pièces buccales d'un phlébotome adulte.	6
3	Morphologie d'un phlébotome adulte (Thorax et l'abdomen).	7
4	L'appareil génital d'un phlébotome adulte mâle.	8
5	Spermathèques d'un phlébotome adulte femelle.	8
6	Femelle de <i>Phlebotomus ariasi</i> .	10
7	Cycle de développement de <i>Lutzomyia longipalpis</i> .	10
8	Distribution des principaux genres de phlébotomes.	13
9	Taxonomie de <i>Leishmania</i>	16
10	Amastigotes de leishmanies dans des macrophages.	17
11	Ultrastructure du stade amastigote de <i>Leishmania amazonensis</i> .	17
12	Promastigotes de leishmanies en culture.	18
13	Rosette de promastigotes procycliques en culture.	18
14	Distribution géographique des leishmanioses en 2013.	20
15	Cycle de transmission du parasite <i>Leishmania</i> .	21
16	Répartition géographiques des leishmanioses.	23
17	Répartition géographique des trois espèces de <i>Leishmania</i> impliquées dans la transmission de la LC au Maroc (2003 - 2014).	25
18	Principe des vaccins peptidiques	31
19	Localisations géographiques des provinces de l'étude.	32
20	Carte de la province de Sidi Kacem, montrant les sites de l'étude (Zirara et Aïn Dfali).	33
21	Carte de la province d'Ouezzane, montrant les sites de l'étude.	34
22	Carte de la province de Taounate, montrant le site d'étude, Douar M'rouj.	35
23	Carte de la province de Séfrou, montrant les sites d'étude (Aît Chaïb et Aïchoune).	36
24	Carte de la province de Boulemane, montrant le site d'étude, Douar Bouâassem.	37
25	Carte de la province de Moulay Yakoub, montrant le site d'étude, Douar Ouled Aïd.	38
26	Pièges adhésifs.	48
27	Piège lumineux "type CDC miniature".	49
28	Abondance relative (%) des phlébotomes par province.	60

<b>29</b>	A. Vue générale de génitale du mâle de <i>P. papatasi</i> ; B. Spermathèques femelle de <i>P. papatasi</i> .	<b>65</b>
<b>30</b>	A. Génitalia du mâle de <i>P. sergenti</i> ; B. Spermathèques de la femelle de <i>P. sergenti</i> .	<b>67</b>
<b>31</b>	Valves péniennes de <i>Phlebotomus perniciosus</i> .	<b>71</b>
<b>32</b>	A. Valves péniennes du mâle de <i>P. longicuspis</i> ; B. Les spermathèques de la femelle de <i>P. longicuspis</i> .	<b>73</b>
<b>33</b>	A. Extrémité des valves péniennes de <i>P. longicuspis</i> ; B. Extrémité des soies médianes des coxites de <i>P. longicuspis</i> ; C. Extrémité des valves péniennes de <i>P. perniciosus</i> ; D. Extrémité des soies médianes des coxites de <i>P. perniciosus</i> .	<b>74</b>
<b>34</b>	A. Génitalia du mâle de <i>P. ariasi</i> ; B. Spermathèques de la femelle de <i>P. ariasi</i> .	<b>76</b>
<b>35</b>	A. Style avec soie non caduque de <i>S. minuta</i> mâle ; B. Vue générale de génitalia de <i>S. minuta</i> mâle ; C. Cibarium du femelle de <i>S. minuta</i> ; D. Tête de la femelle de <i>S. minuta</i> .	<b>79</b>
<b>36</b>	Proportion des espèces de phlébotomes capturées par provinces via les pièges adhésifs.	<b>81</b>
<b>37</b>	Pourcentages des espèces capturées dans la province de Sidi Kacem.	<b>82</b>
<b>38</b>	Pourcentages des espèces capturées dans la province d'Ouezzane.	<b>82</b>
<b>39</b>	Pourcentages des espèces capturées dans la province de Taounate.	<b>83</b>
<b>40</b>	Pourcentages des espèces capturées dans la province de Moulay Yakoub.	<b>84</b>
<b>41</b>	Pourcentages des espèces capturées dans la province de Séfrou.	<b>85</b>
<b>42</b>	Pourcentages des espèces capturées dans la province de Boulemane.	<b>86</b>
<b>43</b>	Abondance relative (%) des phlébotomes par province, durant la période d'étude.	<b>86</b>
<b>44</b>	Répartition de phlébotomes capturés, durant la période d'étude.	<b>87</b>
<b>45</b>	Répartition des atteintes cutanées à <i>L. tropica</i> et/ou <i>L. infantum</i> dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2010).	<b>91</b>
<b>46</b>	Evolution de la densité moyenne mensuelle des espèces de phlébotomes capturés dans les six stations d'étude, d'avril à novembre 2010.	<b>93</b>
<b>47</b>	Evolution du nombre total des phlébotomes capturés par localité par pièges adhésifs, d'avril à novembre 2010.	<b>93</b>
<b>48</b>	Evolution du nombre de cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>97</b>
<b>49</b>	Répartition saisonnière/mensuelle des cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>98</b>
<b>50</b>	Répartition du nombre de cas de LC en fonction de l'âge dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>98</b>
<b>51</b>	Distribution du nombre de cas de LC en fonction du sexe dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>99</b>
<b>52</b>	Origine géographique des cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>99</b>
<b>53</b>	Répartition spatio-temporelle des cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>100</b>
<b>54</b>	Distribution des cas de LC en fonction du nombre des lésions dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>101</b>

<b>55</b>	Répartition de la leishmaniose cutanée par emplacement de la lésion dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).	<b>102</b>
<b>56</b>	Résultats de l'analyse RFLP du produit PCR-ITS1 des lames positives des personnes touchées par la LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (2012-2013).	<b>102</b>
<b>57</b>	Résultats de l'analyse RFLP du produit PCR-ITS1 des lames positives des provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (2012-2013).	<b>103</b>

# Sommaire

INTRODUCTION GENERALE.....	1
----------------------------	---

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>I. PHLEBOTOMES.....</b>	<b>3</b>
I.1. Historique.....	3
I.2. Position taxonomique du vecteur.....	3
I.3. Morphologie des phlébotomes .....	6
I.4. Biologie des phlébotomes .....	9
I.5. Importance médicale et vétérinaire des phlébotomes.....	11
I.6. Interactions parasite ( <i>Leishmania</i> )-vecteur.....	12
I.7. Effets de la salive du vecteur chez l'hôte.....	12
I.8. Facteurs influençant la distribution des vecteurs.....	12
I.9. Phlébotomes du maroc .....	13
<b>II. LES LEISHMANIOSES.....</b>	<b>16</b>
II.1. AGENT PATHOGENE DES LEISHMANIOSES.....	16
II.1.1. Historique.....	16
II.1.2. Classification et taxinomie .....	16
II.1.3. Morphologie.....	17
II.1.3.1. Amastigotes.....	17
II.1.3.2. Promastigotes.....	18
II.1.4. Division cellulaire chez les leishmanies .....	18
II.1.5. Différentes formes de leishmaniose .....	19
II.1.5.1. Leishmaniose cutanée .....	19
II.1.5.2. Leishmaniose cutanéomuqueuse .....	19
II.1.5.3. Leishmaniose viscérale.....	19
II.1.5.4. Leishmaniose dermique post-kala-azar.....	20
II.2. EPIDEMIOLOGIE DES LEISHMANIOSES.....	20
II.2.1. Cycle parasitaire.....	20
II.2.2. Transmission.....	21
II.3. REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES LEISHMANIOSES.....	22
II.3.1. Répartition dans le Monde.....	22
II.3.2. Situation au Maroc.....	23
II.4. LES RESERVOIRS.....	25
II.5. DIAGNOSTIC ET PROTECTION CONTRE LES LEISHMANIOSES.....	26
II.5.1. Diagnostic de LC.....	27
II.5.2. Traitements des Leishmanioses.....	28
II.5.3. Contrôle du vecteur et des réservoirs.....	28

# PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE, MATERIELS ET METHODES

<b>I. DONNEES GENERALES SUR LA ZONE D'ETUDE.....</b>	<b>32</b>
I.1. Présentation générale des provinces .....	37
I.1.1. Province de Sidi Kacem .....	33
I.1.2. Province d'Ouezzane .....	34
I.1.3. Province de Taounate .....	35
I.1.4. Province de Séfrou .....	36
I.1.5. Province de Boulemane .....	37
I.1.6. Province de Moulay Yaâkoub .....	37
I.2. Données climatologiques.....	38
I.2.1. Province de Sidi Kacem .....	38
I.2.2. Province d'Ouezzane .....	39
I.2.3. Province de Taounate .....	39
I.2.4. Province de Séfrou .....	39
I.2.5. Province de Boulemane .....	40
I.2.6. Province de Moulay Yaâkoub .....	40
I.3. Végétation.....	40
I.3.1. Province de Sidi Kacem .....	40
I.3.2. Province d'Ouezzane .....	41
I.3.3. Province de Taounate .....	41
I.3.4. Province de Séfrou .....	41
I.3.5. Province de Boulemane .....	41
I.3.6. Province de Moulay Yaâkoub .....	42
I.4. Contexte socio-économique .....	42
I.4.1. Province de Sidi Kacem .....	42
I.1.2. Province d'Ouezzane .....	43
I.4.3. Province de Taounate .....	44
I.4.4. Province de Séfrou .....	44
I.4.5. Province de Boulemane .....	45
I.4.6. Province de Moulay Yaâkoub .....	46
<b>II. METHODOLOGIE DE TRAVAIL.....</b>	<b>46</b>
II.1. Piégeage des phlébotomes .....	46
II.1.1. Sur le terrain .....	47
II.1.2. Au laboratoire .....	50
II.2. Diagnostic moléculaire de la leishmaniose par la méthode RFLP-ITS1 .....	52
II.2.1. Extraction d'ADN.....	52
II.2.2. Amplification par PCR de la région ITS1.....	53
II.2.3. Electrophorèse sur gel d'agarose pour visualiser l'ADN des leishmanies.....	55
II.2.4. La digestion du produit PCR par l'analyse de Restriction Fragment Length Polymorphisme (RFLP) .....	56
<b>III. ANALYSE ET TRAITEMENT DES DONNEES.....</b>	<b>57</b>
III.1. Données entomologiques.....	57
III.1.1. Analyse synchronique.....	57
III.2. Données épidémiologiques.....	58

# RESULTATS ET DISCUSSION

## **Chapitre I : INVENTAIRE GLOBAL DES ESPECES DE PHLEBOTOMES DANS LA ZONE D'ETUDE.**

<b>I. INTROCUCTION .....</b>	<b>59</b>
<b>II. INVENTAIRE FAUNISTIQUE GLOBAL.....</b>	<b>60</b>
II.1. GENRE <i>PHLEBOTOMUS</i> RONDANI ET BERTE, 1840.....	64
II.1.1. Sous-genre <i>Phlebotomus</i> s. s. Rondani et Berté, 1840.....	64
II.1.1.1. <i>Phlebotomus Phlebotomus papatasi</i> (Scopoli, 1786).....	64
II.1.2. Sous-genre <i>Paraphlebotomus</i> Theodor, 1948.....	67
II.1.2.1. <i>Phlebotomus Paraphlebotomus sergenti</i> Parrot, 1917.....	67
II.1.3. Sous-genre <i>Larroussius</i> .....	69
II.1.3.1. <i>Phlebotomus Larroussius perniciosus</i> (Newstead, 1911).....	70
II.1.3.2. <i>Phlebotomus L. longicuspis</i> (NITZULESCU, 1930).....	73
II.1.3.3. <i>Phlebotomus L. ariasi</i> (TONNOIR, 1921).....	76
II.2. GENRE <i>SERGENTOMYIA</i> FRANÇA ET PARROT, 1920.....	78
II.2.1. Sous-genre <i>Sergentomyia</i> Franca & Parrot, 1921.....	78
II.2.1.1. <i>Sergentomyia Sergentomyia minuta</i> parroti Adler et Theodor, 1927.....	78
<b>III. RESULTATS DES CAPTURES PAR PIEGES ADHESIFS.....</b>	<b>81</b>
III.1. Province de <b>Sidi Kacem</b> .....	81
III.2. Province d' <b>Ouezzane</b> .....	82
III.3. Province de <b>Taounate</b> .....	83
III.4. Province de <b>Moulay Yaâkoub</b> .....	84
III.5. Province de <b>Séfrou</b> .....	85
III.6. Province de <b>Bouleman</b> .....	85
<b>IV. RESULTATS DES CAPTURES PAR PIEGES LUMINEUX.....</b>	<b>86</b>
<b>V. ANALYSE ETHOLOGIQUE DES RESULTATS.....</b>	<b>87</b>
<b>VI. DISCUSSION.....</b>	<b>88</b>
<b>Chapitre II : RECHERCHES ENTOMOLOGIQUES DANS LES FOYERS DE SIDI KACEM ET OUEZZANE.</b>	
<b>Chapitre III : LEISHMANIOSE CUTANEE DANS LES PROVINCES DE SIDI KACEM ET OUEZZANE, MAROC (1997-2012).</b>	
<b>CONCLUSION GENARALE ET PERSPECTIVE.....</b>	<b>107</b>

# **INTRODUCTION GENERALE**

## Introduction générale

Les leishmanioses sont un groupe de maladies parasitaires dues à des protozoaires flagellés appartenant au genre *Leishmania* (*L.*), ont partie des maladies tropicales dites « négligées », même si elles comptent parmi les infections les plus fréquentes chez les 2,7 milliards d'individus vivant en dessous du seuil de pauvreté (Hotez *et al.*, 2007).

Il existe 4 formes principales de la maladie : la leishmaniose viscérale (LV, aussi connue sous le nom de kala-azar) ; la leishmaniose dermique post-kala-azar (LDPKA), la leishmaniose cutanée (LC) ; et la leishmaniose cutanéomuqueuse. La leishmaniose cutanée est la forme la plus fréquente de la maladie, mais la leishmaniose viscérale est la plus grave, presque toujours mortelle en l'absence de traitement (OMS, 2020).

Selon une récente mise à jour de l'Organisation Mondiale de la Santé, la leishmaniose demeure un problème de santé majeur dans 4 régions éco-épidémiologiques du monde (les Amériques, l'Afrique de l'est, l'Afrique du nord, l'Asie de l'ouest et du sud-est), dans les zones tropicales, subtropicales et du bassin méditerranéen d'environ 98 pays ou territoires d'endémie, dont 4 nouveaux pays d'endémie en 2017-2018, par lequel 65 pays endémiques à la fois pour la LV et LC, 10 pays endémiques pour la LV seulement et 22 pays endémiques pour la LC. La population exposée au risque de leishmanioses est estimée à 370 millions de personnes (dont une forte proportion d'enfants), le nombre de nouveaux cas annuellement diagnostiqués, toutes formes cliniques confondues, est évalué à, entre 700 000 et un millions, et entre 20 000 et 30 000 de décès chaque année (OMS, 2018).

Au Maroc, Les formes viscérale et cutanée sont largement répandues dans tout le pays, la leishmaniose viscérale causée par *Leishmania infantum*, la leishmaniose cutanée due à *Leishmania tropica* et à *Leishmania major* (Anon., 1997). Un troisième type de leishmaniose cutanée a été observé dans certaines provinces causé par *Leishmania infantum* variété dermatopre (Rhajaoui, 2011 ; Hmamouch *et al.*, 2014 ; El Miri *et al.*, 2016).

Ces dernières années, la maladie a pris de l'ampleur et touche des régions connues d'être non endémiques auparavant. Sachant qu'une partie de cette incidence pourrait être due à la déclaration de la maladie et à l'amélioration des systèmes de soins. Convaincu de la progression de la maladie et la nécessité d'entamer des mesures de lutte, le ministère de la santé a conçu en 1997 un Programme de Lutte Contre les Leishmanioses et a mis en place un Laboratoire National de Référence en Leishmanioses (LNRL).

Le choix des provinces de Sidi Kacem et Ouezzane comme zone d'étude quantitative, est dû principalement à l'augmentation du nombre de cas de la LC (selon les statistiques de la délégation du ministère de santé de Sidi Kacem) et du fait que la zone d'étude constitue une zone fourche entre deux foyers actifs de leishmaniose au nord du Maroc: La province de Taounate (avec LC du à *L. infantum* MON-24 (Rioux *et al.*, 1996), LV canine due à *L. tropica* (Chiheb *et al.*, 1999) et LV du à *L. infantum* MON-1 (Guessous, 1997)) et la province de Moulay Yaâkoub située au nord-ouest de la ville de Fès, foyer de LC du à *L. tropica* (Rhajaoui *et al.*, 2004).

Ce thème de recherches porte sur « **Phlébotomes du Maroc : Etudes entomologique et épidémiologique au niveau de quelques foyers cutanées au nord du pays** ». Il s'inscrit dans le cadre des activités de recherches menées par le Laboratoire d'Entomologie Médicale à l'Institut National d'Hygiène, Rabat, MAROC.

## Introduction générale

L'objectif principal du travail est la contribution dans la mise en place des meilleures stratégies de lutte contre la LC, en collaboration avec le ministère de santé. Pour ce faire, le présent rapport se structure comme suit :

- ☆ Etudier la Biodiversité des phlébotomes dans leur milieu naturel, dans différentes stations d'étude du nord Marocain, s'avère nécessaire pour l'établissement d'un plan de lutte contre les leishmanioses au Maroc.
- ☆ Dresser le profil épidémiologique et parasitologique de la leishmaniose cutanée dans les deux provinces de Sidi Kacem et Ouezzane au nord-ouest Marocain (1997-2012). En parallèle faire une analyse sur les signes cliniques, précisant l'âge, le sexe, l'origine géographique, et leur confirmation parasitologique.
- ☆ Faire une étude évolutive de la distribution spatio-temporelle de la LC par secteur, dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane, considérées comme foyers hautement touchés par cette maladie. En parallèle, rechercher à l'aide de techniques de biologie moléculaire par la digestion RFLP du produit PCR-ITS1, dont l'objectif est d'identifier les espèces causales de la maladie au niveau des secteurs les plus touchés dans ces deux provinces.
- ☆ Contribuer à la réalisation d'un inventaire des phlébotomes capturés dans la zone d'étude au Nord du Maroc.

Le présent travail a été traité dans le Laboratoire d'Entomologie Médicale et dans le Laboratoire de Parasitologie à l'Institut National d'Hygiène, Rabat.

Dans **un premier temps**, une synthèse bibliographique permet d'aborder quelques rappels sur la systématique, la biodiversité, la bio-écologie des phlébotomes, leur répartition géographique, le rôle vectoriel, les critères morphologiques d'identification sont également étudiés. **Dans un deuxième temps**, nous avons présenté la région d'études et leurs caractéristiques bioclimatiques, au niveau desquelles ont été récoltées les populations de phlébotomes. Les techniques de piégeages et celles du montage des phlébotomes, ainsi que leur identification sont abordées.

**Dans un troisième temps**, nous avons présenté les résultats de notre travail en trois grands chapitres : **Le chapitre I** est consacré à l'étude de l'écologie des phlébotomes dans la zone d'étude. Également nous avons étudié la diversité de la faune phlébotomienne aux provinces de Séfrou, Taounate, Moulay Yakoub, Boulomane, Sidi Kacem et Ouezzane, tous ont déterminons les différentes espèces des phlébotomes récoltées en complément des critères habituellement utilisées. Dans **le chapitre II**, nous avons fait une recherche entomologique détaillée au niveau de cinq foyers de Sidi Kacem et Ouezzane. **Le chapitre III** s'intéresse aux résultats de l'étude épidémiologique dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane.

# Revue Bibliographique

## **I. VECTEURS DES LEISHMANIOSES**

### **I.1. Historique**

Les phlébotomes nommés « Phlebotomine sand flies », « sand flies », « sandflies » ou encore « midges » forment un groupe monophylétique et très homogène de diptères hématophages, considérés actuellement comme vecteurs exclusifs des leishmanioses.

Les plus anciens phlébotomes appartenant aux genres *Phlebotomites* Hennig et *Mesophlebotomites* Azar, ont été trouvés dans l'ambre du Liban. Cela démontre que leur existence est antérieure à 120 millions d'années (Ma), âge estimé de cet ambre. Il y a environ 230 ans, le premier phlébotome a été décrit d'Italie (Scopoli, 1783). À présent, on en compte plus de 1000 espèces et sous-espèces impliqués dans la transmission de leishmanioses humaines et vétérinaires dans le monde. La distribution des phlébotomes englobe des régions ayant des climats très différents ; on les rencontre dans les régions intertropicales voire méditerranéennes, désertiques, tropicales ou équatoriales. Étant peu mobiles, ils sont souvent absents des îles purement volcaniques ou coralliennes isolées, à quelques exceptions près telles les Comores ou l'Atoll d'Aldabra aux Seychelles.

### **I.2. Position taxonomique du vecteur**

Les phlébotomes sont des Arthropodes appartenant à la classe des Insectes, Ordre des Diptères, sous-ordre des Nématocères, famille des Psychodidae et à la sous-famille des Phlebotominae (Depaquit, 2008). A l'heure actuel, Les classifications utilisées sont celles, minimaliste, de Lewis (Lewis, 1998 ; Lewis *et al.*, 1977) pour l'ancien monde qui se réfère à la partie du monde connu par les Européens depuis l'antiquité avant les voyages de Christophe Colomb : Europe, Asie et Afrique, et celle plus ambitieuse de Galati (Galati, 2013), développée surtout pour les espèces du nouveau monde (Les Amériques), mais incluant aussi les espèces de l'ancien monde (Tab. 1).

Cette classification est basée sur une démarche cladistique. Elle inclut dans son analyse quelques espèces de l'Ancien Monde et elle est sans doute la première à mettre explicitement en doute le monophylétisme de chacun des deux ensembles phlébotomes de l'Ancien Monde et phlébotomes du Nouveau Monde, en incluant, de plus, dans le groupe des *Sergentomyia* certains genres américains.

Tableau 1: Évolution de la classification des phlébotomes actuels (Depaquit & Léger, 2017).

1843 rondani & Berté	1921 França & Parrot	1948-1958 theodor	1955 Fairchild	1972 abonnenc
<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>
	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>
		<i>Larroussius</i>		
	<i>Sergentomyia</i>	<i>Adlerius</i>		
		<i>Paraphlebotomus</i>		
		<i>Synphlebotomus</i>		
		<i>Euphlebotomus</i>		
		<i>Anaphlebotomus</i>		
		<i>Australophlebotomus</i>		
		<i>Spelaeophlebotomus</i>		
	<i>Prophlebotomus</i>	<b><i>Sergentomyia</i></b>	<i>Sergentomyia</i>	<i>Sergentomyia</i>
		<i>Sergentomyia</i>		
		<i>Sintonius</i>		
		<i>Spelaeomyia</i>		<i>Spelaeomyia</i>
		<i>Parrotomyia</i>		
		<i>Rondanomyia</i>		
		<i>Grassomyia</i>		<i>Grassomyia</i>
		<i>Parvidens</i>		<i>Parvidens</i>
	<i>Brumptomyia</i>	<b><i>Brumptomyia</i></b>	<i>Brumptomyia</i>	<i>Brumptomyia</i>
	<i>Lutzomyia</i>	<b><i>Lutzomyia</i></b>	<i>Psychodopygus</i>	<i>Psychodopygus</i>
				<i>Vianniamyia</i>
			<i>Warileya</i>	<i>Warileya</i>
			<i>Hertigia</i>	<i>Hertigia</i>
				<i>Spelaeophlebotomus</i>
				<i>Idiophlebotomus</i>

1977-1982 Lewis et al. Lewis	1991 Artemiev	1995-2013 Galati	Distribution des genres	Principales leishmanies transmises
<i>Phlebotomus</i>	<b>PHLEBOTOMINI</b> <i>Phlebotomus</i>	<b>PHLEBOTOMINI</b> <i>Phlebotomus</i>	<i>Eur., As., Afr.</i>	
<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>	<i>Phlebotomus</i>		<i>L. major</i>
<i>Larroussius</i>	<i>Paraphlebotomus</i>	<i>Paraphlebotomus</i>		<i>L. tropica</i>
<i>Adlerius</i>	<i>Synphlebotomus</i>	<i>Synphlebotomus</i>		
<i>Paraphlebotomus</i>	<i>Larroussius</i>	<i>Larroussius</i>		<i>L. infantum</i>
<i>Synphlebotomus</i>	<i>Adlerius</i>	<i>Adlerius</i>		
<i>Euphlebotomus</i>	<i>Transphlebotomus</i>	<i>Transphlebotomus</i>		
<i>Anaphlebotomus</i>	<i>Euphlebotomus</i>	<i>Euphlebotomus</i>		<i>L. donovani</i>
<i>Australophlebotomus</i>	<i>Anaphlebotomus</i>	<i>Anaphlebotomus</i>		
<i>Spelaeophlebotomus</i>	<i>Kasaulius</i>	<i>Kasaulius</i>		
<i>Idiophlebotomus</i>	<i>Parvidens</i>	<i>Abonnencius</i>		
		<i>Legeromyia</i>		
<i>Sergentomyia</i>	<i>Australophlebotomus</i>	<i>Australophlebotomus</i>	<b>Oc., As.</b>	
<i>Sergentomyia</i>	<i>Brumptomyia</i>	<i>Brumptomyia</i>	<b>Am.</b>	
<i>Sintonius</i>	<i>Isolutzomyia</i>	<i>Brumptomyia</i>		
<i>Spelaeomyia</i>	<i>Psychodopygus</i>	<i>Oligodontomyia</i>		
	<i>Nyssomyia</i>	<i>Sergentomyia</i>	<b>As., Oc., Afr., Eur.</b>	

**Première partie : Revue Bibliographique**

<i>Parrotomyia</i>	<i>Trichophoromyia</i>	<i>Grassomyia</i>	As., Oc., Afr.	
<i>Rondanomyia</i>	<i>Psathyromyia</i>	<i>Spelaeomyia</i>	Afr.	
<i>Grassomyia</i>	<i>Viannamyia</i>	<i>Parvidens</i>	Afr.	
<i>Parvidens</i>	<i>Pintomyia</i>	<i>Deanemyia</i>	Am.	
	<i>Lutzomyia</i>	<i>Micropygomyia</i>	Am.	
<i>Brumptomyia</i>	<i>Micropygomyia</i>	<i>Sauromyia</i>		
	<i>Spelaeomyia</i>	<i>Coquillettomyia</i>		
<i>Lutzomyia</i>	<i>Sergentomyia</i>	<i>Sauromyia</i>		
9 subgenera	<i>Grassomyia</i>	<i>Micropygomyia</i>		
	<i>Demeillonius</i>	<i>Sciopemyia</i>	Am.	
<i>Warileya</i>		<i>Lutzomyia</i>	Am.	
<i>Warileya</i>	<b>DIOPHLEBOTOMINI</b>	<i>Helcocyrtomyia</i>		<i>L. peruviana</i> , <i>L. mexicana</i>
<i>Hertigia</i>	<i>Idiophlebotomus</i>	<i>Castromyia</i>		
	<i>Spelaeophlebotomus</i>	<i>Tricholateralis</i>		
	<i>Chinius</i>	<i>Lutzomyia</i>		<i>L. infantum chagasi</i>
	<i>Warileya</i>	<i>Migonemyia</i>	Am.	
	<i>Hertigia</i>	<i>Migonemyia</i>		
		<i>Blancamyia</i>		
		<i>Pintomyia</i>	Am.	
		<i>Pintomyia</i>		
		<i>Pifanomyia</i>		<i>L. infantum chagasi</i> , <i>L. panamensis</i> , <i>L. peruviana</i>
		<i>Dampfomyia</i>	Am.	
		<i>Dampfomyia</i>		
		<i>Coromyia</i>		
		<i>Expapillata</i>	Am.	
		<i>Pressatia</i>	Am.	
		<i>Trichopygomyia</i>	Am.	
		<i>Evandromyia</i>	Am.	
		<i>Aldamyia</i>		
		<i>Evandromyia</i>		
		<i>Barrettomyia</i>		
		<i>Psathyromyia</i>	Am.	
		<i>Forattiniella</i>		
		<i>Xiphomyia</i>		
		<i>Psathyromyia</i>		
		<i>Viannamyia</i>	Am.	
		<i>Martinsmyia</i>	Am.	
		<i>Bichromomyia</i>	Am.	<i>L. amazonensis</i> , <i>L. mexicana</i>
		<i>Psychodopygus</i>	Am.	<i>L. braziliensis</i>
		<i>Trichophoromyia</i>	Am.	
		<i>Nyssomyia</i>	Am.	<i>L. braziliensis</i> , <i>L.</i> <i>guyanensis</i> , <i>L.</i> <i>mexicana</i> , <i>L.</i> <i>panamensis</i> , <i>L. shawi</i>
		<b>HERTIGIINI</b>		
		<i>Warileya</i>	Am.	
		<i>Hertigia</i>	Am.	
		<i>Spelaeophlebotomus</i>	Afr.	
		<i>Idiophlebotomus</i>	As., Oc.	
		<i>Chinius</i>	As.	
		<b>UNGROUPED</b>		
		<i>Edentomyia</i>	Am.	

**N.B** : Afr. : Afrique ; Am. : Amérique ; As. : Asie ; Eur. : Europe ; Oc. : Océanie.

### I.3. Morphologie des phlébotomes

Du fait de leur petite taille (1,5 - 4mm), les phlébotomes (insectes telmophages) sont peu connus du grand public en dehors des épisodes de pullulation intenses durant lesquels ils peuvent constituer une nuisance sérieuse. Cependant, ils sont faciles à identifier du fait de leur morphologie générale (aspect bossu, longues pattes, pilosité développée, ailes lancéolées dressées au repos au-dessus du corps à 45°) (Fig. 1).

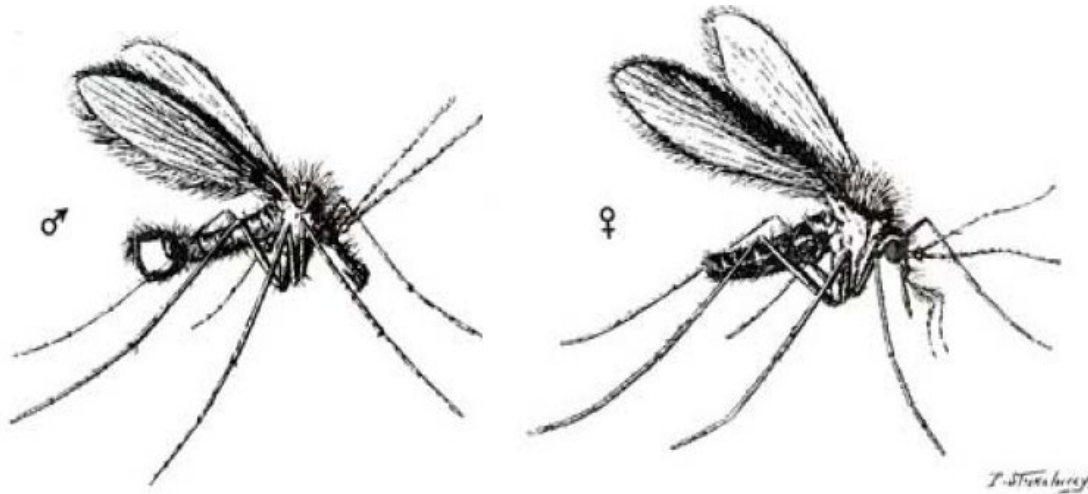


Figure 1 : Phlébotomes adultes mâle et femelle.

Source : <http://history.amedd.army.mil/booksdocs/wwii/infectiousdisvolii/default.html>.

La tête (Fig. 2) est formée en grande partie par une capsule chitineuse (épicrâne), bornée de chaque côté par un grand œil composé. Sur la région frontale s'insèrent deux antennes formées chacune de 16 segments : deux segments basaux, et 14 segments beaucoup plus longs et minces, constituant le flagellum. L'ensemble des pièces buccales forme une trompe courte. Seules les femelles portent des mandibules dentelées.

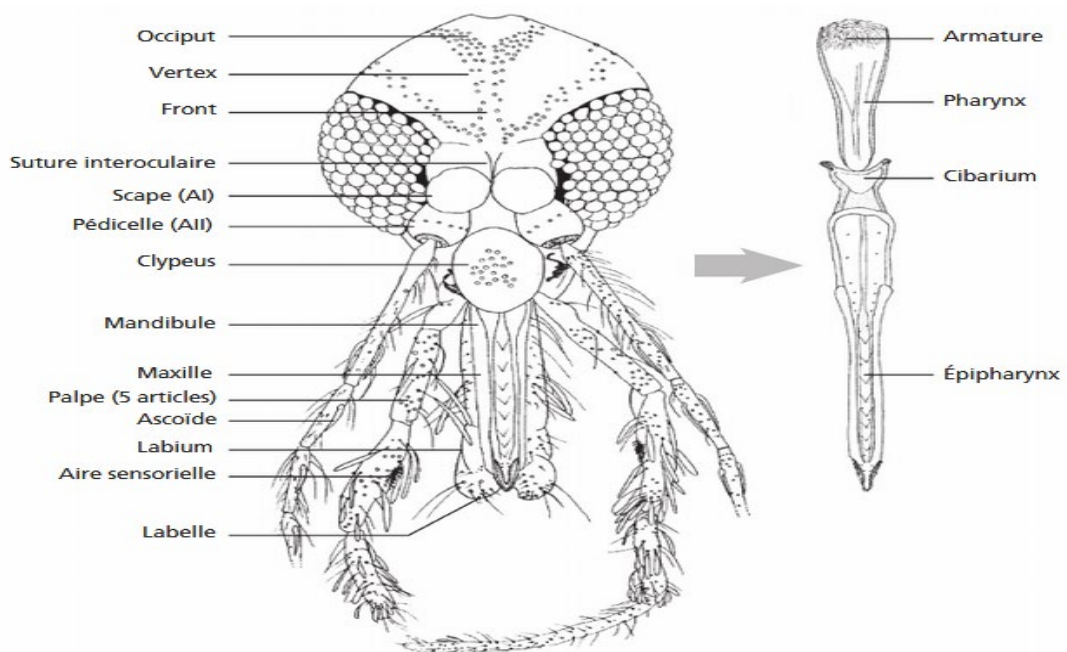
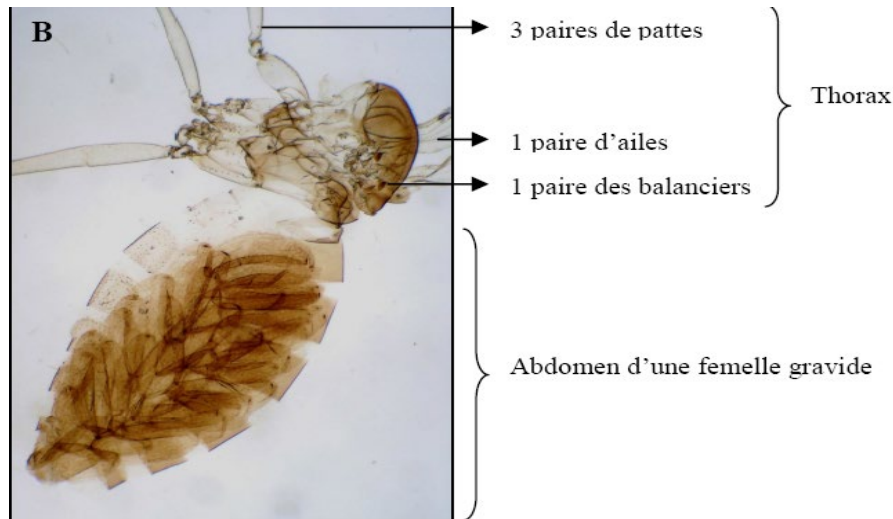


Figure 2: Anatomie de la tête et des pièces buccales d'un phlébotome adulte (Depaquit & Léger, 2017).

Le thorax (Fig. 3) porte une paire d'ailes et des balanciers qui garantissent l'équilibre de l'insecte durant le vol. Les ailes sont lancéolées, être formé de sept nervures longitudinales et des nervures transverses. Sur chacun des trois segments thoraciques fusionnés est insérée une paire de pattes articulées, longues, fines et couvertes de soies.



**Figure 3 : Morphologie d'un phlébotome adulte  
Thorax et l'abdomen (Guernaoui, 2006).**

L'abdomen (Fig. 3) comporte dix segments ; le premier est uni au thorax. Les Sept premiers non modifiés, portent chacun une paire de stigmates respiratoires ; alors que les trois derniers sont modifiés pour former le génitalia. Chez le mâle, l'armature génitale très développée ; elle est, formée de trois paires de prolongements (Fig. 4). Une paire de coxites sur lesquels s'articulent les styles, Une paire de pièces médianes, Les paramères naissant à la base des coxites, Une paire de prolongements ventraux appelés lobes latéraux, et enfin, soudés à la partie interne de ces derniers, deux lames membraneuses, l'anus s'ouvre entre les lamelles sous-médianes. Entre les paramères, se situent les fourreaux ou gaines du pénis soutenant deux filaments génitaux. Les filaments, faisant suite à la pompe génitale, qui est un organe interne, prennent naissance dans les segments postérieurs de l'abdomen.

Chez la femelle, l'appareil génital interne se constitue de trois organes pairs (deux ovaires, deux glandes annexes et deux spermathèques).

Les spermathèques (Fig. 5) sont composées chacune d'une capsule chitineuse, de morphologie variable, d'un conduit plus ou moins long relié à l'atrium génital.

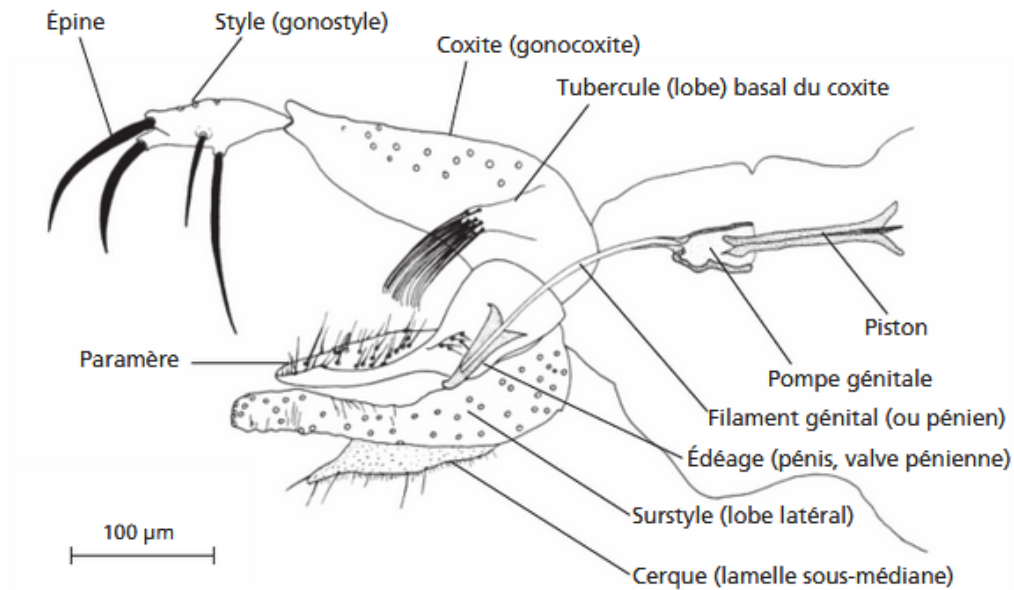


Figure 4: L'appareil génital d'un phlébotome adulte mâle (Depaquit & Léger, 2017).

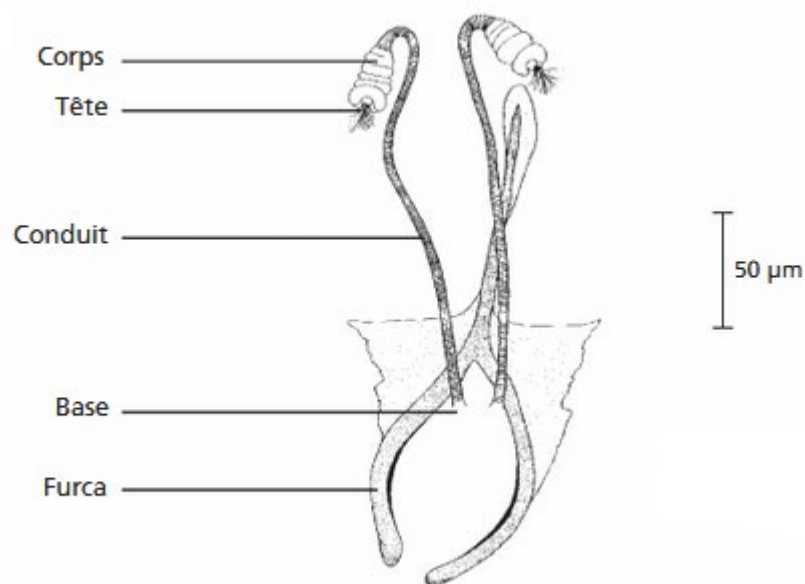


Figure 5 : Spermathèques d'un phlébotome adulte femelle (Depaquit & Léger, 2017).

L'armature génitale du mâle, les spermathèques et l'armature buccale de la femelle varient dans leur morphologie, et sont utilisés dans l'identification et la classification des espèces.

Il existe environ 1000 espèces de phlébotomes, distribuées dans presque toutes les régions biogéographiques du monde. Parmi elles, 90 espèces ont été identifiées comme des vecteurs potentiels de *Leishmania*, sachant que 40 espèces seulement d'entre elles ont réellement été prouvées (GHAVY, 2019 ; OMS, 2020). Elles appartiennent aux genres *Phlebotomus* dans l'Ancien Monde (Europe, Asie et Afrique) et *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde (Les Amériques) (Léger *et al.*, 1999). C'est la femelle hématophage qui va transmettre le parasite

lors de son repas sanguin, ce dernier lui étant indispensable pour la maturation des œufs pondus.

Les phlébotomes se trouvent principalement dans les régions tropicales et subtropicales, ils apparaissent seulement l'été en région tempérée où ils confèrent à la maladie un caractère saisonnier. De nombreuses espèces de phlébotomes sont capables de transmettre le parasite *Leishmania*, alors que certaines espèces ne sont capables de transmettre qu'un nombre unique ou limité d'espèces de *Leishmania* (Dostalova et Volf, 2012) (Tab.2).

Espèce parasitaire	Vecteur	Forme clinique de la maladie	Répartition géographique
<i>L. tropica</i>	<i>Paraphlebotomus sergenti</i>	Cutanée	Ancien Monde
<i>L. major</i>	<i>Phlebotomus duboscqi</i> <i>Phlebotomus papatasi</i> <i>Phlebotomus salehi</i>	Cutanée	Ancien Monde
<i>L. mexicana</i>	<i>Lutzomyia olmeca olmeca</i>	Cutanée	Nouveau Monde
<i>L. braziliensis</i>	<i>Lutzomyia wellcomei</i> <i>Lutzomyia complexus</i> <i>Lutzomyia carrera</i>	Muco-cutanée	Nouveau Monde
<i>L. donovani</i>	<i>Phlebotomus argentipes</i> <i>Phlebotomus orientalis</i> <i>Phlebotomus martini</i>	Viscérale	Ancien Monde
<i>L. infantum</i>	<i>Phlebotomus ariasi</i> <i>Phlebotomus perniciosus</i> <i>Lutzomyia longipalpis</i>	Viscérale	Nouveau et Ancien Monde

**Tableau 2 : Transmission des leishmanies par les différentes espèces de phlébotomes (Hamrouni, 2019)**

#### **II.4. Biologie des phlébotomes**

Les phlébotomes cherchent à se nourrir dès leur émergence. L'insecte mâle se contente de suc floraux et fruitiers, de miellat de pucerons ou peut percer les parenchymes des feuilles et aspirer la sève. Alors que la femelle, en plus de ces aliments, a besoin de sang pour la maturation de ses œufs (Bengman, 1996). Elle se nourrit en piquant aussi bien l'Homme que les animaux. Elle prélève le sang dans une petite mare de sang et de lymphe obtenue par dilacération de la peau à l'aide des mâchoires et des mandibules, et maintenue liquide grâce à l'injection d'une salive anticoagulante dont la composition est complexe (Depaquit & Léger, 2017). La piqûre "douloureuse" peut passer inaperçue en raison de la faiblesse de l'insecte principalement. La femelle, une fois gorgée de sang (Fig. 6), elle prend une brève période de repos sur un support proche avant de rejoindre un abri où elle digère son repas. La digestion s'effectue en 3 à 10 jours et permet la maturation de 50 à 200 œufs qui sont pondus à même le sol (Dolmatova & Demina, 1971).

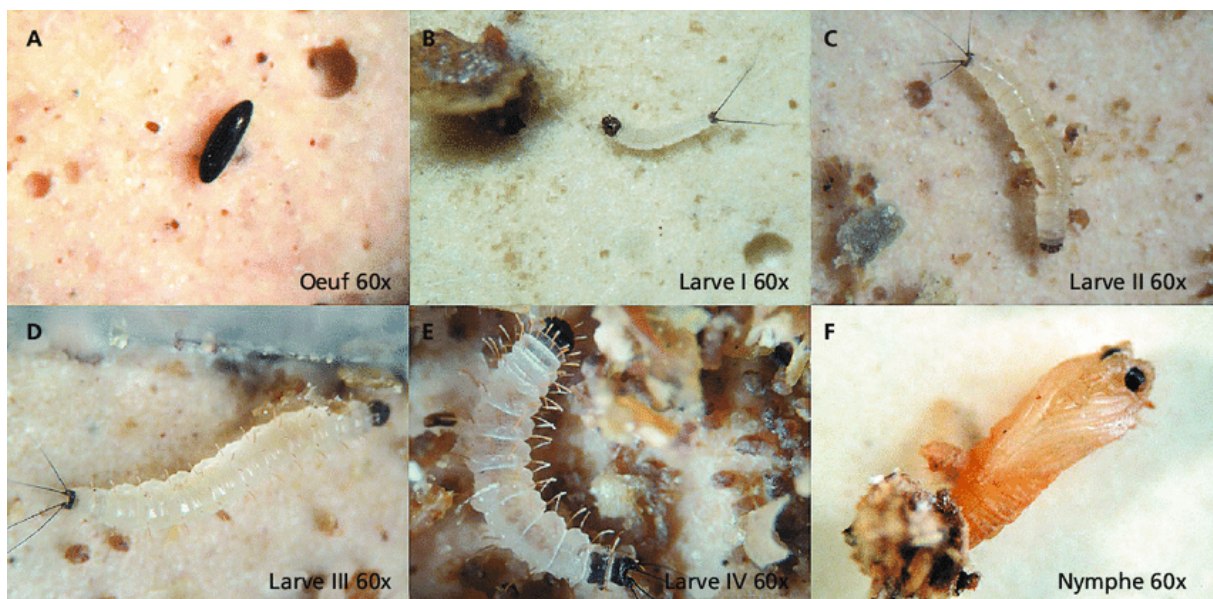
Par la suite, la femelle cherche un hôte pour un nouveau repas sanguin qui sera suivi d'une nouvelle ponte, en continuant de la même manière selon un cycle gonotrophique qui reprend tous les 3 à 10 jours (Abonnenc, 1972). En moyenne, la femelle vit deux semaines à deux mois et prend généralement plusieurs repas sanguins (ce qui est indispensable à la transmission des leishmanies). Le mâle a une durée de vie plus brève. La copulation intervient selon les espèces, juste avant ou aussitôt après le premier repas sanguin qui dure de 30 secondes à 5 minutes, dans les 48 heures qui suivent l'émergence des insectes adultes (Depaquit & Léger, 2017). La femelle fécondée, stocke les spermatozoïdes dans 2 spermathèques dont la morphologie est propre à l'espèce et donc essentielle à la diagnose. Les

spermatozoïdes sont par la suite fournis régulièrement pendant la ponte pour la fécondation des œufs.



**Figure 6 : Femelle de *Phlebotomus ariasi* (photo de Geoffroy & Killick-Kendrick © IRD, Montpellier).**

Chaque œuf (Fig. 7A) donne en 4 à 20 jours naissance à une larve terricole, vermiforme, longue (0,5 à 4 mm) et dont l'extrémité caudale se termine généralement par 2 paires de longues soies (Dolmatova & Demina, 1971). La larve (Fig. 7B, C, D, E) se nourrit de débris végétaux (Parrot, 1932, 1941), subit 4 mues avant de donner une nymphe (Fig. 7F) d'où émerge le phlébotome adulte. En fonction des conditions climatiques, depuis l'œuf jusqu'au stade imaginal, le développement dure 20 à 90 jours. Pendant l'été, la densité des populations de phlébotomes atteint son maximum (Zivkovic & Miscevic, 1972). En saison froide, les phlébotomes hibernent à l'état d'œuf ou de larve (Dolmatova & Damina, 1971).



**Figure 7: Cycle de développement de *Lutzomyia longipalpis* : oeuf (A), larve de stade 1 (B), larve de stade 2 (C), larve de stade 3 (D), larve de stade 4 (E) et nymphe (F) (Depaquit & Léger, 2017).**

Pendant la journée, les phlébotomes sont au repos et se mettent à l'abri de la lumière et du vent dans diverses anfractuosités de murs, de rochers, trous d'arbres, recoins sombres des terriers, caves et abris d'animaux sauvages ou domestiques. Ils deviennent actifs à la tombée de la nuit à condition que la température soit suffisamment élevée (généralement 19 à 20°C) et qu'il n'y ait pas de vent (limite: 1m/s), et ils se mettent en quête de nourriture et de partenaire. Les phlébotomes volent silencieusement par petits bonds autour de leurs gîtes. Ils ne s'éloignent pas ou peu de ces gîtes où ils trouvent les meilleures conditions de température, d'humidité et de nourriture nécessaires à leur développement. La femelle se nourrit en piquant l'hôte présent dans les lieux et y pond ses œufs (Fig. 7). Certaines espèces de phlébotomes sont attirées par la lumière, le plus souvent de faible intensité. Certaines sont endophiles et pénètrent volontiers dans les maisons ou les abris des animaux, d'autres sont exophiles.

Les larves consomment les débris végétaux. L'abri de l'hôte piqué sert ainsi de gîte trophique, de gîte de repos et de gîte de ponte. Lorsque le gîte est un terrier de rongeur sauvage, il constitue une véritable niche écologique naturelle ou primaire où prolifèrent les phlébotomes. Ainsi, la dispersion des insectes s'effectue par les femelles qui vont pondre ailleurs. Cette dispersion reste limitée dans l'espace car les phlébotomes, plutôt casaniers, se caractérisent par un vol heurté, par bonds successifs interrompus de brèves périodes de repos, précédant des changements fréquents de direction, ce qui leur a valu leur nom grec de « *sknipes* » (« ivrognes ») (Depaquit & Léger, 2017).

Néanmoins, le vent et la lumière peuvent pousser ou attirer l'insecte loin de son gîte initial. La femelle gravide dépose alors ses œufs dans un nouvel abri. Lorsque la ponte a lieu dans une habitation strictement humaine, les larves ne trouvent plus les conditions favorables à leur développement. En revanche, si la ponte a lieu dans un abri d'herbivores domestiques (lapins, moutons, chevaux...), les larves de phlébotomes trouvent de meilleures conditions de développement. Cet abri devient à son tour un lieu de pullulation constituant une nouvelle niche écologique secondaire qui prend le relais de la niche sauvage et permet l'introduction et la prolifération des phlébotomes dans le milieu péri-domestique ou domestique.

Globalement, la prolifération des phlébotomes est liée à la présence des hôtes. Leur élimination provoque la disparition de la niche et le déplacement de la population d'insectes vers un autre abri actif et dynamique.

### **I.5. Importance médicale et vétérinaire des phlébotomes**

La pique des phlébotomes est douloureuse, puisqu'ils pratiquent une phlébotomie qui s'accompagne habituellement d'une coupure de nerfs sensitifs. L'intensité des réactions observées (douleur, apparition d'une papule ou d'une tache hémorragique) varie en fonction de l'espèce en cause et de la sensibilité individuelle des hôtes qui peuvent montrer des réactions anaphylactiques plus ou moins agressives accompagnées de prurit, exanthème étendu, oedèmes (de la face en particulier), troubles généraux (fièvre, nausées, malaise, troubles du rythme cardiaque) (Depaquit & Léger, 2017).

D'après les mêmes auteurs, certaines espèces de phlébotomes, telles *P. papatasi*, *P. alexandri*, *P. Neglectus*..., sont particulièrement venimeuses pour l'Homme, de plus, les personnes qui traitent les phlébotomes (captures à l'aspirateur, élevages) peuvent être sensibles à l'inhalation des soies de ces derniers et provoquer une allergie respiratoire.

## **I.6. Interactions Parasite (*Leishmania*) - Vecteur**

Bien que, l'existence dans l'habitat d'une espèce de vecteur donnée, de plusieurs espèces de *Leishmania*, cela n'indique pas forcément que ce vecteur transmettra le parasite. On parle, d'une combinaison spécifique vecteurs-parasites (Killick-Kendrick, 1985). La sensibilité ou la résistance d'une espèce de phlébotome en particulier au développement d'un parasite donnée semble dépendre de la capacité de celui-ci à surmonter certains obstacles tels les enzymes digestives de l'intestin médian, la membrane péritrophique entourant le repas sanguin et finalement l'excrétion du contenu de l'intestin médian suite à la digestion (Sacks, 2001). La réceptivité des phlébotomes aux leishmanies, leur abondance (corrélée à un étage bioclimatique idéal) et leurs préférences trophiques constituent les facteurs essentiels de la circulation des leishmanies (Depaquit & Léger 2017).

## **I.7. Effets de la salive du vecteur chez l'hôte**

Lors du repas sanguin, le phlébotome femelle injecte de la salive au niveau de l'endroit de la piqûre. Plusieurs études ont prouvé que des homogénats de glandes salivaires possédaient un pouvoir immunomodulateur lorsque inoculés d'une manière concomitante avec *Leishmania* et permettaient l'augmentation de la taille de la lésion et/ou de la charge parasitaire, accompagnée d'une augmentation de l'IL-4 (Lima et Titus, 1996 ; Mbow *et al.*, 1998) et une inhibition de plusieurs fonctions du macrophage (Hall et Titus, 1995 ; Katz *et al.*, 2000). A l'inverse, la réponse de l'hôte était très différente lorsqu'on procédait à l'infection directement par une piqûre de phlébotome infectée plutôt qu'à la co-inoculation de parasites et d'homogénats de glandes salivaires.

## **I.8. Facteurs influençant la distribution des vecteurs**

### **a. Facteurs bioclimatiques**

La durée de vie des phlébotomes est fonction de la température (plus elle est basse, plus la durée de vie est élevée) et de l'humidité (plus l'hydrométrie est élevée, plus la durée de vie est élevée). La distribution des phlébotomes englobe toutes les régions intertropicales, voir beaucoup de régions (Fig. 8), à divers climats (méditerranéens, désertiques, tropicaux ou équatoriaux). Étant peu mobiles, les phlébotomes sont généralement absents des îles purement volcaniques ou coralliennes isolées, à quelques exceptions près telles les Comores ou l'atoll d'aldabra aux Seychelles (Depaquit & Léger, 2017). Egalement, l'existence de niches écologiques sauvages est conditionnée par la nature de plusieurs paramètres telle que le sol, la flore, la faune et le climat. De même, la présence de nappes phréatiques ou de points d'eau favorise le développement de plantes et donc celle des rongeurs et des phlébotomes (Rioux *et al.*, 1986).

Des facteurs météorologiques comme chez le cas d'une sécheresse prolongée, limite ainsi, la prolifération des rongeurs et par conséquent, celle des insectes qui envahissent leurs terriers. A l'inverse, des pluies abondantes favorisent le développement de la végétation et des populations animales et par conséquent, la pullulation des insectes.

Cependant, le changement climatique peut impacter la distribution de la leishmaniose, soit directement (développement du vecteur et du parasite), soit indirectement (distribution et abondance des vecteurs, modifications socio-économiques susceptible de modifier le contact homme-vecteur) (Ready, 2008 ; Semenza & Menne, 2009 ; Mendes *et al.*, 2016).

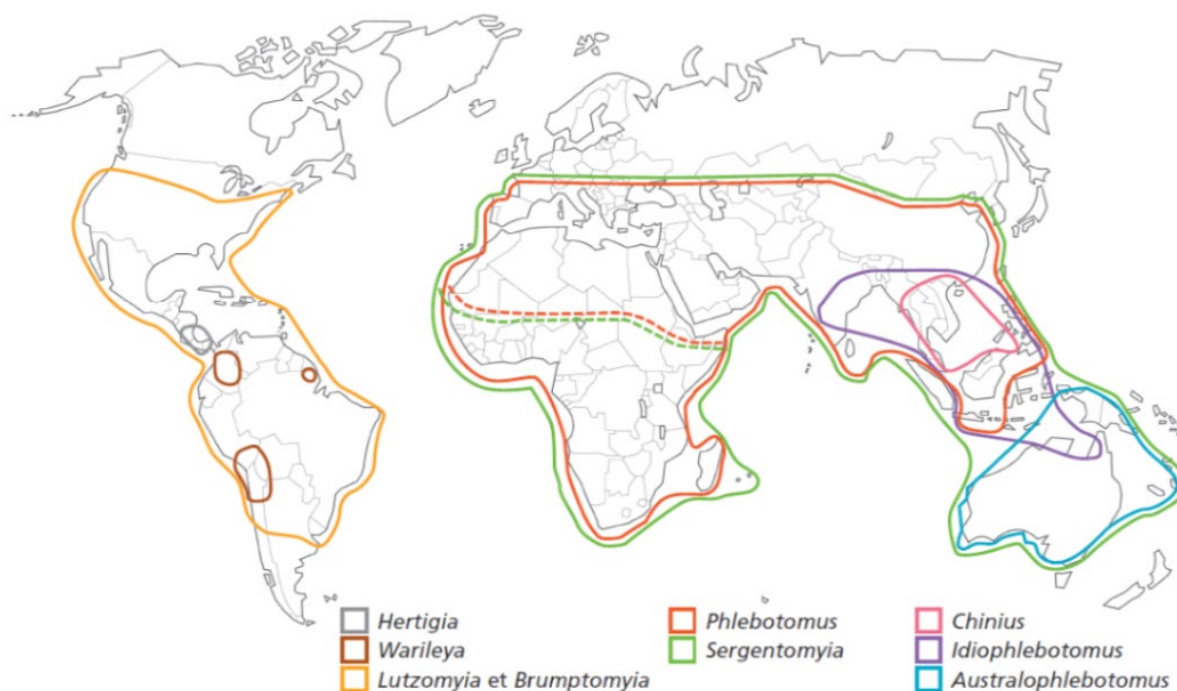


Figure 8 : Distribution des principaux genres de phlébotomes dans le monde (Léger et Depaquit, 2002).

### b. Facteurs anthropiques

Au-delà des facteurs bioclimatiques, il ne faut pas négliger les conséquences du changement d'utilisation des terres, les pollutions, les invasions biologiques et les actions humaines, qui peuvent irrévocablement modifier l'environnement et les conditions naturelles de développement des espèces (Gramiccia, Gradoni, 2005).

Habituellement, les activités humaines peuvent intervenir dans la modification de la répartition de la leishmaniose. Par exemple, la péri-urbanisation galopante, en zone agricole, autour des villages du sud de la France, favorisait le développement de gîtes à phlébotomes et donc de foyers potentiels de transmission au chien et à l'homme (Duvallet, 2015). Pareillement, les ordures ménagères et les produits de culture, attire de nouveaux rongeurs qui créent leurs propres terriers. C'est autant de nouvelles niches écologiques qui sont offertes aux phlébotomes dont la prolifération est accentuée, c'est également autant d'hôtes pour les vecteurs et autant de réservoirs potentiels d'agents pathogènes qui sont introduits dans le site (Rioux, Petter, Akalay *et al.*, 1982). C'est ainsi qu'apparaissent et se développent des épidémies de leishmaniose cutanée dans des régions jusque-là épidémiologiquement silencieuses (Belazzoug, 1982). Finalement, la mondialisation avec une mobilité croissante et de plus en plus rapide des biens et des personnes à l'échelle de la planète, a des conséquences énormes sur la circulation des hôtes, des pathogènes et des vecteurs.

### I.9. Phlébotomes du Maroc

Au Maroc, Les phlébotomes ont évoqué plusieurs travaux ; En effet, après les observations et les notes de Delanoe (1916), Vialatte & Parrot (1921), Ristorcelli (1939), les travaux de Bailly-Choumara *et al.* (1971) ont présenté une synthèse géographique et bioclimatique des

données existantes sur les phlébotomes du Maroc. A partir des années 70, les travaux de Rioux, en collaboration avec les autorités marocaines ont eu pour objectif l'analyse de différents foyers (Rioux, 2001).

A côté des études écologiques et épidémiologiques, des analyses biochimiques ont aussi été utilisées pour caractériser les populations des phlébotomes dans différentes villes du Maroc (Guessous-Idrissi *et al.*, 1997 ; Chiheb *et al.*, 1999, 2012, 2014, 2015 ; Lasri *et al.*, 1999 ; Guernaoui *et al.*, 2000, 2005, 2006, 2010, 2011 ; Boussaa *et al.*, 2003, 2005, 2007, 2009, 2010, 2016 ; Rhajaoui *et al.*, 2004, 2007, 2011, 2012 ; Yahia *et al.*, 2004 ; Bacaër *et al.*, 2006 ; Qasmi *et al.*, 2008 ; Ramaoui *et al.*, 2008 ; Laboudi *et al.*, 2010, 2012 ; Zougaghi *et al.*, 2011 ; Iguermia *et al.*, 2011 ; Faraj *et al.*, 2012 ; Arroub *et al.*, 2012, 2013 ; Faraj *et al.*, 2012, 2013, 2016 ; Er Rami *et al.*, 2013 ; Jebbouri, 2013 ; El Miri *et al.*, 2013, 2016 ; Lahouiti *et al.*, 2013, 2014 ; Riyad *et al.*, 2013 ; Ajouad *et al.*, 2013, 2015 ; Zouirech *et al.*, 2013, 2015, 2018 ; Hmamouch *et al.*, 2014, 2017 ; El Alem *et al.*, 2014 ; Hjira *et al.*, 2014 ; Chiheb *et al.*, 2014 ; Kahime *et al.*, 2014, 2015 ; Es-sette *et al.*, 2014, 2015 ; Talbi *et al.*, 2015 ; Sebti *et al.*, 2015, 2016 ; Ouanaïmi *et al.*, 2015 ; Lahmadi *et al.*, 2015 ; Mezouari *et al.*, 2015 ; Amarir *et al.*, 2015 ; Aasri *et al.*, 2016 ; Zarrouk *et al.*, 2016 ; Sadeq *et al.*, 2016 ; Hakkour *et al.*, 2016, 2019 ; Alaoui *et al.*, 2017 ; Laboudi *et al.*, 2017 ; Bennis *et al.* 2018 ; Zarrouk, 2018 ; Abou-Elaaz *et al.*, 2019...). Ainsi, dans le Rif marocain, l'analyse isoenzymatique a permis la mise en évidence d'un allèle diagnostique au locus de l'hexokinase entre *P. perniciosus* et *P. longicuspis* et a montré que le tri des mâles pouvait aussi se faire sur le nombre de soies médianes des coxites, plus faible chez *P. perniciosus* que chez *P. longicuspis* (Benabdennbi *et al.*, 1998).

Actuellement, l'inventaire des phlébotomes du Maroc comprend 24 espèces, réparties entre le genre *Phlebotomus* (14 espèces), avec trois sous-genres (*Phlebotomus*, *Paraphlebotomus* et *Larroussius*) et le genre *Sergentomyia* (dix espèces), avec quatre sous-genres (*Sergentomyia*, *Parrotomyia*, *Grassomyia* et *Sintonius*) (Faraj et Himmi, 2019) :

### **Genre *Phlebotomus***

#### **Sous-genre *Phlebotomus***

*Ph. Phl. bergeroti* (Parrot, 1934).

*Ph. Phl. papatasi* (Scopoli, 1786)

#### **Sous-genre *Larroussius***

*Ph. Lar. ariasi* (Tonnoir, 1921)

*Ph. Lar. chadlii* Rioux, (Juminer et Gibily, 1966)

*Ph. Lar. langeroni* (Nitzulescu, 1930)

*Ph. Lar. longicuspis* (Nitzulescu, 1930)

*Ph. Lar. mariae* (Rioux, Croset, Léger et Bailly Choumara, 1974)

*Ph. Lar. perfiliewi* s.l. (Parrot, 1930)

*Ph. Lar. perniciosus* (Newstead, 1911)

#### **Sous-genre *Paraphlebotomus***

*Ph. Par. alexandri* (Sinton, 1928)

*Ph. Par. chabaudi* (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970)

*Ph. Par. kazeruni* (Theodor et Mesghali, 1964)

*Ph. Par. riouxi* (Depaquit, Léger et Killick-Kendrick, 1998)

*Ph. Par. sergenti* (Parrot, 1917)

**Genre *Sergentomyia***

**Sous-genre *Sergentomyia***

- S. Ser. antennata* (Newstead, 1912)
- S. Ser. bedfordi* (Newstead, 1914)
- S. Ser. fallax* (Parrot, 1921)
- Se. Ser. minuta* (Rondani, 1843)
- S. Ser. schwetzi* (Adler, Theodor et Parrot, 1929)

**Sous-genre *Sintonius***

- S. Sin. christophersi* (Sinton, 1927)
- S. Sin. clydei* (Sinton, 1928)

**Sous-genre *Parrotomyia***

- S. Par. africana* (Newstead, 1912)
- S. Par. lewisi* (Parrot, 1948)

**Sous-genre *Grassomyia***

- S. Gra. dreyfussi* (Parrot, 1933)

## II. LES LEISHMANIOSES

### II.1. AGENT PATHOGENE DES LEISHMANIOSES

#### II.1.1. Historique

L'agent pathogène de la leishmaniose (le parasite *Leishmania*) chez l'homme a été découvert pour la première fois par Cunningham en 1885. En 1898, Borowsky dessina les parasites d'une infection cutanée. En 1903, à Calcutta, Leishman découvre l'agent pathogène dans des frottis de rate d'un soldat mort de fièvre Dum-Dum en Inde. Puis Charles Donovan, en poste dans un service médical indien, identifia le même parasite dans une biopsie de rate. L'agent pathogène fut nommé *Leishmania donovani* en leur egard (Roberts *et al.*, 2000). Ce même parasite fut étudié la même année par Wright chez un enfant Arménien vivant à Boston, aux Etats-Unis, et les nombreuses similitudes de point de vue morphologique entre ces deux parasites (Leishman- Donovan et celui de Wright) ne sont pas contestables (Dedet, 1999).

Les leishmanies sont des parasites protozoaires appartenant à la famille des Trypanosomatidae, à l'ordre des kinetoplastidae et au genre *Leishmania* (Steverding, 2017). Un étendu éventail d'espèces sont en cause, identiques d'un point de vue morphologique, mais apte de causer différentes formes cliniques de leishmanioses, de sévérité différente (Hamrouni, 2019).

#### II.1.2. Classification et taxinomie

La classification de *Leishmania* a été initialement basée sur des critères éco-biologiques, tels que les vecteurs, la distribution géographique, le tropisme, les propriétés antigéniques ainsi que les manifestations cliniques (Banuls *et al.*, 2007). Ces parasites ont, par la suite, été divisés, en complexes d'espèces appuyés sur des critères biochimiques, immunologiques et génétiques (Fig. 9). Les deux sous-genres, *Leishmania* et *Viannia*, sont séparés sur la base de leur localisation dans l'intestin du vecteur (centrale ou postérieure). Les différentes espèces sont classées en deux groupes selon leur répartition géographique, en espèces de l'Ancien Monde (Europe, Afrique, Asie) et du Nouveau Monde (Amérique). Sachant que les espèces du sous genre *Sauroleishmania* contaminent les reptiles (lézards) préférablement que des mammifères (Croan *et al.*, 1997).

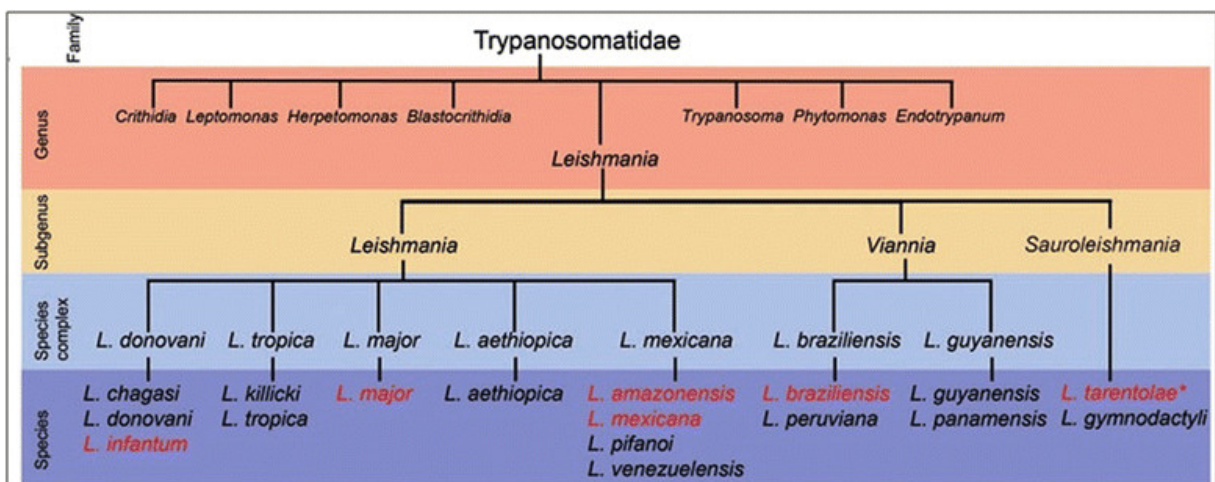


Figure 9 : Taxonomie de *Leishmania* (Chauhan *et al.*, 2015)

La taxinomie des *Leishmania* est complexe. Actuellement, environ 53 espèces de *Leishmania* ont été décrites, dont 29 sont présentes dans l'Ancien Monde, 20 dans le Nouveau Monde, trois espèces (*L. siamensis*, *L. martiniquensis* et *L. infantum*) dans l'Ancien et le Nouveau Monde, et une espèce en Australie (*L. australiensis*). Parmi celles-ci, 31 espèces sont connues pour être des parasites de mammifères et 20 espèces sont pathogènes pour les êtres humains. A l'exception de *L. donovani*, les autres espèces de *Leishmania* peuvent être impliquées dans les LC (Maroli *et al.*, 2012).

### II.1.3. Morphologie

Les *Leishmania* sont des protozoaires flagellés appartenant à l'ordre des Kinétoplastidés et à la famille des Trypanosomatidés. Ils présentent au cours de leur cycle de développement deux stades morphologiques successifs : le **stade promastigote** dans le tube digestif du phlébotome et le **stade amastigote** intracellulaire chez l'hôte vertébré dont l'Homme. Les *Leishmania* se multiplient aux deux stades par division binaire simple.

#### II.1.3.1. Les amastigotes (ou forme *Leishmania*)

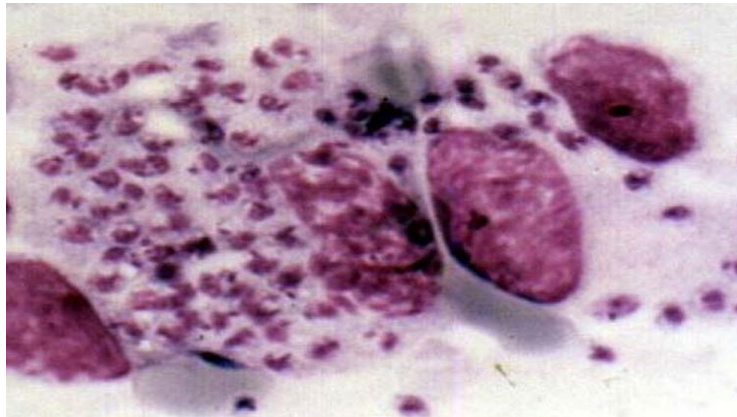


Figure 10 : Amastigotes de leishmanies dans des macrophages (ANOFEL, 2014).

Le stade **amastigote** (Fig. 10) est intracellulaire obligatoire chez les hôtes vertébrés, dont l'homme, de forme ovoïde, dépourvue de flagelle, immobile et pourvue d'un noyau volumineux et d'un kinétoplaste bacilliforme.

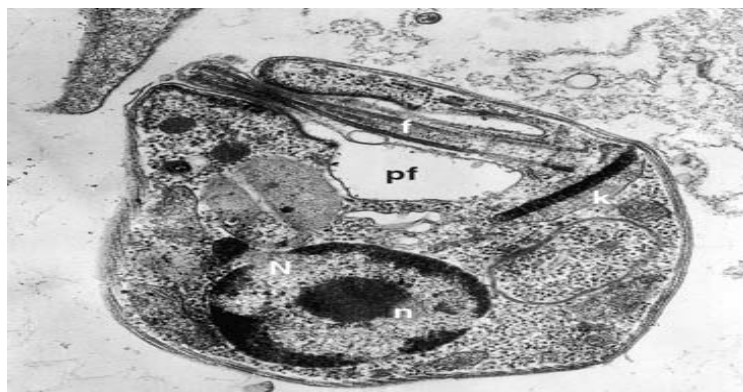


Figure 11 : Ultrastructure du stade amastigote de *Leishmania amazonensis*, montrant le noyau (N) et son nucléole (n), le kinétoplaste (k), le flagelle (f) et la poche flagellaire (pf) (Dedet, 2009).

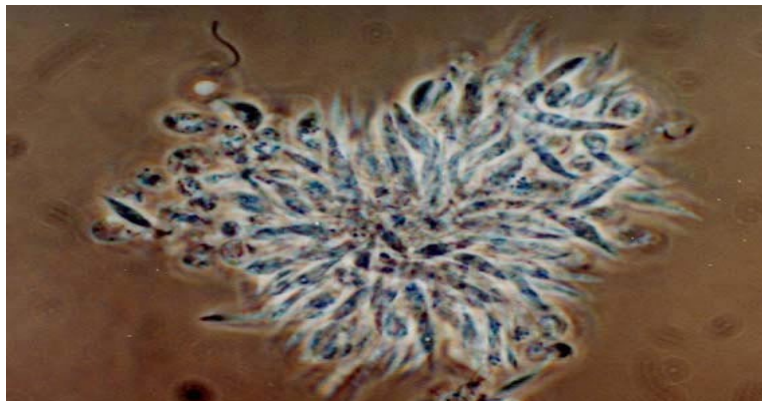
### **II.1.3.2. Les promastigotes (ou forme Leptomonas)**



**Figure 12 : Promastigotes de leishmanies en culture.**

Le stade **promastigote** (Fig. 12) est extracellulaire libre dans l'intestin du phlébotome vecteur, fusiforme et très mobile grâce à un flagelle antérieur. Les promastigotes se différencient dans le tractus digestif de l'insecte vecteur ou en culture.

En culture (Fig. 13) entre 24 à 28°C, sur milieu NNN (Novy, McNeal, Nicolle) ou d'autres, les amastigotes se transforment en promastigotes.



**Figure 13 : Rosette de promastigotes procycliques en culture.**  
Une rosace formée par l'agrégation des parasites par leur flagelle (ANOFEL, 2014).

Cette différenciation est caractérisée par le passage des parasites du stade procyclique non infestant au stade métacyclique infestant, suite à un processus dénommé métacyclogenèse. Au cours de ce processus, le parasite subit des modifications morphologiques et biologiques.

### **II.1.4. Division cellulaire chez les leishmanies (Ouellette *et al.*, 2003)**

Les leishmanies se multiplient aux deux stades par division binaire. D'abord la naissance d'un flagelle-fils de petite taille, suivi par la division nucléaire qui s'effectue sans qu'il y ait eu au préalable la disparition de la membrane nucléaire. Les chromosomes non condensés se répartissent dans les noyaux-fils par migration le long d'un fuseau mitotique intranucléaire bipolaire composé de microtubules. Enfin, le kinétoplaste se divise à son tour. La division du noyau précédant la génération d'un second flagelle a été signalée dans quelques cas. La cytotéièse s'effectue selon l'axe longitudinal des parasites. Elle est globalement amorcée au niveau du pôle antérieur. Cette différenciation est particulièrement induite par les changements de température et de pH extracellulaire (Dedet, 2001).

## **II.1.5. Différentes formes de leishmaniose**

### **II.1.5.1. Leishmaniose cutanée (LC)**

#### **a. Leishmaniose cutanée localisée**

Toutes les espèces anthropophiles de *Leishmania* peuvent être responsables de leishmaniose cutanée y compris les espèces couramment viscérotropes *L. donovani* et *L. infantum*. Mais les espèces les plus constamment dermatotropes sont représentées en Asie centrale, Afrique de l'Ouest, du nord et de l'Est ; Proche et Moyen-Orient par *L. tropica* et *L. major*, *L. aethiopica* en Afrique de l'Est. En Amérique, elles comprennent des espèces à large distribution sud-américaine à savoir *L. amazonensis* et à un degré moindre *L. guyanensis*, des espèces plutôt localisées à l'Amérique centrale comme *L. mexicana* et *L. panamensis*, ou d'autres à territoire géographique restreint (*L. peruviana*, *L. venezuelensis*, *L. naiffi* et les deux espèces brésiliennes *L. shawi*, et *L. lainsoni*).

#### **b. Leishmaniose cutanée diffuse**

Les leishmanioses cutanées diffuses sont peu fréquentes. Elles correspondent au parasitisme de sujets anergiques par les espèces *L. aethiopica* en Afrique de l'est et *L. amazonensis* en Amérique du sud. Mais depuis que les états d'immunodépression acquise se sont multipliés, quelques cas de LCD ont également été signalés avec des espèces comme *L. major*, *L. braziliensis*, ou *L. infantum*, habituellement responsables de lésions localisées. Elle conduit à des lésions cutanées chroniques souvent réfractaires au traitement (Hashiguchi *et al.*, 2016).

### **II.1.5.2. Leishmaniose cutanéomuqueuse**

La leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) est une entité clinique, à part limitée géographiquement au continent sud-américain, impliquant *L. braziliensis*, *L. guyanensis* et *L. panamensis*.

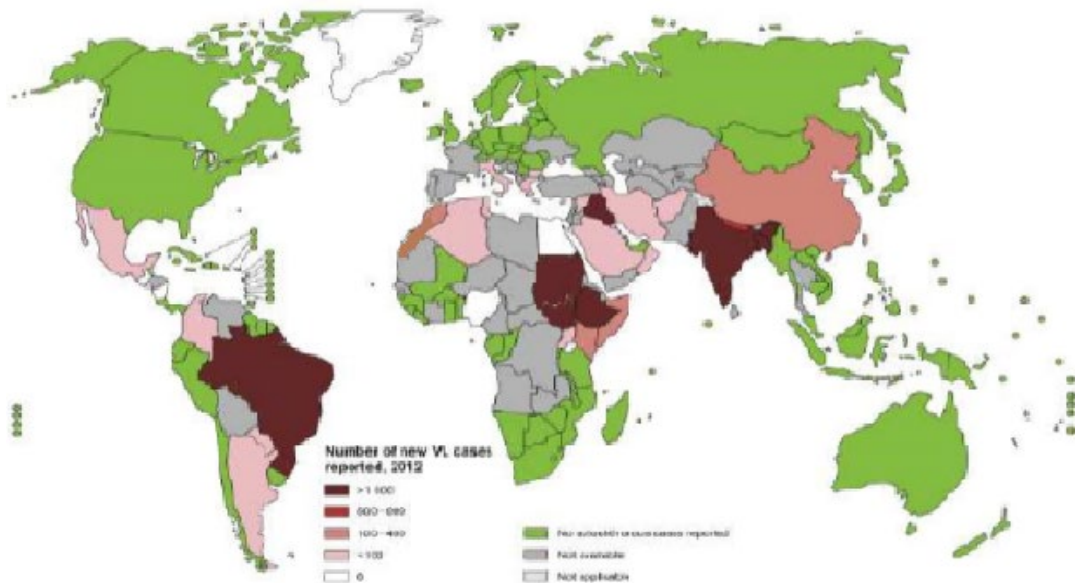
### **II.1.5.3. Leishmaniose viscérale (LV)**

La LV a été décrite en Inde sous le nom de kala-azar (fièvre noire en sanscrit) à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, elle connaît une vaste distribution géographique, allant de la Chine à l'Amérique du sud (Fig. 14). C'est la forme la plus grave de toutes les formes de leishmanioses et entraîne plus de 95% de décès si elle n'est pas traitée. Elle peut induire des flambées épidémiques, caractérisées par un taux de létalité de 1% à 3% à l'échelle mondiale (OMS, 2020). Les symptômes habituels sont des poussées irrégulières de fièvre, une perte de poids, une hépatosplénomégalie (augmentation des volumes du foie et de la rate) et une anémie.

L'âge de d'apparition de la LV varie selon l'espèce parasitaire en cause. La LV touche particulièrement les enfants âgés de 1 à 5 ans dans le pourtour de la méditerranée et dans les foyers sud-américains, alors que dans les foyers indiens et dans l'Afrique sub-saharienne, la maladie survient à tout âge (Ready, 2014).

Deux parasites sont responsables de la LV : *Leishmania donovani*, espèce anthroponotique dans les foyers indiens et est africain (Ethiopie et Soudan), et *L. infantum*, espèce zoonotique, dans les foyers centre asiatique (Népal et Bangladesh), méditerranéen et américain (Brésil). Il existe trois espèces responsables de leishmaniose viscérale : *L. donovani* et *L. infantum* dans

l'Ancien Monde ; *L. chagasi* dans le Nouveau Monde. Les deux espèces le plus souvent incriminées sont *L. donovani* (sous continent indien, Chine et Afrique de l'est) et *L. infantum* (Bassin méditerranéen, Afrique subsaharienne, Amérique du sud, Asie centrale, Chine).



**Figure 14 : Distribution géographique des leishmanioses en 2013  
WHO-Global Health (Observatory data).**

#### **II.1.5.4. Leishmaniose dermique post-kala-azar**

La leishmaniose dermique post-kala-azar (LDPKA) est en général une complication de la leishmaniose viscérale, qui se manifeste par une éruption maculaire, papuleuse ou nodulaire, habituellement localisée sur le visage, le haut des bras, le tronc ou d'autres parties du corps. Elle touche principalement l'Afrique de l'est et le sous-continent indien, où l'on observe l'apparition d'une LDPKA chez 5 % à 10 % des patients atteints de kala-azar. La LDPKA survient couramment entre 6 mois et 1 an ou plus après la guérison apparente du kala-azar, mais elle peut également s'exprimer plus tôt. Les personnes atteintes de LDPKA sont considérées comme une source potentielle d'infection par *Leishmania*.

## **II.2. EPIDEMIOLOGIE DES LEISHMANIOSES**

### **II.2.1. Cycle parasitaire**

Au cours de leur cycle de vie complexe, les parasites *Leishmania* sont exposés à différents environnements extra et intracellulaires. Le parasite nécessite deux hôtes, un hôte invertébré (le phlébotome) et un mammifère (homme, rongeur, chien...). Les leishmanies sont caractérisées par des modes de reproduction « mixtes », avec alternance entre clonalité et reproduction sexuée (Akopyants *et al.*, 2009 ; Rougeron *et al.*, 2010).

Le cycle parasitaire commence par la piqûre de l'hôte par un phlébotome infecté (Fig. 15). Le phlébotome va alors prendre son repas sanguin et injecter, dans le derme, le parasite sous sa forme promastigote procyclique dans l'intestin moyen, évoluent par la suite en promastigote métacyclique infectieuse obstruant la cavité bucale de l'insecte, en même temps que sa salive laquelle semble jouer un rôle important dans le devenir de la maladie. Les promastigotes

injectés vont traverser les phagocytes mononucléés, généralement des cellules dendritiques (CD) et des macrophages, dans lesquels ils vont se transformer en amastigotes au sein des vacuoles parasitophores. Les amastigotes vont alors s’y multiplier jusqu’à la lyse des phagocytes. Les parasites sont alors libérés et vont à nouveau être phagocytés par les cellules avoisinantes. Le cycle est achevé lorsque, à l’issue d’un nouveau repas sanguin, le phlébotome prélève des phagocytes infectés. Dans le tube digestif de l’insecte, les amastigotes se différencient en promastigotes, 12 à 18 h après leur ingestion. Ces derniers se multiplient et migrent vers les glandes salivaires et la trompe jusqu’au prochain repas sanguin (Fig. 15).

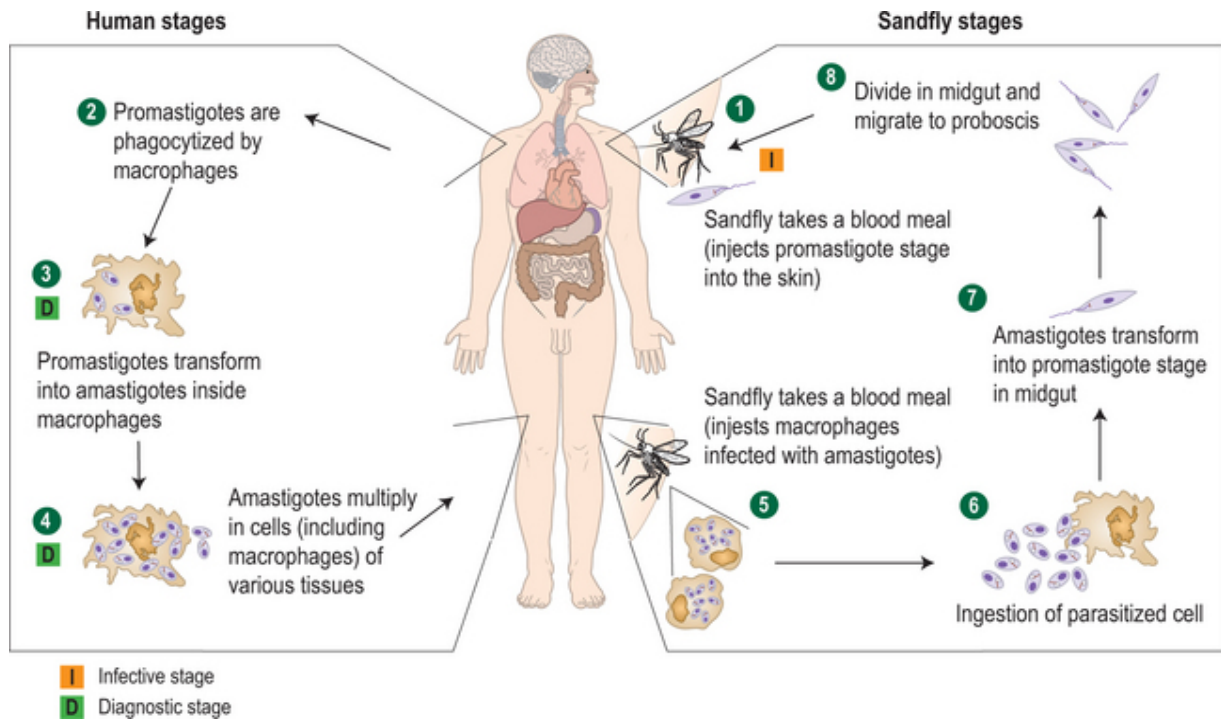


Figure 15 : Cycle de transmission du parasite *Leishmania* (<https://oncohemakey.com/leishmaniasis-2/>)

## II.2.2. Transmission

### II.2.2.1. Vectorielle

La transmission vectorielle est le mode le plus important dans la répartition de la leishmaniose. Il existe une spécificité zoologique au niveau du couple leishmanie-phlébotome, sachant que, chaque espèce de leishmanie possède un spectre d’hôtes relativement étroit au niveau générique, voire sub-générique. Par conséquent, on parle de groupe d’espèces de phlébotomes dites spécifiques, telles *P. papatasi*, le vecteur de *L. major*, ou *P. sergenti*, le vecteur de *L. tropica*, chez lesquelles le développement d’une seule espèce leishmanienne, éventuellement lié, un long processus coévolutif. Au contraire, il existe des espèces dites permissives, telle *P. (Adlerius) arabicus*, qui autorisent le développement d’autres espèces de leishmanies exceptionnelles comme *L. tropica*. A ce moment là, on parle d’un phénomène de capture parasitaire, liée à une opportunité écologique et épidémiologique très ponctuelle.

La maladie est rencontrée dans des zones où la végétation permet au phlébotome de passer la journée à l’abri du soleil, de la sécheresse ou de l’humidité excessives, et des courants d’air. Seule la femelle est hématophage, elle recherche un animal à sang chaud pour se nourrir.

De plus se nourrir de sang est utile à la maturation de ses œufs. Il faut 30 secondes à 50 minutes pour que l'estomac d'un phlébotome soit rempli, ce qui l'expose à de fréquents dérangements. Sa piqûre est plus ou moins douloureuse selon l'espèce. Chez l'homme ce sont les parties découvertes qui sont exposés aux piqûres (visage, cou, mains, pieds) et chez les animaux ce sont les zones les moins velues (museau et oreille). Il faut en moyenne un délai de 15 jours pour que le phlébotome, après un repas contaminé, puisse transmettre à son tour la maladie à un hôte animal sain.

### **II.2.2.2. Autres modes de transmission suspectés**

La question de nouveaux modes de transmission représente actuellement un important champ de recherche. Bien que les phlébotomes soient les seuls vecteurs biologiques adaptés aux leishmanies connus à ce jour, le rôle potentiel d'autres ectoparasites hématophages comme les tiques ou les puces dans la transmission de ce protozoaire a été proposé (Dantas-Torres *et al.*, 2010 ; Ferreira *et al.*, 2009), notamment en ce qui concerne *Rhipicephalus sanguineus* ou *Ctenocephalides felis*.

Parallèlement à la transmission vectorielle, une transmission sexuelle est rare, mais peut exister. Les contaminations lors du partage de seringues chez les toxicomanes ont pu jouer un rôle important notamment en Espagne (Gentilini *et al.*, 2012). La transmission congénitale de la leishmaniose d'une mère à sa descendance a été rapportée chez l'homme et a été étudiée de manière expérimentale chez la souris. Par ailleurs, la transmission de l'infection par des produits sanguins infectés a été documentée (Freitas *et al.*, 2006) et il s'agit d'enjeux majeurs dans les régions où des donneurs sanguins pourraient être porteurs asymptomatiques de l'infection. En 2009, la transmission vénérienne a été mise en évidence (Silva *et al.*, 2009).

## **II.3. REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES LEISHMANIOSES**

### **II.3.1. Répartition dans le Monde**

En 2020, sur les 200 pays et territoires ayant communiqué des données à l'OMS, 98 pays étaient considérés comme pays d'endémie. Cela comprend, 71 pays (72,5%) étaient considérés pays d'endémie à la fois pour la LC et la LV, 19 pays (19,4%) étaient considérés comme pays d'endémie pour la LC et 8 (8,1%) étaient des pays d'endémie pour la LV.

Dans la Région de la Méditerranée Orientale, 82% des pays et territoires étaient des pays et territoires d'endémie de la LC, 58% dans la Région des Amériques, 47% dans la Région européenne, 40% dans la Région Africaine et 36% dans la Région de l'Asie du sud-est.

Pour la LV, ces proportions étaient de 82% pour la Région de la Méditerranée orientale, 55% pour la Région de l'Asie du sud-est, 51% pour la Région Européenne, 33% pour la Région des Amériques et 30% pour la Région Africaine. Dans la Région du Pacifique Occidental, les proportions de pays d'endémie étaient plus faibles que dans les autres Régions, avec seulement 1 pays (la Chine) où la LV et la LC étaient toutes deux endémiques (OMS, 2020).

En 2020, 208 257 cas de LC et 12 838 cas de LV ont été signalés à l'OMS (OMS, 2021). Plus de 96 % des cas de LV dans le monde, ont été signalés dans 12 pays : Brésil, Érythrée, Éthiopie, Inde, Soudan, Soudan de sud, Kenya, Somalie, Irak, Népal, Tchad et la Yémen. Similairement, 7 pays ont signalé plus de 6000 cas de LC : Afghanistan, Algérie, Brésil, Colombie, Irak, Pakistan et République arabe syrienne et Tunisie, qui représentent ensemble >80% des cas signalés à l'échelle mondiale. En 2020, 880 cas importés de leishmaniose

cutanée ont été signalés dans le monde (sans données disponibles pour la Turquie, qui a signalé à elle seule 838 cas importés de LC en 2018). En comparaison, le nombre de cas importés de leishmaniose viscérale était plus faible, avec un total de 99 cas importés signalés dans le monde en 2020 (sans données disponibles pour l'Ouganda, qui a signalé à lui seul 64 cas importés de LV en 2018).

Plusieurs études épidémiologiques (dans plusieurs pays et régions), ont été réalisées pour évaluer et décrire la charge mondiale de la leishmaniose cutanée. Récemment, l'étude du fardeau mondial de la LC publié en 2016, dans le journal "the Lancet Infectious Diseases" par Dr. Chante KARIMCHANI, Financé la Fondation Bill & Melinda Gates, déclare que, l'Afghanistan avait le taux d'incidence le plus élevé (623,9 cas/10 000 habitants), suivi de la Syrie (406,3 cas/10 000 habitants), Palestine (222,1 cas/10 000 habitants) et Nicaragua (180,8 cas/10 000 habitants) en dernier rang.

Les leishmanioses sont considérées comme étant la deuxième cause de mortalité d'origine parasitaire après le paludisme (Hamrouni, 2019).

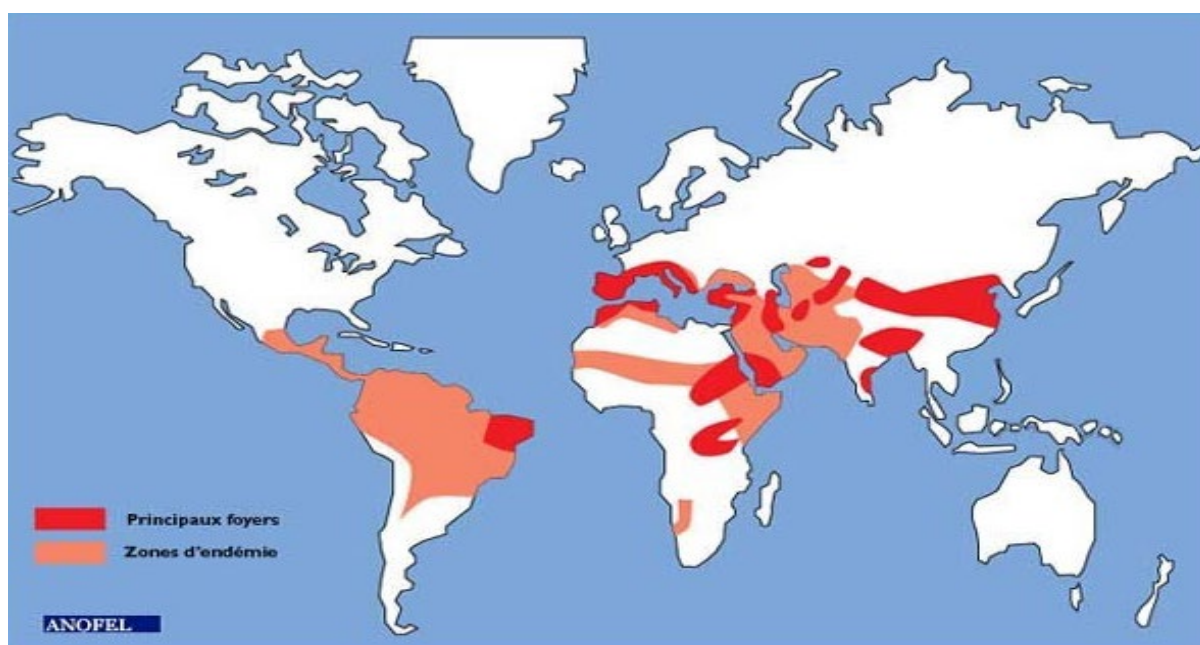


Figure 16 : Répartition géographique des leishmanioses (ANOFEL, 2014)

### II.3.2. Situation au Maroc

La leishmaniose est connue au Maroc depuis plus d'un siècle. Les premiers cas de LC au Maroc, ont été décrits par Foley et Vialatte en 1914 (Foley *et al.*, 1914). La première mention de leishmaniose viscérale (LV) humaine au Maroc, a été faite en 1921 à Tanger par Remlinger (Rhajaoui, 2011).

En 1982, Rioux *et al.* a identifié *L. major* chez le rongeur *Meriones shawi* dans la province de Tata et l'a isolé par la suite de cas humains dans le sud-est du Maroc (Rioux *et al.*, 1982). En 1987, Marty *et al.* a confirmé la présence de *L. tropica* dans une lésion de LC d'un enfant marocain admis dans un hôpital français après un séjour à Tanant (Marty *et al.*, 1989). En 1991, un cas de LC dû à *L. tropica* a été signalé pour la première fois dans le centre du Maroc (Dereure *et al.*, 1991).

Avant 1993, l'absence d'un système de recueil de l'information épidémiologique concernant les leishmanioses, a fait que les données disponibles ne reflétaient guère la situation épidémiologique réelle au Maroc. La LC est considérée depuis 1996 comme une maladie à déclaration obligatoire. Par conséquent, chaque établissement de santé public doit déclarer tout nouveau cas de LC à l'unité centrale de surveillance épidémiologique dans la semaine qui suit son diagnostic. Entre 1994 et 1999, en tenant compte des déclarations de cas faites par les provinces et préfectures durant cette période, la situation des leishmanioses a pu être illustrée en trois entités épidémiologiques (Laamrani-Idrissi, 2000): la leishmaniose cutanée zoonotique à *L. major*, la leishmaniose cutanée anthroponotique à *L. tropica* et les leishmanioses cutanée et viscérale à *L. infantum*.

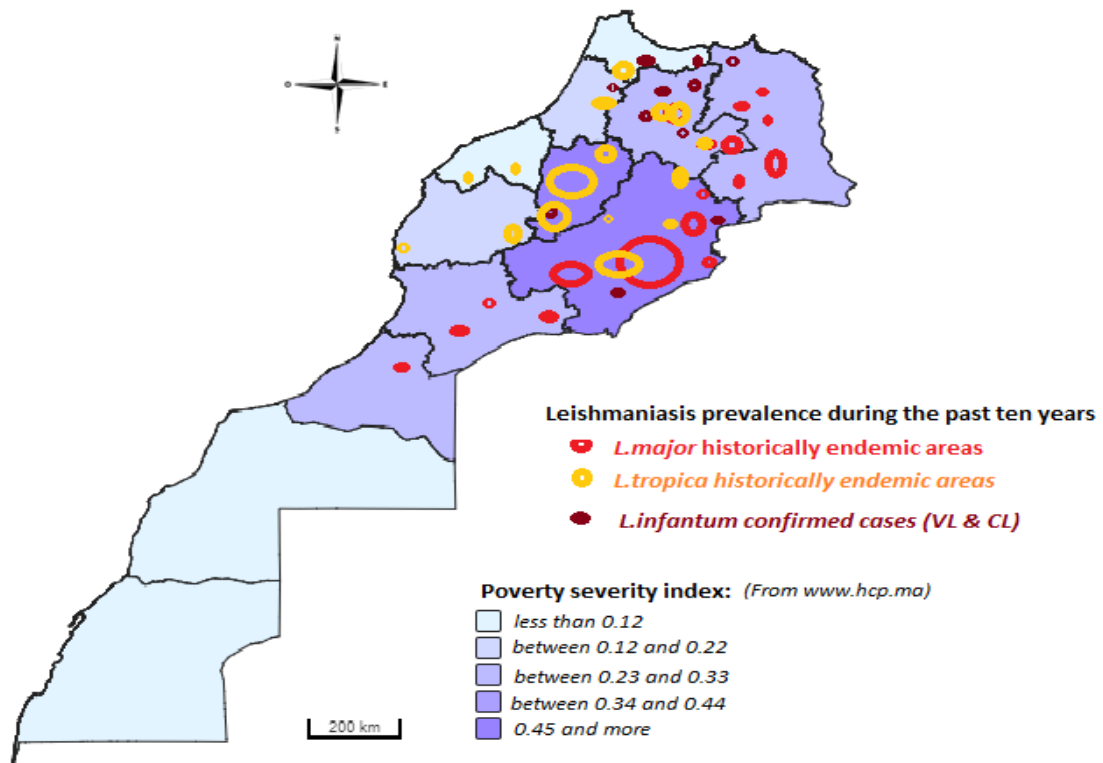
Une étude des différentes espèces de rongeurs et de leur rôle épidémiologique, en tant que réservoirs potentiels de la LC zoonotique, a été faite au Maroc par Echchakery *et al.* en 2015. En 2017, les mêmes auteurs ont signalé la présence de *L. infantum* et de *L. tropica* chez des rongeurs capturés dans les provinces d'Essaouira, Chichaoua, Al Haouz et Marrakech (Echchakery *et al.*, 2017). Avant 2013, il n'existait aucune donnée sur le nombre de cas de LC déclarés par localité, par conséquent, impossible de cartographier la localisation exacte des cas de LC. Les informations sur les cas étaient liées à la ville principale dans chaque zone de déclaration (Bennis, 2018). Les données épidémiologiques fournies durant la période 1998-2017, par l'unité des maladies parasitaires du ministère de la santé, montrent un pic épidémique en 2010. Au cours de cette période plus de 66 000 citoyens ont eu une LC sur une population estimée de 27 à 34 millions d'habitants (Bennis, 2018).

Au Maroc, les lésions cutanées chroniques constituent un problème de santé publique important dans certaines régions du pays. Ce qui a poussé les chercheurs marocains à effectuer plusieurs études pour décrire la charge épidémiologique de la LC (Zougaghi *et al.*, 2011 ; Tlamçani & Er-Rami, 2014 ; El Alami & Aoufi, 2015 ; Mezouari & Farouki, 2015 ; Kahime *et al.*, 2016 ; Nassiri *et al.*, 2016 ; El Miri *et al.*, 2016 ; El Alem *et al.*, 2016 ; Karin Khani *et al.*, 2016 ; Sadeq, 2016 ; Laboudi *et al.*, 2017 ; Alaoui *et al.*, 2017, Soudani, 2019 ; El-Mouhdi, 2019 ; Baghdad *et al.*, 2019 ; Agharbi *et al.*, 2020 ; Zeouk *et al.*, 2020...).

Les lésions cutanées sont causées par trois espèces du parasite *Leishmania* : *L. major*, *L. tropica* et *L. infantum*. Ainsi, sur le plan éco-épidémiologique, la zone de distribution de *L. major* se localise dans le sud et le sud-est du pays, où *P. papatasi* est le vecteur et l'espèce de rongeurs *Meriones shawi* est le principal réservoir. Tandis que la leishmaniose cutanée à *L. tropica*, est endémique dans les zones semi arides, situées sur le versant ouest des montagnes de l'Atlas, allant d'Essaouira au sud jusqu'au pré-Rif, où la transmission se fait d'homme à homme (anthroponotique) (El Alami & Aoufi, 2015). Recemment dans cette zone "du pré-Rif", il a été confirmé notamment dans les provinces de Taounate, Taza, Séfrou, Sidi Kacem et Ouezzane, la cohabitation des formes cutanée à *L. tropica* et *L. infantum* (Hmamouch *et al.*, 2014 ; Hakkour *et al.*, 2016 ; El Miri *et al.*, 2016). Finalement, 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.

L'épidémiologie de la leishmaniose cutanée due à *L. tropica* au Maroc est bien plus complexe, et moins bien comprise, que celle de la leishmaniose viscérale et de la leishmaniose cutanée zoonotique. Les études ont montré des écarts entre les parasites chez l'homme et les vecteurs, ce qui demande des recherches plus poussées et laisse fortement croire à une espèce réservoir inconnue (OMS, 2018).

Au cours de ces dernières années, les études moléculaires sur le parasite *Leishmania* ont suscité un intérêt croissant (Amro *et al.*, 2013 ; Es-Sette *et al.*, 2014 ; Mouttaki *et al.*, 2014 ; El Miri *et al.*, 2016 ; Sebti *et al.*, 2016). La figure 16, montre la distribution des trois espèces de *Leishmania* durant le période (2003-2014) (Bennis, 2018).



**Figure 17 : Répartition géographique des trois espèces de *Leishmania* impliquées dans la transmission de la LC au Maroc (2003 à 2014). Haute commission de la planification marocaine (<http://rghencartes.hcp.ma>)**

#### **II.4. LES RESERVOIRS**

Suivant une dernière mise à jour de l’Organisation Mondiale de la Santé, 70 espèces animales, dont l’être humain, sont des réservoirs naturels (mammifères domestiques ou sauvages) des parasites du genre *Leishmania*, chez lesquels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononuclées (OMS, 2019). Dans certains cas, l’Homme est l’unique réservoir du parasite, le tableau 3 représente les différents réservoirs des leishmanies à l’échelle mondiale (OMS, 1990).

On peut qualifier les leishmanioses d’anthroponoses ou de zoonoses, selon que l’Homme soit l’hôte direct ou l’hôte accidentel du vecteur. En effet, certains vecteurs sont attirés par l’Homme alors que la majorité a plutôt tendance à infecter d’autres mammifères. Ceux-ci varient selon l’habitat. Garnham distingue trois foyers, à savoir :

- **Foyers primaires** : Afrique de l’est, sud-Américain, Asie centrale dans lesquels les animaux sauvages jouent le rôle de base (renard, chacal et rongeurs sauvages).

- **Foyers secondaires** : Foyers méditerranéens, chinois et sud-américain. Dans ces foyers la maladie est une anthroponose dont le principal réservoir est le chien, l'Homme n'étant atteint qu'accidentellement.

- **Foyers tertiaires** : L'Inde et le Soudan sont le siège de véritables épidémies interhumaines. L'Homme constitue le principal réservoir et les vecteurs sont purement anthropophiles (Kalil, Zijlstra *et al.*, 2002).

Le rongeur *Psammomys obesus* constitue le réservoir primordial de la LCZ dans certains foyers de LC à *L. major*, surtout au Maghreb et au Moyen Orient (Belazzoug, 1983 ; Ben Ismail et Ben Rachid, 1989 ; Harrat et Boudrissa, 2008).

Au Maroc, *Meriones shawi* est le réservoir indispensable de *L. major* (Rioux *et al.*, 1982 ; 1986c). Pareillement, Echchakery *et al.* (2017) ont permis d'isoler et d'identifier, pour la première fois, par l'application des analyses moléculaires *L. infantum* dans *M. musculus*, *R. rattus*, *R. norvegicus* et *L. tropica* dans *M. musculus*. Ces rongeurs cosmopolites, vivent en relation étroite avec les habitations humaines, et peuvent avoir des sérieuses implications dans les cycles de transmission à la fois de *L. infantum* et *L. tropica*.

**Tableau 3 : Les réservoirs des leishmanies (OMS, 1990)**

Parasite	Réservoir	Autres animaux infectés
<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	Homme Chien	Canidés sauvages
<i>L. tropica</i> <i>L. killicki</i> <i>L. aethiopica</i> <i>L. major</i>	Homme Homme Damans Gerbillidés	Chien, rat
<i>L. mexicana</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. aristidesi</i> <i>L. enriettii</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. guyenensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. lainsoni</i> <i>L. naiffi</i> <i>L. shawi</i>	Rongeurs Rongeurs Rongeurs Cobayes Inconnu Paresseux, Tamandua Paresseux Agouti paca Tatous Singes, Carnivores, Paresseux	Rongeurs, Marsupiaux, Chien, Singes, Kinkajou

## II.5. DIAGNOSTIC ET PROTECTION CONTRE LES LEISHMANIOSES

Le diagnostic des leishmanioses repose sur la mise en évidence du parasite, ou de son acide désoxyribonucléique (ADN), et sur la recherche des traces immunologiques de l'infection, anticorps circulants ou hypersensibilité retardée (Le Fichoux *et al.*, 1999), dans différents prélèvements effectués à partir de lésions cutanées, du sang, des ganglions, ou de la moelle osseuse (Hamrouni, 2019).

### **II.5.1. Diagnostic de LC**

Le diagnostic de la LC peut parfois être difficile, car la lésion imite à la fois des affections infectieuses et malignes. Le diagnostic de la LC repose sur des caractéristiques cliniques (données épidémiologiques) et des tests de laboratoire. De nombreuses méthodes de diagnostic de LC ont été décrites avec une énorme variation de la précision du diagnostic :

**Méthodes classiques (actuelles) :** La recherche d'amastigote peut être effectuée en utilisant une microscopie optique pour examiner directement un frottis coloré au Giemsa ou une culture in vitro de lésion. Cette méthode reste une méthode de choix pour le diagnostic au laboratoire de la LC, sachant que la sensibilité de la microscopie par rapport à la PCR est souvent variable.

**Diagnostic immunologique (Sérologie) :** La sérologie, visant à mettre en évidence la présence d'anticorps anti-*Leishmania*, peut faire appel à plusieurs techniques ou tests immunologiques différentes à savoir : (test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), test d'immunofluorescence indirecte (IFAT), Western Blot, test à flux latéral et test d'agglutination directe) (De Vries *et al.*, 2015). Elle est considérée comme un élément majeur du diagnostic de la LV, mais n'est pas utile pour les formes cutanées et cutanéomuqueuse, pour lesquelles les réponses anticorps ont un rôle marginal (Hamrouni, 2019).

**Intradermoréaction (IDR) :** L'IDR à la leishmanine est peu utilisée pour le diagnostic, parce qu'elle ne permet pas la distinction entre une infection récente et une infection résolue. Elle est négative au cours de la phase active de la LV et ne positive qu'après traitement (Pearson et Sousa, 1996). L'IDR est surtout utilisée dans les études épidémiologiques pour déterminer la prévalence de l'infection (Bettaieb *et al.*, 2014).

**Diagnostic moléculaire (PCR) :** Au cours des dernières décennies, plusieurs méthodes basées sur la PCR, y compris les dosages PCR en temps réel, ont été développées pour la détection, la quantification et l'identification des espèces de *Leishmania* (Moreira *et al.*, 2017). Toute méthodes basées sur la PCR pour le diagnostic de la LC, est considérée absolument le plus sensible et d'avantage, que les autres méthodes classiques précitées. La PCR est aussi utile dans le suivi thérapeutique par quantification de la charge parasitaire chez les patients atteints d'une LV (Verma *et al.*, 2010).

Nouvellement au Maroc, dans les zones endémiques, rurales et isolés de la LC, un nouvel outil de diagnostic rapide, basé sur la détection d'antigène, a été mis au point, où les conditions pour les méthodes de diagnostics précitées, ne sont pas toujours disponibles (Bennis *et al.*, 2018). Ce Test de **Diagnostic Rapide (TDR)**, est recommandé pour dix espèces de *leishmania* y compris *L. tropica*, *L. major* et *L. infantum*. Le test, se caractérise par sa rapidité, sa facilité, avec la possibilité de donner les résultats lors de la première visite des patients (durée estimée de moins de 40 mn). D'après une récente étude tunisienne, le test doit être utilisé sur un échantillon de broche dentaire d'un ulcère de la peau âgé, de moins de 4 mois (Olliaro *et al.*, 2013).

Malgré sa faible sensibilité, qui peut être éventuellement être optimisé en améliorant la procédure d'échantillonnage, ce nouveau TDR, constitue un complément utile à la gestion clinique de la LC au Maroc, afin de défendre le droit des citoyens marocains touché par cette maladie (conformément à la nouvelle constitution marocaine de 2011), à être détecté correctement et rapidement avant d'utiliser les traitements antimoniaux existant.

### **II.5.2. Traitements des Leishmanioses**

Le traitement de la leishmaniose dépend de plusieurs facteurs, parmi lesquels la forme clinique, les affections concomitantes et l'espèce parasitaire. Actuellement, aucun traitement n'est dépourvu d'effets secondaires ou de contraintes logistiques liées à son administration. Par ailleurs, la toxicité et la résistance aux molécules utilisées, ont été décrits (Ponte-Sucre *et al.*, 2017).

Les Antimoniés pentavalents, comme l'antimoniote de méglumine (Glucantime®), ont été développés en 1945 et demeurent le traitement de premier choix pour la LV à *L. infantum* et la LC dans la plupart des régions du monde. Le traitement est peu onéreux et convient donc aux zones d'endémie à revenu faible. Les antimoniés ont de nombreux effets secondaires et sont contre-indiqués en cas d'insuffisance rénale, cardiaque et/ou hépatique et demandent un suivi biologique et clinique (Ponte-Sucre *et al.*, 2017).

L'Amphotéricine B (Fungizone®), est une autre molécule utilisée pour le traitement des leishmanioses. C'est une molécule antifongique et anti-leishmanienne. Elle est spécialement utilisée dans le traitement des leishmanioses graves (viscérales et muqueuses) (Amato *et al.*, 2008). Ensuite, cette molécule représente une solution au problème de la résistance aux antimoniés. Les formulations lipidiques d'amphotéricine B (AmBisome) sont moins toxiques que les amphotéricines B deoxycholate. Ce traitement profite du meilleur index thérapeutique est désormais mis en avant en Europe, aux états unis et au Brésil (Gentilini, 2012).

La Pentamidine (Pentacarinat®) est principalement pratiquée dans le traitement des LC lors d'un court traitement. La Miltéfosine (Impavido®) est le premier médicament oral disponible pour le traitement de la LV et la LC (Sindermann et Engel, 2006). Il dispose une activité immunomodulatrice et il est puissant et moins toxique que la pentamidine ou les antimoniés. Il est donc caractérisé par son efficacité et sa tolérance, mais il est contre-indiqué chez la femme enceinte. Les autres anti-leishmaniens comme l'aminosidine sulfate, ou paromomycine sont particulièrement adoptés pour guérir la LV à *L. donovani* en Inde et la LC à *L. major*.

Le potentiel de guérison par des plantes a été reporté par plusieurs études récentes (Aponte *et al.*, 2009 ; Yannick Estevez, 2009 ; Et-Touys *et al.*, 2016 ; Bouyahya *et al.*, 2017 ; Zeouk *et al.*, 2020). En revanche, et à l'exception de l'étude qui a été nouvellement publiée par Slaoui *et al.* en 2015, montrant l'efficacité du laser dans la réduction des cicatrices érythémateuses au visage causées par la LC chez trois patients, aucune autre recherche clinique visant à évaluer de nouvelles interventions thérapeutiques en LC n'a été réalisée au Maroc.

### **II.5.3. Contrôle du vecteur et des réservoirs**

Au Maroc, dans les années 1980, le ministère de la Santé (MS) a mis en place une unité de gestion et de contrôle des maladies parasitaires pour traiter, notamment, le problème de la LC dont l'objectif principal était de prévenir les cicatrices défigurantes de ce fléau. La Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies (DELM), considère la LC principalement comme une maladie d'auto-guérison chez les personnes immunocompétentes.

Les professionnels de la santé se réfèrent principalement aux éditions les plus récentes du Guide de lutte contre la leishmaniose (Juillet 2018), qui définit trois interventions pour lutter contre la leishmaniose cutanée (DELM, 2018) :

- ☆ Dépistage de masse au niveau des foyers exposés ;
- ☆ Prise en charge précoce de 100% des cas dépistés ;
- ☆ Renforcement des actions de lutte contre le vecteur et le réservoir.

#### **a. Prophylaxie générale**

##### **• Lutte contre les phlébotomes**

- Un premier moyen de lutter contre la leishmaniose est évidemment de limiter la présence du vecteur, pour réduire les possibilités de piqûres. En matière de lutte contre les phlébotomes, la stratégie à mettre en œuvre va dépendre du comportement du vecteur visé, qui peut être essentiellement endophile, péridomestique ou sylvestre. Il est possible de réduire le risque d'infestation des zones de peuplement en coupant les arbres et en débroussaillant le terrain, tout autour des habitations dans un rayon d'au moins 1 km (OMS, 2010). La principale méthode de lutte chimique contre les phlébotomes, consiste à effectuer des pulvérisations intradomiciliaires d'insecticides à effet rémanent, ou encore à traiter les lieux de repos des espèces sylvestres. Au Pérou, une étude utilisant le lambda-cyhalothrin a démontré que l'épandage de cet insecticide sur les murs intérieurs des habitations engendrait une diminution significative des phlébotomes (Davies *et al.*, 2000).
- Les moustiquaires imprégnées d'insecticides autour des lits, sont utilisées également, pour empêcher les piqûres durant la nuit. Cette méthode a permis de diminuer l'incidence de la leishmaniose en Syrie et au Soudan (Elnaiem *et al.*, 1999). Malheureusement, l'usage de moustiquaires est limité, puisque leur réimprégnation est coûteuse. Par contre, l'utilisation de moustiquaires où l'insecticide serait incorporé aux fibres de polyéthylène, pourrait résoudre ce problème (Vythilingam *et al.*, 1999).

##### **• Lutte contre le réservoir de parasites**

Lorsque le réservoir de parasite est l'homme, cela nécessite le diagnostic et le traitement des humains. Mais lorsqu'il s'agit des réservoirs zoonotiques, le problème des chiens infectés semble très important. De plus, le traitement à l'antimoine de ces animaux empêche très peu la transmission (Gramiccia *et al.*, 1992). Dans le bassin méditerranéen, l'élimination des chiens infectés est inacceptable pour la population. Pour pallier à ceci, quelques études ont démontré l'efficacité des colliers imprégnés d'insecticides pour la protection des chiens contre l'infection, notamment en Italie (Maroli *et al.*, 2001), en France (Killick-Kendrick *et al.*, 1997) et en Iran (Halbig *et al.*, 2000).

La salive du vecteur utilisée comme vaccin, a permis d'immuniser des souris contre une infection ultérieure à *L. major* (Belkaid *et al.*, 1998 ; Kamhawi *et al.*, 2000), et semble porteuse d'un avenir très intéressant pour la mise au point d'un vaccin contre la leishmaniose humaine.

#### **b. Vaccination contre les leishmanioses**

Malgré que la guérison de la leishmaniose cutanée induise une immunité à vie chez les individus touchés, il n'existe pas de vaccin contre la leishmaniose. Pour être efficaces, les vaccins potentiels doivent être spécifiques, induire une réponse immunitaire à médiation cellulaire (type Th1) et provoquer une mémoire immunologique à long terme.

Chez l'homme, la guérison est généralement associée au développement d'une immunité à la réinfection. Chez les individus guéris, une réponse immune cellulaire spécifique des Ags parasitaires est observée aussi bien *in vivo*, lors de la réaction d'hypersensibilité retardée en réponse au test cutané à la leishmanine, qu'*in vitro*, lors de la stimulation des PBMC avec des Ags leishmaniens (Ajday et al., 2000).

L'OMS et les experts Français (rapport technique sur le contrôle de la leishmaniose), appuient sur plusieurs approches dites moléculaires, génétiques, pharmacologiques et immunologiques de pointe, prenant en compte les différents aspects cliniques et parasitologiques de la maladie qui permet en fin de compte la guérison dans l'immense majorité des cas.

L'histoire de la vaccination contre les leishmanioses a commencé avec les vaccins vivants ou leishmanisation. Cette pratique a, par la suite, été abandonnée et plusieurs recherches se sont focalisés sur les vaccins de première génération incluant des vaccins à base de parasites tués ou de parasites vivants atténués, les vaccins de seconde génération (sous unitaires) ou les vaccins à bases d'ADN.

#### • ***Leishmanisation***

Cette approche repose sur l'injection de parasites vivants virulents, dans des parties peu exposées du corps d'individus sains, afin de prévenir la formation de lésions laissant des cicatrices permanent après une infection naturelle (Okwor et al., 2012). Malgré que ce soit la seule stratégie de vaccination précieux chez l'homme jusqu'à nos jours, la leishmanisation a dû être inutilisé compte tenu de plusieurs complications comme la persistance des parasites et la probabilité de développement de lésions chroniques chez des individus immuno-déprimés (Greenblatt, 1980).

#### • ***Vaccin de première génération***

Les vaccins de première génération sont composés de parasites vivants atténués, de parasites tués, ou d'extraits antigéniques bruts de *Leishmania*.

#### • ***Vaccin de seconde génération***

Ces vaccins sont constitués soit de protéine recombinante individuelle soit d'une combinaison de protéines ou polyprotéines, commandées avec un adjuvant. Les vaccins sous-unitaires ou de seconde génération, ne présentent aucune menace de causer la maladie. Les inconvénients sont les coûts élevés de production et la probabilité que certaines protéines ne puissent pas être reconnues par la majorité des individus.

#### • ***Vaccin à base d'ADN***

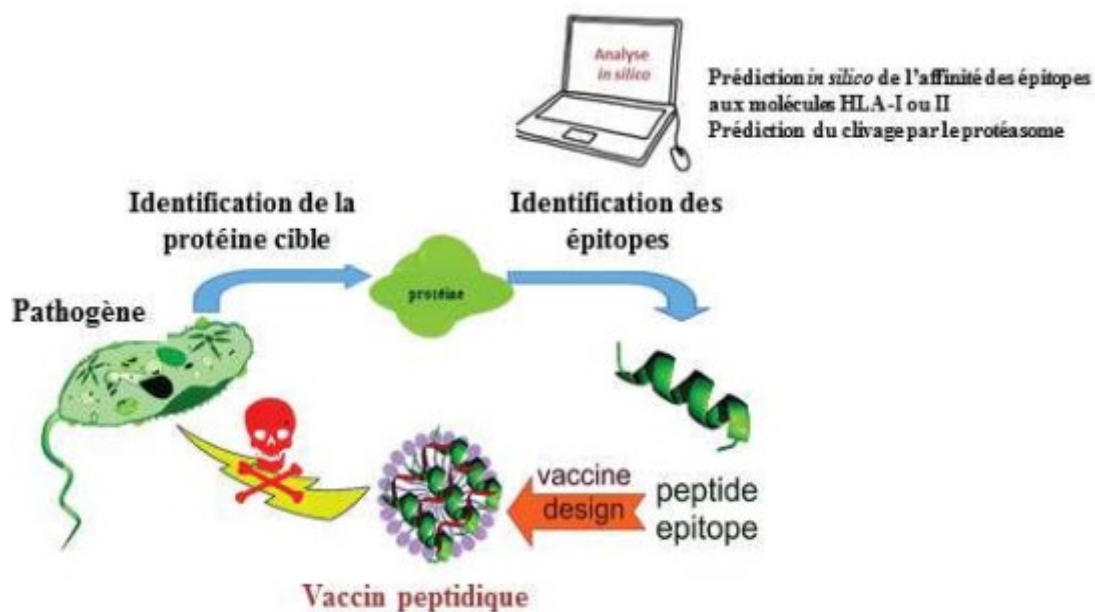
Cette méthode, implique l'introduction directe dans les tissus appropriés, d'un plasmide contenant la séquence d'ADN cible codant pour le ou les Ags contre lesquels une réponse immunitaire est recherchée. Ce type de vaccin, offre un certain nombre d'avantages, comme l'absence de matériel infectieux, une meilleure stabilité, un coût de production peu élevé et la capacité à induire une réponse T CD4+ et T CD8+. Les inconvénients de cette approche sont des risques d'intégration de l'ADN vaccin dans le génome de l'hôte et une réponse immune anti-ADN (Khan, 2013).

• **Vaccin peptidique**

Actuellement, l'avancement de la bioinformatique et des algorithmes, ont permis d'adopter le génome ou le protéome complet d'un pathogène, afin de choisir des régions aptes être immunogènes au sein des Ags, par des approches *in silico*, sans avoir recours à la culture, *in vitro*, du pathogène. Cette méthode, appelée la vaccination inverse, avoir pour nature de retrouver au sein du génome ou du protéome, les épitopes immuno-dominants, habiles de déclencher une réponse immunitaire typique.

La vaccination inverse, a démontré son potentiel dans l'identification d'un vaccin contre le méningocoque du groupe B (MenB) (Bexsero®), qui a été approuvé par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (Food and Drug Administration (FDA)) (O'Ryan *et al.*, 2014). Nombreux travaux ont utilisé cette méthode pour engendrer des vaccins peptidiques synthétiques contre plusieurs maladies parasitaires comme le paludisme, qui compte actuellement neuf essais cliniques utilisant de tels vaccins. Ces essais ont donné des résultats encourageants (Nardin, 2010).

Un vaccin peptidique certain doit pouvoir se lier à des molécules HLA parmi les plus représentées dans la population mondiale, afin de confirmer une bonne couverture vaccinale. La prédiction des épitopes est réalisée à l'aide de l'immuno-informatique, qui pratique différents algorithmes, permettant de prédire la liaison des épitopes aux molécules HLA de classe I ou II, le clivage par le protéasome ou encore les interactions avec le transporteur TAP (Transporter associated with Antigen Processing) (Fig. 18).



**Figure 18 : Principe des vaccins peptidiques (Skwarczynski et Toth, 2016) (avec modification in (Rahmouni, 2019)).**

Des vaccins peptidiques, ont aussi été décrits contre le VIH (Purcell *et al.*, 2007) et la toxoplasmose (Wang *et al.*, 2013). Egalement, plusieurs travaux ont considéré la vaccination peptidique thérapeutique contre le cancer (Hirayama et Nishimura, 2016).

# **Présentation de la zone d'étude, Matériels et Méthodes**

**Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude**

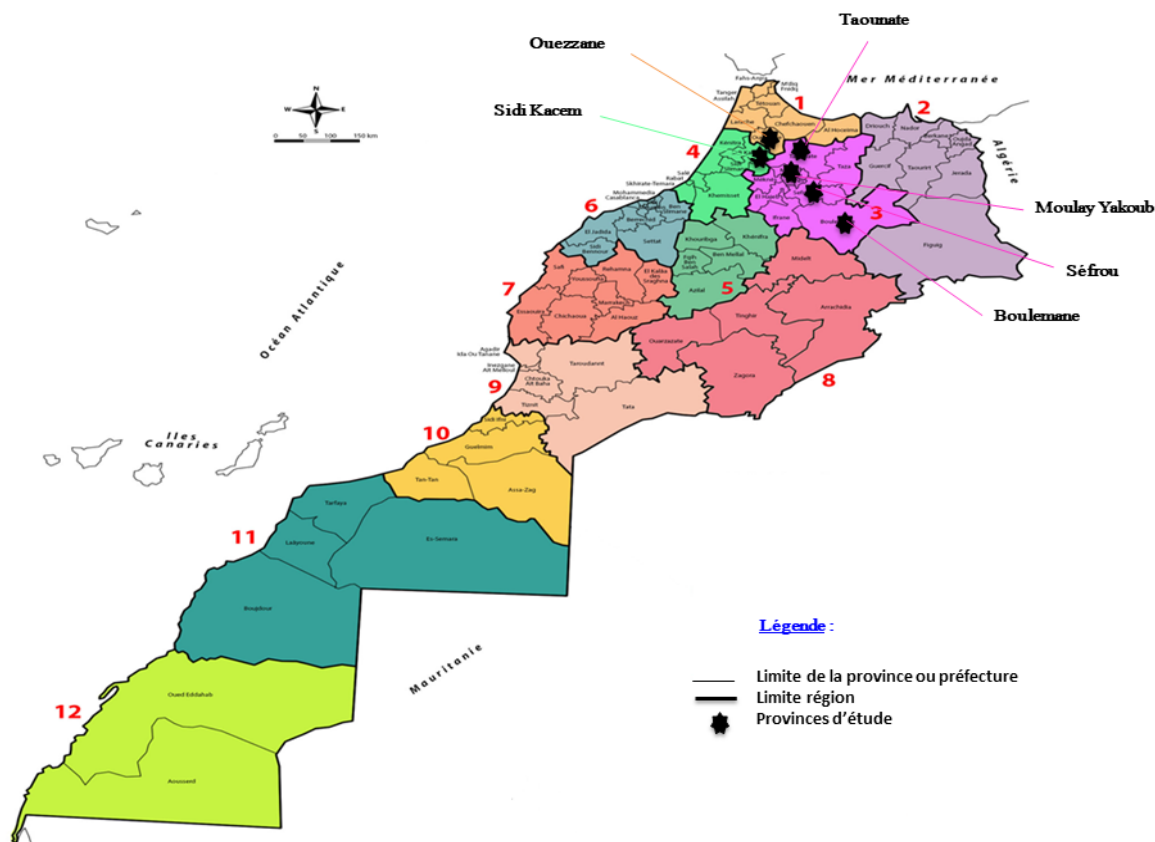
**I. DONNEES GENERALES SUR LA ZONE DE L'ETUDE**

Les phlébotomes ont été capturés au cours de diverses missions entomologiques, effectuées au niveau de dix localités (Tab. 4), qui présentent des caractéristiques géographiques distinctes, au niveau de différents biotopes, de foyers de leishmaniose ainsi qu'au niveau des zones non endémiques. Les localités appartiennent à six provinces au nord du Maroc : Sidi Kacem, Ouezzane, Taounate, Séfrou, Moulay Yakoub et Boulemane (Fig. 19).

Par ailleurs, les stations de capture furent choisies de telle façon à couvrir le maximum de niches écologiques (milieu de ponte et de repos). Ce choix a été inspiré par le nombre de cas positifs de leishmaniose humaine relevé au niveau de cette région.

**Tableau 4 : Provinces et localités retenues pour l'inventaire des phlébotomes dans la région durant la période de l'étude**

Province	Localité(s)
Sidi Kacem	Zirara et Hjafna Bogdour
Ouezzane	Sidi Soufi, Bouchrif et Bni Rbea
Taounate	M'rouj
Séfrou	Aît Chaâb et Aïchoune
Moulay Yaâkoub	Ouled Aïd
Boulemane	Bouaâsem



**Figure 19 : Localisation géographique des provinces de la zone d'étude. Haute commission de la planification marocaine (<http://rgphencartes.hcp.ma>)**

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

### I.1. Présentation générale des provinces

#### I.1.1. Province de Sidi Kacem

La province de Sidi Kacem est située dans la région Rabat-Salé-Kénitra (d'après le nouveau découpage territorial du 20 février 2015). Après sa séparation effective en 2009 de la nouvelle province d'Ouezzane, Sidi Kacem s'étend sur une superficie de 3061 Km<sup>2</sup> (Fig. 20), elle est limitée au nord par la province d'Ouazzane ; au sud par la Wilaya de Meknès ; à l'est par les provinces de Moulay Yaâkoub et de Taounate et à l'ouest par la province de Kénitra (DRHU, 2007 ; DP Sidi Kacem, 2010). La proximité de la province des grands centres urbains : Rabat, Fès, Meknès et Kénitra lui confère une place charnière entre le nord, l'est et le sud du Maroc.

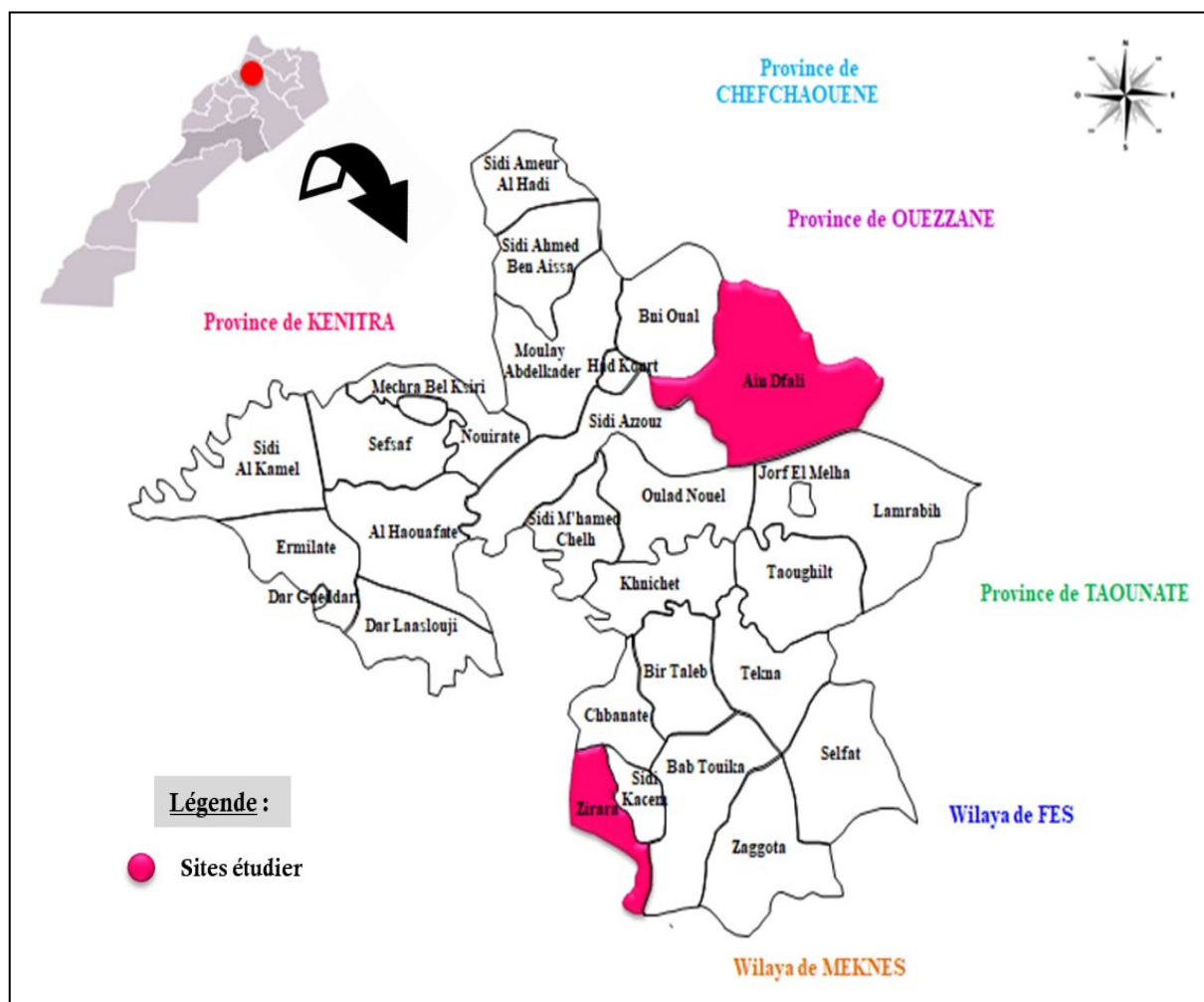


Figure 20 : Carte de la province de Sidi Kacem, montrant les sites de l'étude (Zirara et Ain Dfali).

Deux localités urbaines : Zirara (Secteur Zirara) et Hjafna bougdor (Secteur Ain Dfali), situées dans la région de plaine, respectivement au sud et au centre de la province, propices au développement des phlébotomes, sont choisies pour leur intérêt écologique ou encore épidémiologique.

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

### I.1.2. Province d'Ouezzane

La province d'Ouezzane, créée en 2009, située au nord-ouest du Maroc, dans le Rif occidental, au sud de l'oued Loukkous. Ouezzane, est une subdivision à dominante rurale de la région marocaine de Tanger-Tétouan-Al Hoceïma, et s'étend sur une superficie de 1861,2 km<sup>2</sup> (d'après le nouveau découpage territorial du 20 février 2015) (Fig. 21).



Figure 21 : Carte de la province d'Ouezzane, montrant les sites de l'étude (Sidi Bousber, Ounnana et Zghira).

Trois localités rurales, situées au sud de la province dans la région montagneuse : Bouchrif (Secteur Ounnana), Sidi Soufi (Secteur Sidi Bousber) et Bni Rbea (Secteur Zghira), propices au développement des phlébotomes, sont choisies pour étudier la faune phlébotomienne.

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

### I.1.3. Province de Taounate

La province de Taounate est située dans la partie septentrionale du Royaume, au sein de la région Fès-Meknès (d'après le nouveau découpage territorial du 20 février 2015) (Fig. 22).

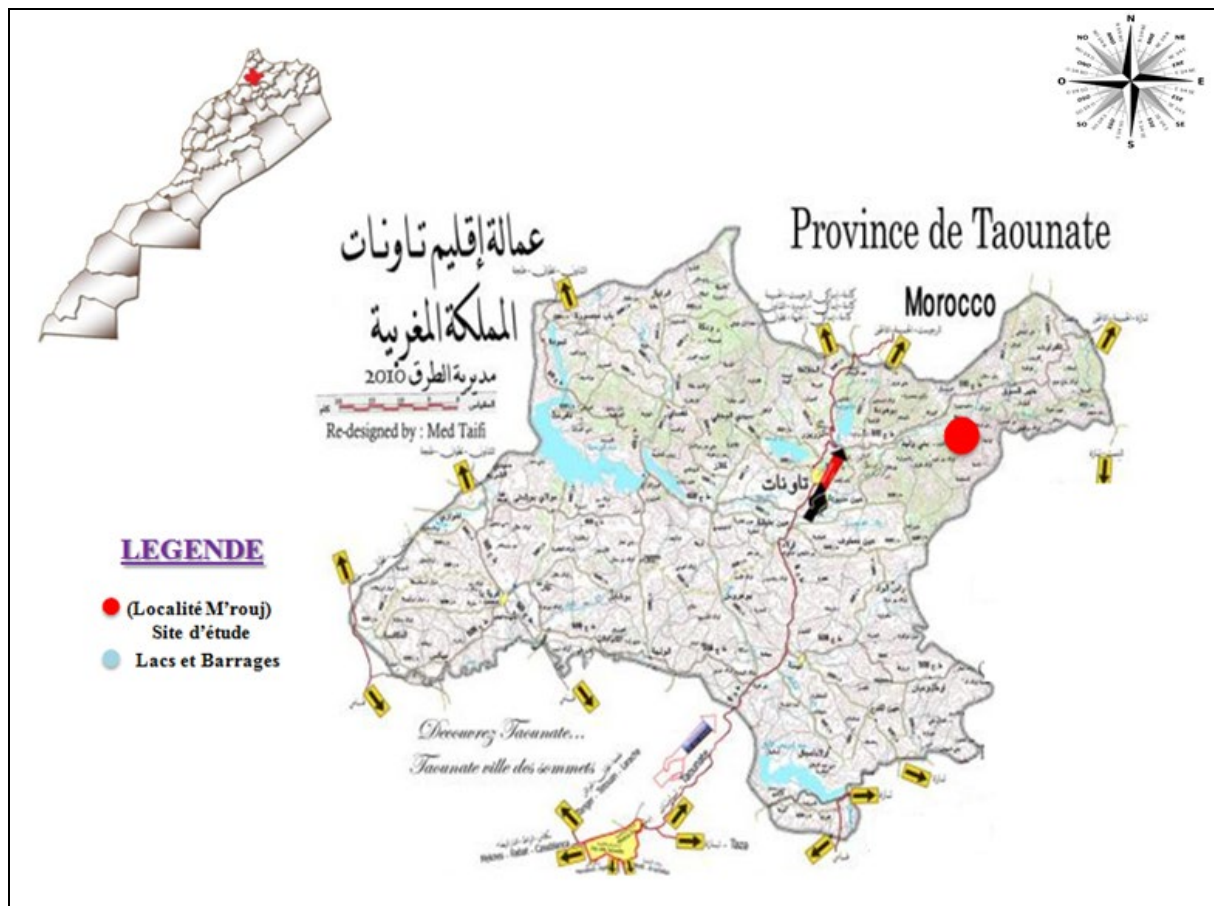


Figure 22 : Carte de la province de Taounate, montrant le site d'étude, Douar M'rouj.

La province de Taounate est limitée par : les provinces d'El Houceima et Chefchaouene au nord, la Wilaya de Fès au sud, la province de Taza à l'est et les provinces de Sidi Kacem et Ouazzane à l'ouest. Située dans sa quasi-totalité dans le pré-Rif, la province de Taounate est constituée de deux parties bien distinctes :

**Partie nord :** Relief montagneux, elle couvre environ 40% de la superficie totale de la province, sa topographie est orientée vers le sud, c'est-à-dire vers l'oued Ourgha dont les quatre principaux affluents sont : Sra, Amzaz, Aoulay et Aoudour.

**Partie sud :** A relief vallonné, elle couvre une superficie de 3300 Km<sup>2</sup> environ, soit environ 60 % de la superficie totale de la province. Il s'agit d'un double dorsal d'orientation est-ouest, la première, au nord, s'étale latéralement vers les Oueds Ourgha et Leben. La seconde plus au sud vers les Oueds Leben et Inaouen. Les altitudes y varient entre 1000m à Jbel Zeddour et 150 m le long de l'Oued Inaouen.

Au sein de ce relief, il existe quelques petites plaines le long des principaux cours d'eau, qui abritent les centres de Khmiss Kissane, Ain Aicha, Galaz, Ain Mediouna, Tissa, Ourdzagh...

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

### I.1.4. Province de Séfrou

Séfrou est le chef-lieu de la province de Séfrou, dans la région de Fès-Meknès (d'après le nouveau découpage territorial du 20 février 2015), située à 28 km de Fès et 73 km de Boulemane, au pied du Moyen Atlas, faisant partie de la région Fès-Meknès (Fig. 23).

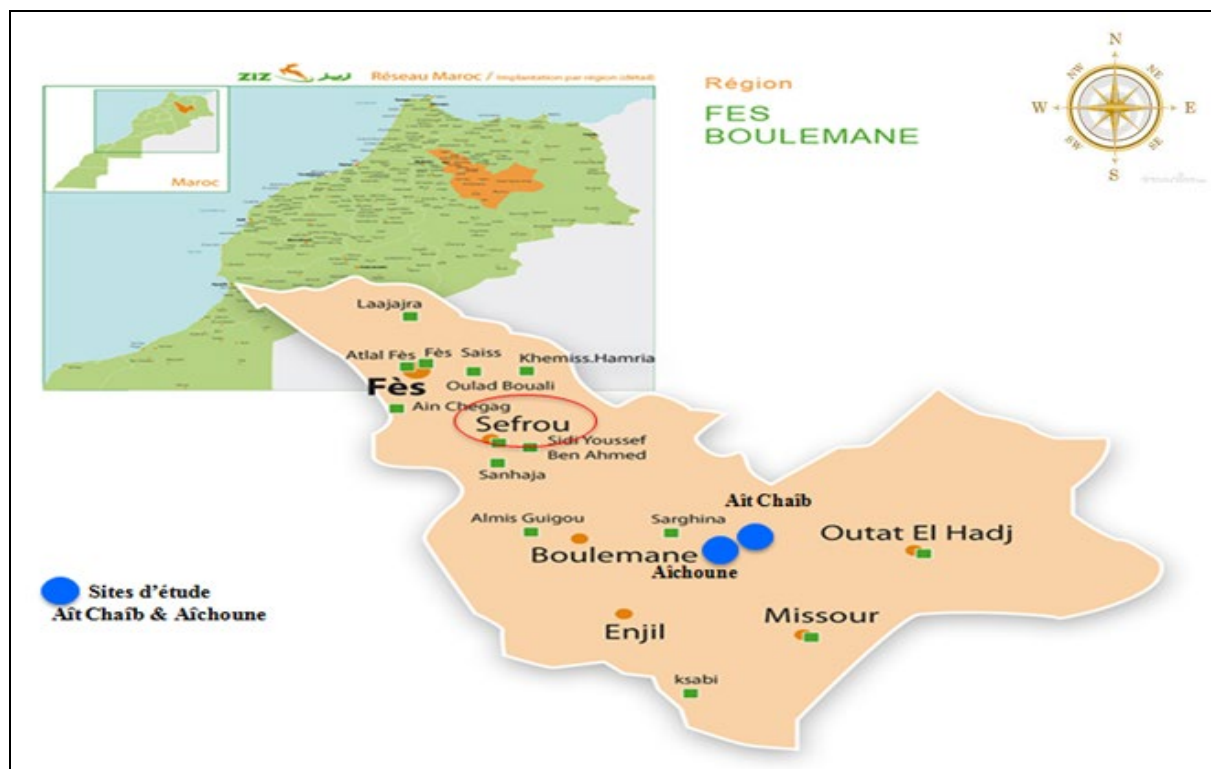


Figure 23 : Carte de la province de Séfrou, montrant les sites d'étude, Douar Aït Chaïb & Aïchoune.

La province de Séfrou est limitée au nord par la préfecture de Fès, à l'ouest par les provinces de Moulay Yacoub et El Hajeb, au sud par les provinces de Boulemane et Ifrane, à l'est par la province de Taza et au nord-est par la province de Taounate.

Le territoire de la province est composé de deux grands domaines géographiques distincts qui structurent l'espace de la province :

- ★ **Le domaine Atlasique** : composé d'un ensemble de relief vigoureux ayant de nombreux sommets dépassant les 2000 m d'altitude. Le point culminant se trouve à Jbel Tichoukt avec 2796 m.
- ★ **Le domaine Mésétien des Hauts Plateaux** : il se distingue par sa topographie plane ou légèrement ondulée au niveau du Sais. Ce domaine est marqué également par la présence de collines à relief doux.

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

### I.1.5. Province de Boulemane

La province de Boulemane est située dans la région de Fès-Meknès (d'après le nouveau découpage territorial du 20 février 2015) et s'étend sur une superficie de 14 395 km<sup>2</sup> (Fig. 24).

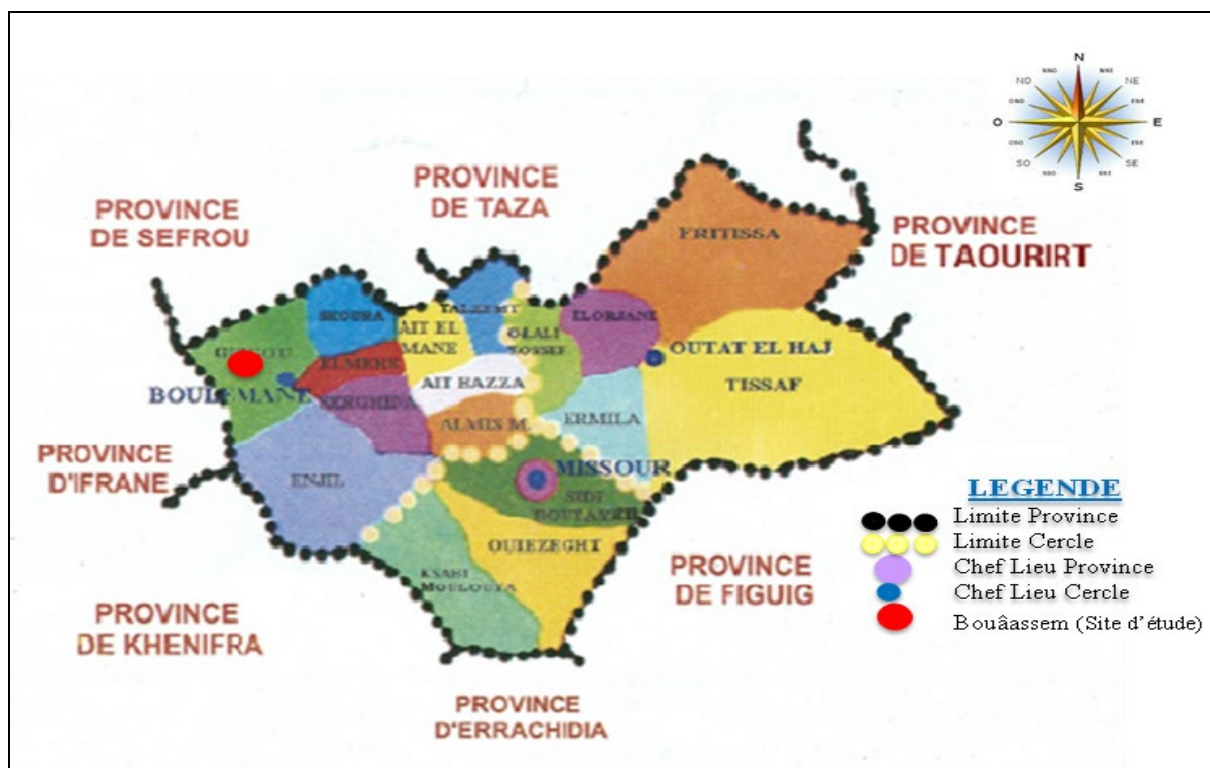


Figure 24 : Carte de la province de Boulemane, montrant le site d'étude, Douar Bouâassem

La province de Boulemane est limitée : Au nord par les provinces de Séfrou et Taza, à l'est par la province de Taourirte, à l'ouest par la province d'Ifrane et au sud par les provinces de Khénifra, Errachidia et Figuig. La province est composée de deux zones distinctes :

**Une zone montagneuse** englobant le cercle de Boulemane et le Caidat d'Ouled Ali. Cette région est traversée par les principaux affluents de l'Oued M'daz, Guigou et Maâser. **L'autre zone** englobe le Cercle de Missour et le reste du Cercle d'Outat El Haj. Elle est composée de plaines et plateaux arides (plaines de Moulouya et hauts plateaux de dahra).

Administrativement, la province de Boulemane est structurée autour de 3 cercles ou districts, 21 communes dont 4 communes urbains et 17 communes rurales.

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

### I.1.6. Province de Moulay Yaâkoub

A 14 km de Fès, la province de Moulay Yacoub, située dans la région de Fès-Meknès (d'après le nouveau découpage territorial du 20 février 2015) en constitue une banlieue rurale (98 % de la population y est paysanne), nichée dans le relief particulièrement escarpé et pittoresque du Rif, dans un espace réduit (1726 km<sup>2</sup>). Elle est limitée au nord par la province de Taounate, à l'est et au sud-est par la préfecture de Fès, au sud par les provinces de Séfrou et El Hajeb, à l'ouest par la préfecture de Meknès et la province de Sidi Kacem (Fig. 25).

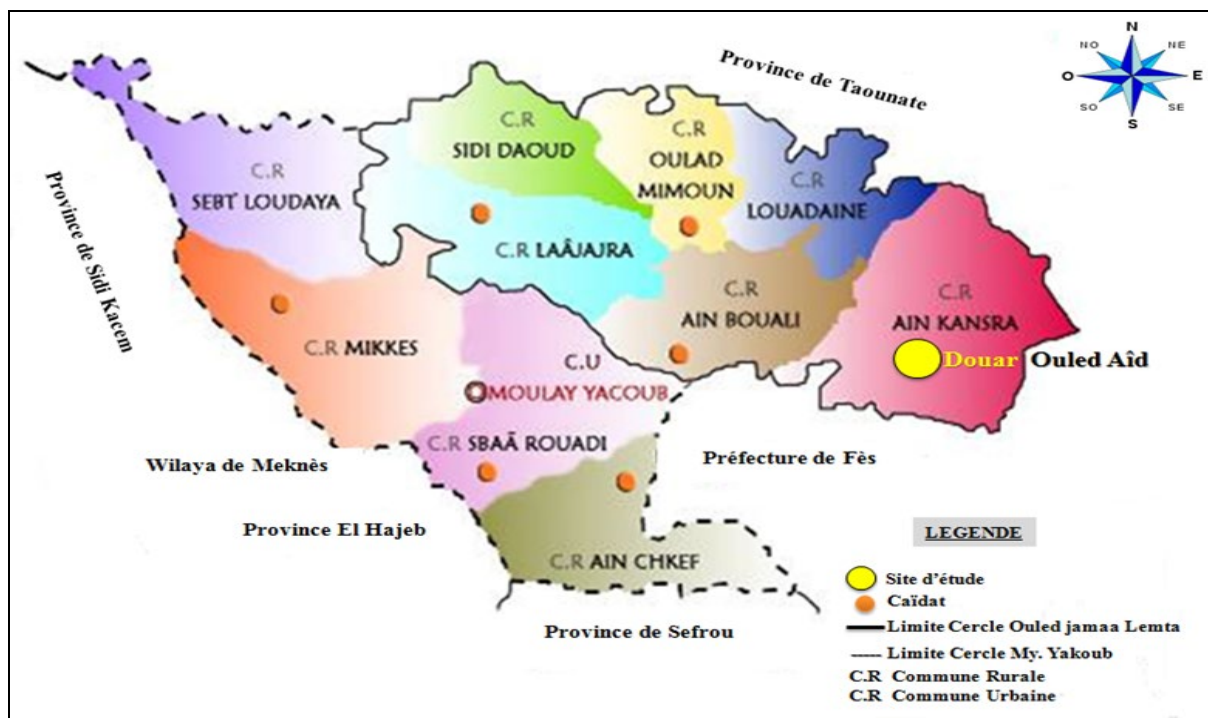


Figure 25 : Carte de la province de Moulay Yakoub, montrant le site d'étude, Douar Ouled Aïd (Source: Province of Moulay Yakoub DTU).

La province se situe à une altitude de 563,33 m au-dessus du niveau de la mer, elle se caractérise par un relief accidenté composé de plateaux et collines, d'une altitude qui varient entre 350 m et 500 m, et de plaines extrêmement riches sur le plan agricole, ainsi que de montagnes dont le point culminant atteint environ 910 m (Zalagh et Tghat). On distingue deux unités géographiques dans la province :

- ✿ La plaine de Saïss au sud à l'ouest, renfermant les aquifères du bassin Fès-Meknès.
- ✿ Les collines pré-rifaines dans toute la zone nord, qui se caractérisent par l'absence de ressources en eaux souterraines.

Administrativement, la province de Moulay Yacoub est structurée autour de 2 cercles ou districts, 11 communes dont 1 communes urbains et 10 communes rurales.

### I.2. Données climatologiques

#### I.2.1. Province de Sidi Kacem

## **Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude**

Le climat est de type méditerranéen avec une influence océanique (type méditerranéen semi continentale) (DPA Sidi Kacem, 2009 ; RGPH, 2014). Les températures moyennes annuelles se situent aux environs de 18°C avec un minimum au mois de janvier (5,3°C) et un maximum au mois de juillet et août (36° et 40°C). L'amplitude de la température journalière et mensuelle est importante (DPA Sidi Kacem, 2009). Les risques de gel sont relativement faibles. La période sèche s'étale du mois de juillet au mois de septembre (ONSSA, 2010).

La pluviométrie moyenne est de 556 mm avec des gradients nord-sud et ouest-est très marqués (ONSSA, 2010). Cette pluviométrie est en outre caractérisée par :

- ☞ De grandes variations interannuelles qui constituent un facteur limitant à la stabilité des réalisations en termes de superficies et de rendements des cultures et de la conduite d'élevage (ONSSA, 2010).
- ☞ Une forte concentration des précipitations pendant les mois de novembre, décembre et janvier qui représentent plus de 50% de la pluviométrie annuelle (90% entre les mois d'octobre et avril). Les vents dominants proviennent de l'ouest et du sud-ouest. Ils sont froids et tièdes en hiver, et chauds et secs en été (DPA, 2009 ; ONSSA, 2010).

### **I.2.2. Province d'Ouezzane**

Ouezzane possède un climat méditerranéen chaud avec été sec (RGPH, 2014). Sur l'année, la température moyenne à Ouezzane est de 18.6°C et les précipitations sont en moyenne de 642.1 mm. Au mois d'août, la température moyenne est de 27.6°C. Août est de ce fait le mois le plus chaud de l'année. Janvier est le mois le plus froid de l'année. Le record de chaleur est de 45°C enregistré le vendredi 10 août 2012 et le record de froid de -6°C enregistré le lundi 27 janvier 1997.

Des précipitations moyennes de 2.5 mm font du mois de juillet. En décembre, les précipitations sont les plus importantes de l'année avec une moyenne de 122.4 mm.

### **I.2.3. Province de Taounate**

Sur le plan bioclimatique, Taounate se situe dans l'étage thermo-méditerranéen semi-aride à hiver tempéré et frais. Dans la partie nord de la province, on peut retrouver l'étage méso-méditerranéen et supra méditerranéen subhumide et per-humide. Le climat de la province est de type méditerranéen à hiver froid et humide (5°C) et a été chaud et sec (40°C). Le nombre de mois à climat sec varie de 3 à 7 mois selon les années. La pluviométrie moyenne est de l'ordre de 700 mm/an, avec des maximas qui peuvent atteindre 1800 mm à jbel Oudka. La moyenne pluviométrique provinciale dans la période sèche est de 517 mm.

Pour la station de Taounate, le vent calme couvre 17% de l'année, alors que 56,65% des vents ont une force de 1 à 3 m/s, 20% sont entre 4 à 6 m/s, 5% sont entre 7 et 9 m/s et seulement 1% des vents dépasse les 10 m/s. Les vents en provenance du sud et du sud-ouest, sont prédominants, suivis par des vents des secteurs ouest et nord.

### **I.2.4. Province de Séfrou**

La province de Séfrou est caractérisée par un climat de type continental : hiver, généralement pluvieux et un été chaud et sec. Les précipitations moyennes annuelles sont de l'ordre de 460 mm, les températures moyennes annuelles sont de 16°C avec un maximal moyen de 25°C

## **Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude**

et un minimal de 9,5°C. Les phénomènes géologiques, hydrologiques et climatiques ont fait que le territoire de la province de Séfrou est décomposé en trois zones naturelles homogènes. Les reliefs de la province sont principalement occupés par des forêts, des plateaux utilisés comme parcours et une partie réservée aux cultures et aux plantations fruitières. Les vents dominants sont ceux du nord-est (chauds et secs) et les vents du nord-ouest (humides).

La province est caractérisée par l'existence de deux étages bioclimatiques différents à savoir :

- Un étage bioclimatique semi-aride dans la partie nord et nord-ouest ;
- Un étage bioclimatique humide aux alentours des jbelles Kandar et Bouyablane.

Elle est exposée aux risques:

- Des gelées fréquentes en hiver et des risques de gelées tardives au printemps ;
- Des chutes de grêles au printemps et en automne ;
- Des chutes de neige sur les hauteurs ;
- Du chergui qui peut apparaître du mois de mars jusqu'à la fin de septembre ;
- Du brouillard en avril et mai.

### **I.2.5. Province de Boulemane**

Le territoire de la province de Boulemane se compose de trois zones à climats différents :

- ✱ Zones montagneuses à climat semi-aride caractérisée par un hiver très froid, avec chute de la neige et une pluviométrie supérieure à 475 mm/an et un été chaud au cours duquel quelques chutes de pluie sont enregistrées souvent sous forme d'orage.
- ✱ Zone à climat présaharien constituée de plaines de la vallée et des hauts plateaux de la Moulouya et constitue la continuité naturelle des plateaux de l'oriental. Cette zone est caractérisée par un hiver froid et une pluviométrie de 150mm/an et un été très chaud.
- ✱ Zone intermédiaire englobant les communes d'Enjil, Serghina, Almismarmoucha et Ouled ali Youssef et qui est caractérisée par une pluviométrie allant jusqu'à 250 mm/an.

### **I.2.6. Province de Moulay Yaâkoub**

Le climat de la province de Moulay Yakoub est un climat continental, chaud en été et très froid en hiver. L'hiver se distingue par un froid rigide, la moyenne des températures pour le mois le plus froid (janvier) indique 9°C. L'été est chaud et sec, puisque la moyenne de température pour le mois le plus chaud (juillet) de plus de 40°C (DM nord-est, Maroc). Les vents sont secs et froid en hiver et chaud en été.

L'analyse des données climatiques montre que la région est caractérisée par une saison sèche allant de 3 à 4 mois et demi en période normale. Les précipitations annuelles moyennes varient entre 150 et 300 mm.

## **I.3. Végétation**

### **I.3.1. Province de Sidi Kacem**

La végétation à Sidi Kacem est caractérisée par des espèces thermophiles (*Olea Europae*, *Ceratonia siliqua*, *Pistacia lentiscus*, *Chamaerops humis*, *Ephedra fragilis*). Les céréales, les

## **Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude**

légumineuses, les cultures industrielles et les fourrages constituent les principales cultures de la région. Les arbres fruitiers sont représentés notamment par l'olivier (*Olea europea L.*) et le prunier (*Prunus domestica*).

### **I.3.2. Province d'Ouezzane**

La végétation à Ouezzane est caractérisée par des espèces thermophiles (*Olea Europae*, *Ceratonia siliqua*, *Pistacia lentiscus*, *Chamaerops humis*, *Ephedra fragilis*). Les céréales, les légumineuses, les cultures industrielles et les fourrages constituent les principales cultures de la région. Les arbres fruitiers sont représentés notamment par l'olivier (*Olea europea L.*) et le prunier (*Prunus domestica*).

### **I.3.3. Province de Taounate**

La végétation de la province de Taounate se caractérise essentiellement par : Les céréales (187 000ha), les légumineuses (57 700 ha), les maraichages (5500 ha), les jachères (14 000 ha), les cultures fourragères (18 000 ha) et autres (3000 ha). Les arbres fruitiers sont représentés notamment par l'olivier (115 000 ha), le figuier (20 000 ha), l'amandier (4000 ha) et les agrumes (1877 ha).

Les forêts couvrent une superficie de 43 124 ha, soit 8% de la superficie de la province. La couverture forestière est focalisée en totalité dans la partie nord de la province et se trouve sous forme de cantons éparpillés. Elle est constituée de 123 cantons variant de quelques hectares à 2700 ha, résultante de la pression humaine exercée depuis longtemps sur l'espace forestier par les défrichements et les mises en culture de terrains couverts à l'origine par la forêt. Les formations forestières comprennent : Les plantations artificielles couvrent 12 089 ha soit (28%) de la superficie totale, dont 10 442 ha se trouvent en domaine forestier, 1146 ha en terrain collectif et 501 ha sur des terrains privés. Seules 20 communes rurales de la province disposent des forêts qui peuvent constituer un pilier important pour leur développement économique et social. La superficie forestière s'élève à 2874 ha, répartie comme suit : Forêt naturelle (17 346 ha) et Reboisement (1140 ha).

### **I.3.4. Province de Séfrou**

La province de Séfrou abrite dans ses environs, une importante aire forestière (136 766 ha) constitué essentiellement de forêts naturelles (138 238 ha), de plantations artificielles (8331 ha), ainsi que d'autres variétés qui jouent un rôle important dans l'équilibre environnemental et écologique.

Les principales formations forestières rencontrées sont constituées de chêne vert, de cèdre, de thuya auxquelles s'ajoutent d'autres espèces telles que les genévriers rouge, oxycèdre, thurifère et le caroubier.

### **I.3.5. Province de Boulemane**

Le secteur agricole constitue un des principaux piliers de l'économie. La province de Boulemane abrite, une importante aire de végétation, constitué essentiellement de céréales (180 450 ha), légumineuses (42 130 ha), fourrages (14 314 ha), maraîchage (7805 ha), oléiculture (73 760 ha), agrumes (620 ha), arboriculture fruitières (12 538 ha), câpres (15 680 ha) et 500 ha des cultures industrielles (tabac et betterave sucrière).

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

La superficie du domaine forestier de la province vaste et diversifiée. Ce domaine est constitué essentiellement de forêts naturelles, de nappes alfatières et de plantations artificielles. A noter que les zones alfatières de la province représentent plus de 67 % du domaine forestier.

Concernant la production végétale au titre de la saison 2006-2007, elle est répartie comme suit : L'olivier constitue la principale essence arboricole dans la province de Boulemane notamment dans les cercles de Missour et d'Outat El Haj. Les rosacées fruitières détiennent une place importante dans l'économie de la province.

Le territoire forestier de la province représente environ 700 869 ha, soit 47% de la superficie totale de la province et 84% de la superficie forestière de la région, dont 558 381 ha de nappes alfatières, 138 238 ha de forêt naturelles et 4250 ha de forêt artificielles. Ce domaine est constitué essentiellement de chêne vert, cèdre, thuya, genévrier et de pin d'alep (Tab. 6).

**Tableau 5 : Répartition de la superficie forestière suivant l'espèce d'arbres**

<b>Espèces</b>	<b>Superficie en Ha</b>
<b>Chêne Vert</b>	69 448
<b>Cèdre</b>	11 866
<b>Pin d'Alep</b>	5043
<b>Genévrier</b>	14 732
<b>Thuya</b>	7500
<b>Alfa</b>	553 323
<b>Divers</b>	35 659

### **I.3.6. Province de Moulay Yaâkoub**

Le couvert végétal varie en fonction de la nature du sol. Ainsi, on trouve l'olivier, les forêts naturelles, les céréales, le câprier, les légumineuses, les plantes aromatiques et d'autres ressources naturelles.

Concernant la production végétale, les efforts et les investissements permettront :

- ☞ Une augmentation de 100% de la production de l'olivier ;
- ☞ La multiplication par 5,5 de la production maraichère en vue de satisfaire la demande régionale, contribuer à l'autosuffisance nationale et de participer à l'exportation ;
- ☞ La réduction de la superficie céréalière de 40% avec une augmentation des rendements grâce à l'utilisation des semences sélectionnées, à une irrigation d'appoint et grâce à l'application des résultats de la recherche dans le domaine ;
- ☞ L'intensification de la production du câprier destiné à l'exportation.

### **I.4. Contexte socio-économique**

#### **I.4.1. Province de Sidi Kacem**

Au 1er septembre 2014, la population de la province de Sidi Kacem comptait 522 270 habitants, soit 11,4% de la population régionale et 1,5% de la population nationale. Par milieu de résidence, Sidi Kacem se caractérise par une prédominance du milieu rural, puisque 67,7%

## Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude

de sa population est rurale, répartie à travers 752 douars (RGPH, 2014). La densité moyenne de la population de la province est de l'ordre de 157,2 habitants/Km<sup>2</sup> (ONSSA, 2010).

Ces dernières années, certaines communes de la province de Sidi Kacem ont été sujettes à des inondations suite à de fortes précipitations (Tableau 6). Ces inondations, associées aux conditions climatiques parfois assez extrêmes (période de froid) ont eu de nombreuses répercussions directes et indirectes sur l'homme, la faune, la flore, le sol, l'eau, l'hygiène, la sécurité et la salubrité publique. Concrètement, cela s'est traduit notamment par des conditions d'hébergement difficiles, des problèmes alimentaires aussi bien quantitatifs que qualitatifs, le mouvement des populations des zones sinistrées vers des régions moins touchées, une multiplication des gîtes de phlébotomes (DPA Sidi Kacem, 2009 ; ONSSA, 2010).

Le taux d'urbanisation à la province de Sidi Kacem est passé de 30,2% en 2004 à 32,3% en 2014, soit 2,1 points de plus, contre 2,4 points au niveau régional et 5,3 points pour l'ensemble du pays.

**Tableau 6 : Zones touchées par les inondations en 2009 (DPA Sidi Kacem, 2009)**

	Commune	Superficie en Km <sup>2</sup>	Population/Habitants
Communes urbaines	M. Belksiri	8	29250
	Dar el Gueddari	2	6011
Cercle de Had Kourt	Khnichet	104	20599
	Sidi Azzouz	185	15566
Cercle de M. Belksiri	Houafate	170	16000
	Dar Laslouji	99	28300
	R'mila	130	15400
	Nouirat	148	22826
	Sefsa	120	23020
	Sidi El Kamel	130	27130
	Bir Taleb	85	11000
Cercle de Sidi Kacem	Tekna	88	6838
	Chbanate	81	1056
Totale		1350	222996

À la vue de cette situation, la province présente donc des risques conséquents d'apparition non seulement de nuisances, mais aussi des risques accrus d'émergence de maladies vectorielles et d'éventuelles épidémies.

### **I.4.2. Province d'Ouezzane**

D'après les résultats du Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH) réalisé en 2014, 300 637 habitants ont été recensés au niveau de la province d'Ouezzane contre 304 528 habitants au RGPH de 2004, soit un accroissement global de 1,3%. La répartition de cette population selon le milieu de résidence dénote de la prédominance de la population rurale dont le poids a culminé à 76,6%. Par contre, le taux d'urbanisation ne dépasse pas 23,4% qui restent sensiblement supérieur à celui enregistré en 2004, qui n'était que de 22,1%.

La population active d'Ouezzane, composée des actifs occupés et des chômeurs, recensée en 2014 au niveau de la province, a atteint l'effectif de 97 637 actifs, dont 23,3% résident en milieu urbain.

## **Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude**

Cette province est composée de dix-sept communes, anciennement situées dans la province de Sidi Kacem (région de Gharb-Chrarda-Beni Hssen) ou la province de Chefchaouen (région de Tanger-Tétouan).

### **I.4.3. Province de Taounate**

La province de Taounate s'étend sur une superficie de 5616 km<sup>2</sup>, son économie est basée essentiellement sur l'agriculture et l'élevage. Malgré leurs faibles superficies, les forêts de la province sont constituées de peuplements productifs procurant des produits forestiers divers (Bois d'Industrie, Bois de feu, Liège...).

Les recettes générées par leur vente contribuent au développement économique et social des communes rurales concernées. Les recettes moyennes annuelles versées au profit de ces communes s'élèvent à 1 237 940 dhs/an. Une partie de ces recettes est réinvestie par les communes rurales bénéficiaires dans des projets de développement des ressources forestières (Construction de postes vigies, surveillance, ouverture et entretien des pistes...).

Le domaine forestier est soumis à une forte pression humaine due principalement à la forte densité de la population (119 habitants/km<sup>2</sup>) et à la dominance de l'activité agricole et pastorale. Cette pression se manifeste par des besoins accrus en terrains de culture, de construction et en bois d'énergie. Ces besoins sont satisfaits au détriment des forêts par les coupes du bois, empiètements, constructions, etc...

Selon le RGPH de 2014, la population de la province de Taounate est de 662 246 habitants dont 86,98% sont des ruraux, 35,4% ont moins de 15 ans. Les deux autres tranches (15-59 ans et 60 ans et plus soit respectivement la population en âge d'activité et la population âgée) continuent d'accroître aussi bien dans le milieu urbain que dans le milieu rural. En 2004, plus de la moitié de la population soit 56,6% avait un âge entre 15 et 59 ans (59,6% en milieu urbain et 55,6% dans le milieu rural). Entre l'urbain et le rural, et en termes relatifs, les moins de 15 ans et les plus de 60 ans sont dans le rural toujours supérieures à celles de l'urbain, et ce contrairement à la tranche des 15-59 ans. Ceci ne peut être que l'effet de la migration pour le travail, les études ou autres raisons.

La population se compose de presque autant d'hommes (49%) que de femmes (50,5%) et dénote donc, une légère supériorité de la population féminine. La densité de la Province a atteint en 2004, un niveau de 119 habitants/km<sup>2</sup>, chiffre presque deux fois plus élevé que celle enregistrée au niveau de toute la région (76 habitants/km<sup>2</sup>). Le rapport de masculinité était de 96,8% en 1994 et de 98,1% en 2004, ce qui traduit un déséquilibre entre les deux sexes en faveur du sexe féminin. En milieu urbain, ce rapport était de 96,4 hommes pour 100 femmes en 1994 et de 100,5 en 2004. Pour le milieu rural le rapport est de 97,8 en 2004, contre 96,9 hommes pour 100 femmes, en 1994.

### **I.4.4. Province de Séfrou**

Aujourd'hui, on peut clairement constater que la ville Séfrou, évoluent dans le cadre d'une dynamique de croissance sociale et économique. Cette dynamique est stimulée par une panoplie de projets structurants en cours de mise en œuvre au niveau de la région Fès-Méknès. Des projets qui concernent d'une part l'amélioration des capacités et des structures économiques, et d'autre part le renforcement des infrastructures et services sociaux.

## **Deuxième partie : Présentations de la zone d'étude**

Le secteur agricole constitue un des principaux piliers de l'économie dans la province. La présence de plusieurs réserves permanentes et triennales (201 038 ha) qui constituent de véritables pépinières est un moyen efficace de protection et de sauvegarde de la faune (Ribat Al Khair, Bhalil, Imouzer Kandar, Chasses Royale de Ghomra et de Reggada, ...).

La province de Séfrou compte 286 489 habitants dont 45,68% sont des ruraux, avec la prédominance des tribus d'origine berbère. Les principales tribus existantes dans la province sont : Aït Youssi, Aït Seghrouchen, Aït Ayach, Béni Sadden, Béni Yazgha, Béni Alahem et El Bhalil. La population est à majorité urbaine, mais la tendance récente est celle d'un rapprochement entre population urbaine et rurale (155 625 urbains/130 864 ruraux), les femmes représentent 51,4 % de l'ensemble de la population de la province (RGPH, 2014).

Le secteur de l'Habitat et de l'Urbanisme, participe directement au développement de la province, par la réalisation et l'encadrement de plusieurs projets et chantiers structurants, afin de développer les investissements et améliorer les conditions d'habitabilité des populations.

### **I.4.5. Province de Boulemane**

La Population globale de la province de Boulemane, selon le recensement général de la population et de l'habitat de 2004, est de 185 110 dont 53 810 urbains (29%) et 131 300 (71%) ruraux.

Le secteur de l'Habitat et de l'Urbanisme, participe directement au développement de la province de Boulemane par la réalisation et l'encadrement de plusieurs projets et chantiers structurants, afin de développer les investissements dans la province, préserver et protéger les ressources et le milieu naturel, maîtriser et orienter le développement des villes, centres et agglomérations urbaines et rurales, promouvoir l'emploi...

La présence de plusieurs réserves permanentes et triennales (201 038 ha) qui constituent de véritables pépinières est un moyen efficace de protection et de sauvegarde de la faune.

La province de Boulemane se caractérise par une faune remarquable avec des espèces rares comme la gazelle de Cuvier et Dorcas, le mouflon à manchette, l'outarde Houbara, la perdrix Ganga, le lièvre. La province contient également deux réserves pour la réhabilitation de la gazelle (la Réserve d'Enjil pour les Gazelles Dorcas et la Réserve de Tirnest à Outat Lhaj) pour la Gazelle de Cuvier et un Centre très moderne d'élevage de l'Outarde Houbara (Emirates Center for Wild life Propagation).

La présence de plusieurs réserves (1 135 583 ha) permanentes (Im Marmoucha, Talzemt, Tit Zel, Guigou, Aghbalou Laarbi, Missouri et Outat El Haj...) et triennales (Chouf Cherg, Achlouj Skoura...) qui constituent de véritables pépinières est un moyen efficace de protection et de sauvegarde de la faune.

Le tourisme de montagne occupe une place importante dans la province, et ce grâce à l'existence d'atouts importants et diversifiés particulièrement à savoir : la diversité naturelle, la multiplicité des sites, la présence des sources, des lacs, de forêts et de cascades.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

### **I.4.6. Province de Moulay Yaâkoub**

La province de Moulay Yaâkoub compte 150 422 habitants, soit 3153 en milieux urbain et 147 269 en milieux rural (RGPH, 2004). Elle bénéficie principalement, au plan économique, de l'activité de deux stations thermales : Moulay Yakoub (la plus célèbre) et Aïn Allah (réservée au tourisme intérieur), située dans un paysage reposant et vallonné et réputées pour leurs vertus curatives. Les thermes entretiennent un pôle d'attraction du tourisme. Quatre hôtels sont ouverts sur place. Un peu vétustes, les installations de la première vont faire l'objet d'une rénovation complète et d'une extension au financement desquelles sont associés des capitaux jordaniens.

La présence de plusieurs réserves (106 166 ha) permanentes (Mekkes, Ank Jmal Ealagh) et triennales (Moulay Yakoub, Fès, Oulad Jamaâ Lmta, Kansara) qui constituent de véritables pépinières est un moyen efficace de protection et de sauvegarde de la faune. La province abrite un site humide d'intérêt biologique et écologique sur une superficie de 200 ha, dont la fonction principale est de protéger les oiseaux migrateurs.

## **II. METHODOLOGIE DE TRAVAIL**

Le présent travail est porté sur l'étude de la diversité et la répartition des espèces de phlébotomes, vecteurs des leishmanioses, dans six provinces de la zone d'étude au nord du Maroc (Sidi Kacem, Ouezzane, Taounate, Séfrou ; Boulemane et Moulay Yaâkoub). Certains parmi eux présentent des foyers endémiques et historiques de la leishmaniose cutanée et viscérale. Cette étude, s'avèrent nécessaire pour améliorer la connaissance sur ses vecteurs, afin de guider l'établissement des programmes en collaboration avec les partenaires et les parties intéressées pour mieux combattre efficacement les leishmanioses au Maroc.

La deuxième partie (étude entomologique) a été menée d'avril à novembre 2010 (période favorable au développement des phlébotomes au Maroc), dans cinq localités : deux urbaines (Zirara et Hjafna Bougdor), situées dans la province de Sidi Kacem, et trois localités rurales situées dans la province d'Ouezzane (Bouchrif, Sidi Soufi et Bni Rbea). Dont le but d'étudier l'écologie, de suivre les fluctuations saisonnières et faire une répartition spatio-temporelle des espèces capturés dans les deux provinces d'étude, afin d'identifier les vecteurs et les biotopes dans lesquels ils évoluent, et de déterminer les périodes et les zones à risque.

Une dernière partie a été réservée à une étude épidémiologique dans les provinces de Sidi Kacem & Ouezzane. Dans un premier temps, nous avons réalisé une étude descriptive retrospective sur une période de quinze ans (1997-2012), afin de décrire le profil épidémiologique et les aspects cliniques et évolutifs de la maladie. En parallèle, nous avons effectué une étude moléculaire durant deux saisons épidémiologiques (2012-2013), pour identifier le(s) espèce(s) de *Leishmania* impliquées dans la transmission de la maladie chez l'homme.

### **II.1. Piégeage des phlébotomes**

Afin de caractériser la population phlébotomienne des foyers de leishmaniose humaine au nord du Maroc, une enquête entomologique a été effectuée durant la saison 2010, dans 10 localités de leishmanioses viscérale et cutanée, au sein de six provinces.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

### II.1.1. Sur le terrain

#### a. Récolte des phlébotomes adultes

Pour étudier les phlébotomes adultes dans leur milieu naturel, d'avril à novembre 2010 (période favorable au développement des phlébotomes au Maroc), plusieurs types de pièges peuvent être utilisés selon le but de l'étude effectuée (Alexander, 2000). Dans notre étude, nous avons utilisé des pièges adhésifs (collant) à base d'huile de ricin et des pièges lumineux type CDC miniature avec lumière UV. Les pièges adhésifs ont été placés autour des cas humains de leishmaniose dans leur milieu naturel ; à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, des écuries, des étables, à proximité de la végétation, au niveau des trous d'arbres et sous-bois dégradé. Par contre, nous avons déposé les pièges lumineux (de type CDC) devant les ouvertures et à l'intérieur des habitations ou dans les abris d'animaux domestiques.

#### - Capture par pièges adhésifs

Connue depuis les importants travaux des épidémiologistes russes Vlazov (1932) et Petrscheva (1935) in Croset *et al.* (1974), la technique des pièges adhésifs est sans doute la mieux adaptée à l'inventaire qualitatif et quantitatif des phlébotomes en région méditerranéenne.

Cette technique utilise des feuilles de papier blanc de surface connue, de faible épaisseur mais de bonne résistance (Fig. 26). Ces feuilles sont imbibées en profondeur d'huile de ricin qui a l'avantage de n'être ni répulsif ni attractif (Maroli & Khoury, 1998) et d'être très visqueux pour engluer les phlébotomes. L'imprégnation du papier est réalisée en mettant les papiers dans un sachet fermé hermétiquement pendant une nuit. Ces pièges sont installés en fin d'après-midi et relevés le lendemain matin. Le nombre de pièges déposés par station doit être au moins de 40. Le dépouillement des papiers est effectué le plus tôt possible, dans les jours suivants, pour éviter la détérioration des phlébotomes à cause du développement fongique. Il est réalisé à l'aide d'une seringue remplie d'alcool à 70°.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes



**Figure 26 : Pièges adhésifs**

Les phlébotomes sont ainsi conservés dans des flacons contenant de l'alcool à 75°. Cette méthode présente plusieurs avantages :

- ☆ Capture simultanée dans diverses stations ;
- ☆ Elle n'est pas affectée par les préférences trophiques, phototactique ou anémochorique des espèces ;
- ☆ Elle n'attire pas différenciellement les sexes ;
- ☆ Elle permet un échantillonnage quantitatif permettant la comparaison des densités d'insectes dans plusieurs stations (indice = nombre de phlébotomes par m<sup>2</sup> de piège par nuit de piégeage).

Cette méthode, de réalisation facile, présente néanmoins l'inconvénient de capturer des insectes morts et parfois en mauvais état.

### **- Capture aux pièges lumineux**

A l'inverse de nombreux insectes, les phlébotomes sont rarement attirés par la lumière vive et semblent même la fuir à partir d'une certaine intensité. En revanche, certaines espèces sont attirées par les lumières de faible intensité, ce qui est en accord avec leur activité crépusculaire et nocturne.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes



**Figure 27 : Piège lumineux "type CDC miniature"**

Les pièges lumineux de type CDC "miniature light trap" (Fig. 27) donnent de bons résultats à condition de remplacer les cages de recueil par des paniers à mailles fines (tissu pour rideaux) adaptées à la petite taille des phlébotomes. Les pièges sont installés avant le coucher du soleil et restent fonctionnels toute la nuit. Le lendemain matin, la cage est détachée et soigneusement fermée alors que le moteur fonctionne toujours, en prenant soin d'éviter la fuite des insectes des pièges.

Quand les phlébotomes doivent être maintenus vivants, notamment au cours d'un long trajet, il est recommandé de mettre la cage dans un sac en plastique avec un tampon de coton modérément imbibé d'eau qui sert à maintenir une humidité relative dans le sac, empêchant la dessiccation des insectes.

Ce piège permet la récolte de spécimens vivants ce qui est indispensable pour l'isolement des leishmanies et pour l'étude isoenzymatique des phlébotomes. Mais il attire différentiellement les espèces et les sexes et ne peut être abandonné en pleine nature une nuit entière sans surveillance. Au laboratoire les phlébotomes sont :

- Soit récupérés au captateur manuel et tués à la fumée de cigarette ;
- Soit mis au réfrigérateur pendant une demi-heure et ramassés à l'aide d'une petite pince;
- Soit anesthésiés individuellement au CO<sub>2</sub> (dissections extemporanées).

### **b. Période de recherches de phlébotomes sur le terrain**

Elle est liée à l'activité saisonnière des phlébotomes. En général, en zone méditerranéenne, les phlébotomes sont actifs pendant la période été-automne. Leur activité commence vers le mois d'avril et fini vers les mois de septembre-octobre selon les espèces. En dehors de cette période, les phlébotomes entrent en diapause hivernale. Nos prospections sur le terrain ont été effectuées entre avril et novembre. Dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane, nos piégeages étaient bimensuels durant la période d'étude.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

Vu l'activité nocturne et crépusculaire des phlébotomes, les pièges adhésifs ont été placés sur le terrain en fin d'après-midi et récupérés le lendemain matin ou après deux ou plusieurs nuits successives. Les pièges CDC fonctionnaient du coucher du soleil jusqu'à 6h du matin du lendemain.

### **II.1.2. Au laboratoire**

Les phlébotomes sont des insectes fragiles, la conservation des échantillons est importante pour mener à bien leur identification morphologique.

#### **a. Conservation des phlébotomes**

Les phlébotomes sont conservés comme suit :

- \* Soit dans l'alcool à 70° pour les spécimens récoltés morts sur les pièges adhésifs.
- \* Soit dans l'alcool absolu ou à 95° pour les spécimens qui sont récoltés vivants et destinés à des études moléculaires (analyse de l'ADN).
- \* Soit dans l'azote liquide (-196°C) pour les spécimens à traiter par des méthodes iso-enzymatiques.

#### **b. Traitement des échantillons**

Un traitement préalable des spécimens est obligatoire. Le traitement des échantillons dépend du milieu de montage choisi.

- Mélange à égale proportion d'alcool-éther
- Solution aqueuse de potasse à 10%
- Liquide de Marc-André (d'après Abonnenc, 1972)
  - Eau distillée 30 ml
  - Hydrate de chloral 40 g
  - Acide acétique cristallisable 30 ml
- Gomme au chloral (d'après Madulo-Leblond, 1983)
  - Eau distillée 10 ml
  - Hydrate de chloral 74 g
  - Gomme arabique pulvérisée 8 g
  - Sirop de glucose à 98% 5 g
  - Acide acétique cristallisable 3 ml
- Solution aqueuse de fuchsine acide à 1 pour mille
- Ethanol à 70° et 95°
- Créosote de hêtre
- Baume du Canada
- Xylène.

#### **• Eclaircissement**

Les phlébotomes sont versés dans une coupelle de verre munie d'un couvercle dans laquelle s'effectueront toutes les manipulations. L'alcool est soutiré à l'aide d'une pipette Pasteur munie d'une poire en caoutchouc, en prenant bien soin de ne pas aspirer les phlébotomes. Les bains successifs suivants sont ensuite effectués :

## **Deuxième partie : Matériels et Méthodes**

- 3 minutes dans l'alcool-éther (uniquement pour les phlébotomes capturés sur papiers huilés lorsque l'huile de ricin est mal solubilisée) ;
- 4 à 8 heures dans la solution de potasse à 10% ;
- Rinçage : 6 bains, de 20 minutes chacun, dans l'eau ;
- 1 heure minimum dans le liquide de Marc-André. Une conservation prolongée des spécimens dans ce liquide ne présente pas d'inconvénient ;
- 20 minutes dans la solution de Fuchsine acide 1 pour mille ;
- 1 à 2 minutes dans l'alcool à 70° ;
- 3 bains de 20 minutes dans l'alcool à 95° ;
- 1 heure minimum dans la solution de Créosote de Hêtre.

### **• Montage dans le baume du Canada**

Les spécimens déjà conservés dans le Marc-André sont complètement déshydratés et montés sous la loupe binoculaire dans une goutte de baume du Canada diluée dans du xylène jusqu'à consistance fluide. Cette technique, qui permet d'obtenir des conservations de longue durée, est fortement recommandée pour la mise en collection des espèces.

### **• Dissection des phlébotomes**

Le phlébotome est déposé en position latérale dans l'un ou l'autre des deux milieux de montage. La tête est détachée du reste du corps à l'aide de fines aiguilles. Elle est ensuite orientée face ventrale en position supérieure (*Sergentomyia*) ou en position inférieure (*Phlebotomus*) afin de rendre plus aisée l'observation des armatures cibariale et pharyngienne. Les pattes sont étalées du côté ventral et les ailes du côté dorsal.

Quand il s'agit d'un spécimen mâle, l'armature génitale est disposée selon son orientation chez l'insecte vivant en prenant soin de mettre en évidence les différents éléments nécessaires à la diagnose spécifique, notamment l'édéage, le coxite et le style.

Quand il s'agit d'un spécimen femelle, la dissection des génitalia est parfois nécessaire pour montrer certaines structures internes utilisées pour la diagnose spécifique comme dans le cas des *Larrousius* (Léger *et al.*, 1983).

Cette dissection se fait dans le milieu de montage sous la loupe binoculaire. Une fois la tête coupée, on maintient le thorax à l'aide d'une fine aiguille et on coupe l'abdomen au niveau de l'avant-dernier segment. On isole alors, en se débarrassant des téguments et des tissus qui l'entourent, la furca avec les spermathèques.

La préparation est ensuite recouverte d'une lamelle ronde. Une légère pression permet de mettre les structures à observer à plat, position la plus favorable à l'observation microscopique.

### **c. Identification des spécimens**

L'identification de l'espèce vectrice est une étape primordiale dans l'épidémiologie de la maladie. Les spécimens ont été identifiés à l'aide des descriptions et clés établies par Léger *et al.*, 1983 ; Dedet *et al.*, 1984 ; Ministère de la Santé, 1987, 2010 ; Benabdennbi et Pesson, 1999 ; Depaquit *et al.*, 2000 ; Pesson *et al.*, 2004 ; actualisée par Boussaa en 2008.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

L'identification des spécimens donc est basée sur l'observation de différents critères, à savoir :

- \* **Pour les mâles** : La morphologie externe de l'appareil génital, et parfois, l'anatomie de l'armature cibariale chez certaines espèces ou encore pharyngienne chez d'autres, la forme des valves péniennes, le nombre et la position d'épines sur le genitalia et le nombre de soies apicales sur le coxite.
- \* **Pour les femelles** : La forme des spermathèques, la forme et le nombre de dents du cibarium, l'anatomie de l'armature pharyngienne.

### **II.2. Diagnostic moléculaire des espèces du genre *Leishmania* par la méthode RFLP-ITS1**

Pour l'identification du genre *Leishmania*, on a utilisé la méthode PCR-ITS1, qui cible la partie transcrite interne ribosomale 1 dans le ribosome opéron des différentes espèces de leishmanie. Cette PCR est suivie d'une digestion enzymatique qui permet de différencier entre les espèces des Leishmanies. Les étapes de cette méthode sont :

- ☞ L'extraction de l'ADN ;
- ☞ L'amplification de la région ITS ;
- ☞ L'électrophorèse sur gel d'agarose pour visualiser l'ADN du genre *Leishmania* ;
- ☞ La digestion enzymatique pour différencier entre les espèces.

#### **II.2.1. Extraction d'ADN**

##### **a. Principe**

L'extraction d'ADN à partir des frottis cutanés est délicate, vu la nature sèche de l'échantillon biologique, sa teneur faible en amastigotes ainsi que le risque de contamination entre les échantillons. L'extraction par le kit « QIAamp DNA kit » est la méthode utilisée dans cette étude. Ce kit fournit une purification rapide et facile de l'ADN total des échantillons.

L'ADN purifié est de haute qualité et bien adapté à une utilisation en PCR et d'autres réactions enzymatiques en aval. La procédure d'utilisation de la colonne de purification donne un ADN pur prêt à être utilisé directement en moins d'une heure. La purification ne nécessite pas l'utilisation du phénol-chloroforme ou la précipitation à l'alcool, et implique un minimum de manipulation. L'ADN est élué dans une solution tampon exempte de protéines, de nucléases et d'autres impuretés ou inhibiteurs. L'ADN purifié est prête pour une utilisation PCR ou d'autres réactions enzymatiques.

##### **b. Matériels nécessaires**

###### **• Tampons et solutions**

- Le kit QIAamp ADN contient les solutions et tampons suivants : Tampon ATL, Tampon AL, Tampon AW1, Tampon AW2, Tampon AE et Protéinase K.
- Ethanol (96 à 100%).

###### **• Equipements et consommables**

- Micro centrifugeuse réfrigérée
- Bain Marie à 56°C

## **Deuxième partie : Matériels et Méthodes**

- Colonnes de centrifugation (fournies par le kit)
- Tubes collecteurs (2ml) (fournies par le kit)
- Tubes eppendorfs
- Cônes stériles de 20, 200 et 1000µl
- Micropipettes

### **c. Méthode**

L'extraction d'ADN par le kit "QIAamp DNA" s'effectue selon les étapes suivantes :

- 100µl du tampon ATL est ajouté sur le matériel tissulaire adhérent sur la lame. Avec un cône stérile les débris sont grattés et aspirés et le mélange en suspension sur la surface de la lame est transféré à un tube marqué de 1,5ml. La procédure est répétée en utilisant un volume total de 200µl du Tampon de lyse ;
- 40 µl de la protéinase K est Ajouté en solution, suivi d'un vortex pendant 15 secondes ;
- L'ensemble est Incubé à 56°C pendant 1 heure ;
- 200 µl du Tampon AL est ajouté, son pH convient pour que le produit adhère à la colonne. Cette étape est suivie d'un Vortex pendant 15 secondes ;
- L'ensemble est incubé à 56°C pendant 10 mn ;
- 200 µl de l'éthanol est ajouté ;
- Le mélange est transféré dans la colonne et centrifugé à 8000 tr/mn pendant 1 minute ;
- Le culot est jeté et la colonne est transféré dans un tube neuf ;
- 500 µl de la solution AW1 (Wash Buffer n°1) est ajouté dans la colonne et centrifugé pendant une minute à 8000tr/mn. Le culot est jeté et la colonne est transféré dans un tube neuf ;
- Le culot est jeté et la colonne est transféré dans un tube neuf ;
- 500 µl de la solution AW2 est ajouté dans la colonne et centrifuger pendant 3 minutes à 1400tr/mn. (AW2 empêche l'ADN d'être éluée et l'éthanol joue le rôle de purification de l'ADN) ;
- Le culot est jeté et la colonne est transférée dans un nouveau tube ;
- Pour éluer les acides nucléique, 50 µl du Tampon AE est ajouté à la colonne associée à un tube eppendorf stérilisé et étiqueté et centrifuger pendant une minute à 8000tr/mn ;
- Le tube eppendorf contient les acides nucléiques élués. L'éluant d'ADN est gardé au réfrigérateur pour une utilisation immédiate dans les 24 heures ou bien stocké à -20°C pour une analyse future.

### **II.2.2. Amplification par PCR de la région ITS1**

La région ITS1 est amplifiée par PCR selon les protocoles décrits par Al-jawabreh *et al.*, 2004 ; Schonian *et al.*, 2003.

#### **a. Principe**

Cette PCR a pour cible la partie transcrite interne ribosomale 1 (ITS1) dans le ribosome opéron des différentes espèces de leishmanies. Cette région, polymorphe chez les différentes espèces de leishmania, sera amplifiée en utilisant l'extrait d'ADN des lames sélectionnées.

#### **b. Matériel d'étude**

##### **• Echantillons**

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

- ☆ Extrait de l'ADN à partir de lames positives des provinces de Sidi Kacem et Ouazzane.
- ☆ Les contrôles positifs des trois espèces (*L. major*, *L. tropica* et *L. infantum*).
- ☆ Le contrôle négatif (eau).

### • Tampons et solutions

- ☆ **Primer 1 :**  
Forward primer (20pmol / $\mu$ l) LITSR: 5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3'
- ☆ **Primer 2 :**  
Reverse primer (20pmol / $\mu$ l) L58S : 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3' (Schonian *et al.*, 2003).
- ☆ Eau free DNase water.

### c. Technique d'amplification

- Préparation du Mix

Les volumes mentionnés dans le tableau, 8 sont donnés pour un seul échantillon, Si on a plusieurs échantillons, les volumes devraient être multipliés en conséquence.

**Tableau 7 : Composition du Master Mix pour l'amplification ITS1.**

N°	Mix pour une réaction de volume totale de 25 $\mu$ l	
	Composants	Quantité pour un échantillon. $\mu$ l
		PCR-ITS1
1	Eau free DNase water	18
2	Primer, Forward, (20pmol/ $\mu$ l)	1
3	Primer, réverse, (20pmol/ $\mu$ l)	1
Volume total du Mix		20

- ☆ 20 $\mu$ l du Mix et 5 $\mu$ l d'ADN des échantillons et des contrôles (positif et négatif) sont ajoutés à chaque tube ready mix ;
- ☆ Les mélanges sont vortexés ;
- ☆ L'amplification des acides nucléiques est lancée dans le thermocycleur selon les paramètres décrits dans le tableau 9 ci-dessous.

**Tableau 8 : Programme du thermocycleur**

Nombre du cycle	Dénaturation	Hybridation	Polymérisation
Cycle initial	2 min.95°C	0	0
32 cycles	20 sec.95°C	30 sec.53°C	1 min.72°C
Cycle final	0	0	6 min.72°C
Infini		4°C	

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

### II.2.3. Electrophorèse sur gel d'agarose pour visualiser l'ADN des leishmanies

#### a. Principe

L'étape de l'électrophorèse consiste à séparer les fragments d'ADN qui seront détectés par intercalation avec le bromure d'éthidium (BET) et visualisé via les rayons d'ultra-violet sous forme de bandes. La séparation des fragments d'ADN est facilitée par un courant électrique et basé sur la différence de charge et de poids entre les molécules.

#### b. Matériel d'étude

##### • *Echantillons*

- \* Les produits d'amplification (PCR)
- \* Marqueur de taille (100bp DNA ladder)

##### • *Tampons et solutions*

- \* Tampon Tris-acétate-EDTA (TAE) buffer (x1)
- \* Colorant de charge (loading dye)
- \* Bromure d'éthidium (10mg/ml)

#### c. Technique d'électrophorèse

- \* Une quantité suffisante de tampon d'électrophorèse (tampon 1xTAE) est préparée pour remplir la cuve et pour préparer le gel.
- \* Le gel d'agarose à 1,2% est préparé (On pèse 0,6g d'agarose en poudre, qu'on met dans un ballon propre en verre et on ajoute 50 ml du tampon 1xTAE à température ambiante, le ballon en verre est chauffé dans le four à micro-ondes jusqu'à obtention d'une solution transparente, Le ballon sera refroidi à température de 55°C).
- \* Le bromure d'éthidium est ajouté pour avoir une concentration dans le gel de 0.2µg/ml (2µl du bromure d'éthidium dans 100 ml d'agarose).
- \* Le mélange est laissé se refroidir pour atteindre une température de 50 à 60 °C, et ensuite versé sur la plaque d'électrophorèse horizontale jusqu'à solidification (20 min). Le gel devrait être de 3 à 5 millimètres d'épaisseur.
- \* La cuve de migration est préparée, en versant le tampon TAE qui doit couvrir tout le gel.
- \* Le gel est placé dans la cuve d'électrophorèse.
- \* Un volume de 5 µl des échantillons est déposé, ainsi que des témoins et du marqueur de taille (DNA Ladder) mélangé avec 2µl du tampon de charge.
- \* La cuve est fermée et branchée. Le voltmètre de la cuve est réglé à une tension de 90Volts (utiliser un voltage de 1-5V/cm=100-120). L'ADN doit migrer vers l'anode positive. Le temps de migration est d'environ 1 heure.
- \* Pour la lecture de la plaque, la plaque est placée dans le transilluminateur sous UV, le TAE s'intercale entre les brins d'ADN en émettant une radiation fluorescente. L'emplacement des fragments d'ADN apparaît sous forme de bandes après prise de photos.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

### II.2.4. La digestion du produit PCR par l'analyse de Restriction Fragment Length Polymorphisme (RFLP)

L'analyse RFLP du produit PCR-ITS1 a été réalisée selon le protocole décrit par Schonian *et al.*, 2003.

#### a. Principe :

La digestion du produit PCR-ITS1 par des endonucléases de restriction (RFLP= Restriction fragment length polymorphisme) permet d'identifier les espèces de *Leishmania*. L'enzyme de restriction MnlI permet de distinguer entre les espèces *L. tropica* (MHOM/MA/2010/LCTIOK-4), *L. major* (MHOM/MA/2009/LCER19-09) et *L. infantum* (MHOM/MA/1998/LVTA).

#### b. Matériel d'étude

##### • *Echantillons :*

- Produits du PCR-ITS1
- ADN marqueur de taille standard

##### • *Tampons et solutions :*

- 10x tampon enzyme de restriction
- Enzyme de restriction MnlI
- Sérum albumine du bovin (BSA)
- Eau ultra-pure stérile
- L'agarose à 2,5%

#### c. Technique de digestion

Préparation du produit PCR pour la digestion :

- La totalité du produit PCR est introduit dans un tube eppendorf stérile ;
- Digestion enzymatique ;
- Le Mix constitué des composants comme décrit dans le tableau ci-dessous est préparé pour l'analyse de restriction.

Tableau 9 : Composition du Mix pour l'analyse de restriction

Composants	Quantité en µl
10xtampon Buffer	2
Enzyme Mn II	2
H2O	4
Volume total	8

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

- L'enzyme est additionné à la dernière minute ;
- Le Mix est vortexé et centrifugé afin de décanter toutes les gouttelettes déposées sur les bords ;
- 8 µl du mix est mis dans chaque tube eppendorf contenant le produit PCR ;
- Le mélange est Vortexer et centrifugé pendant quelques secondes ;
- Les tubes sont incubés dans un bain-marie pendant une nuit à 37°C ;
- Les produits de digestion sont déposés sur gel d'agarose de 2,5% (7,5g d'agarose et 300 ml de TAE) ;
- Les bandes caractérisant chaque espèce seront visualisées sous UV.

### III. ANALYSE ET TRAITEMENT DES DONNEES

#### III.1. Données entomologiques

##### III.1.1. Analyse synchronique

Dans chaque zone d'étude, nous avons calculé :

##### a. Abondance relative (%)

$$AR = 100 * N_i / N$$

Où :

$N_i$  est l'effectif de l'espèce  $i$ ,

$N$  est l'effectif total des phlébotomes collectés.

##### b. Densité

Calculée à partir de l'échantillonnage des pièges adhésifs, elle est exprimée par l'effectif de l'espèce concernée dans la station par m<sup>2</sup> de piège et par nuit de piégeage. Pour calculer la surface piégée, il faudra prendre en compte que les deux côtés du piège sont fonctionnels.

$$\text{(Surface piégée = la surface du piège x nombre de pièges utilisées dans la station x 2).}$$

##### c. Sex-ratio

Ici, nous avons calculé le nombre de femelles/mâles.

##### d. Richesse spécifique

La richesse spécifique (S) d'un peuplement est le nombre total d'espèces qui la composent par site (Ramade, 1984 ; Spellerberg et Fedor 2003).

$$RS = sp1 + sp2 + sp3 \dots\dots + spn.$$

$Sp1 + sp2 + sp3 \dots\dots + spn$  ; sont les espèces observées.

## Deuxième partie : Matériels et Méthodes

### **III.2. Données épidémiologiques**

Les données ont été recueillies au niveau du service provincial des maladies parasitaires de la délégation de la province de Sidi Kacem, on a récupéré : les listes mensuelles, trimestrielles et sectorielles des cas suivis, les rapports des activités de dépistage ainsi que les plans d'action ; alors qu'au niveau des ESSB (Circonscription Sanitaires et Secteurs), nous avons exploité les fiches des enquêtes épidémiologiques, les registres du suivi thérapeutique ainsi que les bons de prélèvement des cas de leishmanioses cutanées suivi durant la période d'étude.

Le traitement des données épidémiologiques est fait à l'aide des logiciels **Epi-info 3.5.6**, **logiciel R** et sur **Excel**. Les données sont organisées par commune et par secteur sanitaire. Chaque cas humain est présenté par son âge, sexe et date du diagnostic.

# **Troisième partie:**

# **Résultats et Discussion**

## Chapitre I :

Inventaire global des espèces de phlébotomes  
dans la zone d'étude au nord du Maroc

## I. INTRODUCTION

Le principal objectif du présent inventaire étant de préciser et de déterminer le statut et la répartition actuelle des phlébotomes nord Marocain. Il nous est apparu intéressant de retracer les grandes étapes de recherches dont ils ont fait l'objet.

Au cours des dernières décennies, la faune phlébotomienne du Maroc a fait l'objet d'un nombre considérable de communications et de publications dont certaines sont des monographies et révisions. Les premières observations effectuées au Maroc sur les phlébotomes ont été faite au début de dernier siècle par Delanoe (1916). Ensuite, Ristorcelli publia quatre notes successives sur les récoltes faites par Langeron dans le sud et dans le Maroc oriental (1940, 1941, 1945, 1947). En 1947, Gaud fait une première étude sur des récoltes venant des régions plus variées du Maroc, où il met pour la première fois en évidence la présence et l'abondance de certaines espèces de phlébotomes dans le Maroc atlantique. En 1954, il fait une excellente synthèse sur la répartition régionale et la fréquence saisonnière et locale des phlébotomes, basée sur la récolte de 4500 phlébotomes dans l'ensemble du pays.

Il faut citer également les travaux de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) fait par Parrot et Durand-Delacre dans la région de Figuig (1947, 1948, 1953). Nous accordons une place particulière aux recherches de Baily-Choumara, Abonnenc, Pastre (1965-1970), qui constituent une synthèse sur la répartition géographique et bioclimatique des phlébotomes du Maroc. Au cours de la fin du siècle dernier, nous citons le travail de Rioux (1996), qui constitue une intéressante contribution pour l'étude de la leishmaniose cutanée humaine.

Tout récemment, la faune phlébotomienne du Maroc, a été le sujet de plusieurs **thèses**: Hamdani (1999); Guernaoui (2006); Jellouli (2006); Boussaa (2008); Arroub (2013); Lahouiti (2014); Zouirech (2016); Bennis (2018); Hmamouch (2018); Zarrouk (2018); Soudani (2019); Aît Antar (2021)... et un nombre important des **publications** dans différents villes du Maroc : Guessous-Idrissi *et al.*, 1997; Chiheb *et al.*, 1999, 2012, 2014, 2015; Lasri *et al.*, 1999; Guernaoui *et al.*, 2000, 2005, 2006, 2010, 2011; Boussaa *et al.*, 2003, 2005, 2007, 2009, 2010, 2016; Rhajaoui *et al.*, 2004, 2007, 2011, 2012; Yahia *et al.*, 2004; Bacaër *et al.*, 2006; Qasmi *et al.*, 2008; Ramaoui *et al.*, 2008; Laboudi *et al.*, 2010, 2012; Zougaghi *et al.*, 2011; Iguermia *et al.*, 2011; Faraj *et al.*, 2012, 2013, 2016, 2019, 2020; Faraj & Himmi 2019, 2020; Arroub *et al.*, 2012, 2013; Er Rami *et al.*, 2013; Jebbouri, 2013; El Miri *et al.*, 2013, 2016; Lahouiti *et al.*, 2013, 2014; Riyad *et al.*, 2013; Ajouad *et al.*, 2013, 2015; Zouirech *et al.*, 2013, 2015, 2018; Hmamouch *et al.*, 2014, 2017; El Alem *et al.*, 2014; Hjira *et al.*, 2014; Chiheb *et al.*, 2014; Kahime *et al.*, 2014, 2015; Es-sette *et al.*, 2014, 2015; Talbi *et al.*, 2015; Sebti *et al.*, 2015, 2016; Ouanaimi *et al.*, 2015; Lahmadi *et al.*, 2015; Mezouari *et al.*, 2015; Amarir *et al.*, 2015; Aasri *et al.*, 2016; Zarrouk *et al.*, 2016; Sadeq *et al.*, 2016; Hakkour *et al.*, 2016; Alaoui *et al.*, 2017; Laboudi *et al.*, 2017; Bennis *et al.*, 2018; Abou-Elaaz *et al.*, 2019; EL Omari *et al.*, 2020; Al-koleeby *et al.*, 2021).

L'inventaire de la faune phlébotomienne dans les provinces : Sidi Kacem, Ouezzane, Taounate, Séfrou, Moulay Yaâkoub et Boulemane, a montré la présence de deux vecteurs de leishmaniose cutanée : *Phlebotomus Phlebotomus papatasi* vecteur de *Leishmania major* et *Phlebotomus Paraphlebotmus sergenti* vecteur prouvé de *L. tropica*, en plus de la présence de 3 vecteurs de *L. infantum*, à savoir : *Phlebotomus Larrousius longicuspis*, *pernisiosus* et *ariasii*. Une seule espèce du genre *Sergentomyia* a été collectée : *Sergentomyia Sergentomyia*

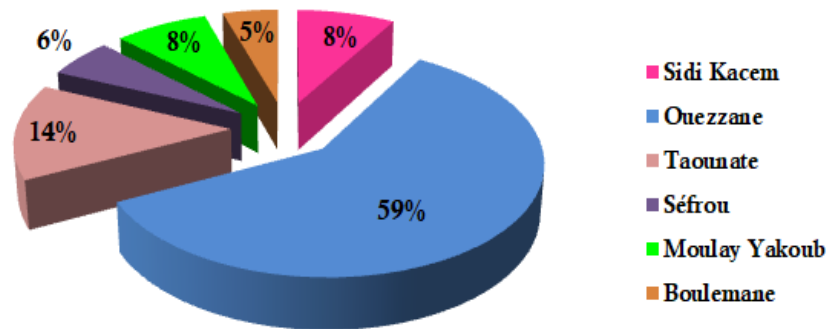
*minuta*. Dans ce contexte, l'étude de la saisonnalité et l'activité de ces vecteurs dans les six provinces étudiées a été nécessaire afin de déterminer les périodes à risque.

Durant ce suivi, nous avons récolté 6658 spécimens appartenant aux cinq espèces du genre *Phlebotomus* (90%) et à une espèce du genre *Sergentomyia* (10%). *P. sergenti* est l'espèce dominante constituée 44,8% des espèces inventoriées, suivie par *P. longicuspis* (27%), *P. papatasi* (14%), *S. minuta* (10%), *P. perniciosus* (2,1%) et *P. ariasi* (1,1%). A l'exception de *P. sergenti*, le sex-ratio est en faveur des mâles pour toutes les autres espèces.

## II. INVENTAIRE FAUNISTIQUE GLOBAL

Au total, 6658 espèces de phlébotomes (5496 mâles ; 1162 femelles) ont été collectées durant nos investigations entomologiques durant l'année 2010, dans les six provinces de l'étude (Sidi Kacem, Ouezzane, Taounate, Séfrou, Moulay Yaâkoub et Boulemane).

Sur les six provinces prospectées, Ouezzane semble celle qui offre le plus les conditions favorables à l'installation des phlébotomes (Fig. 28).



**Figure 28 : Abondance relative (%) des phlébotomes par province.**

Les résultats de capture, lors des campagnes de prospections, dans les six provinces d'étude, montrent que les 6 espèces recensées appartiennent aux deux genres *Phlebotomus* et *Sergentomyia*. Le genre *Phlebotomus* est représenté par 5 espèces appartenant à 3 sous genres (*Larroussius*, *Phlebotomus*, et *Paraphlebotomus*), alors que le genre *Sergentomyia* est représenté par une seule espèce. Les six espèces inventoriées sont :

1. *Phlebotomus Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786)
2. *Phlebotomus Paraphlebotomus sergenti* (Parrot, 1917)
3. *Phlebotomus Larroussius ariasi* (Tonnoir, 1921)
4. *Phlebotomus L. longicuspis* (Nitzulescu, 1930)
5. *Phlebotomus L. perniciosus* (Newstead, 1911)
6. *Sergentomyia Sergentomyia minuta* (Rondani, 1843).

L'effectif et l'abondance relative par espèce sont résumés dans le Tableau 10. Ainsi, sur les 6 espèces identifiées, le genre *Phlebotomus*, qui regroupe les vecteurs prouvés et suspectés des leishmanioses dans l'Ancien Monde, prédomine avec 90% de la population phlébotomienne regroupant 5993 spécimens, contre 10% représentée par le genre *Sergentomyia* soit 665 spécimens.

Concernant les sous-genres, la population est dominée par le sous-genre *Paraphlebotomus* qui détient 44,8% de l'effectif, suivie de *Larroussius* avec 31,1% des spécimens. Les sous-genres les moins représentés sont *Phlebotomus* avec 14,1% et *Sergentomyia* avec 10% de la population. *P. sergenti* est l'espèce la plus abondante (44,8%), suivie de *P. longicuspis* (27,9%) et *P. papatasi* (14,1%). *P. perniciosus* et *P. ariasi* sont beaucoup moins abondants avec 2,1% et 1,1% respectivement. Sachant que, *Sergentomyia minuta* ne représente que 10 % de l'effectif total.

**Tableau 10 : Effectif et abondance relative (%) des phlébotomes capturés durant la période d'étude**

Effectif global	6658							
Genre	<i>Phlebotomus</i>				<i>Sergentomyia</i>			
Effectif	5993				665			
Pourcentage	90%				10%			
	Espèces	Effectif	♂/♀	%	Espèce	Effectif	♂/♀	%
	<i>P. longicuspis</i>	1864	1602/262	27,9	<i>S. minuta</i>	665	325/340	10
	<i>P. perniciosus</i>	141	109/32	2,1				
	<i>P. ariasi</i>	74	41/33	1,1				
	<i>P. sergenti</i>	2980	2560/420	44,8				
	<i>P. papatasi</i>	934	861/73	14,1				
	<b>Total</b>	<b>5993</b>	<b>5173/820</b>	<b>90</b>	<b>Total</b>	<b>665</b>	<b>325/340</b>	<b>10</b>

L'inventaire entomologique, a montré la co-existence dans notre zone d'étude de toutes les espèces vectrices des leishmanies, responsables de leishmanioses dans les foyers marocains, à savoir : *P. ariasi*, *P. longicuspis* et *P. perniciosus* vecteurs de la LV à *L. infantum*, *P. sergenti* vecteur confirmé de la LC à *L. tropica* et *P. papatasi* vecteur de la LC à *L. major*, avec l'abondance des vecteurs de *L. tropica*.

Dans cette partie, nous présentons une revue de la quasi-totalité des travaux sur les phlébotomes rencontrés au Maroc. Pour chacun des espèces capturées, nous avons résumé sa répartition géographique, sa systématique, son éthologie, son rôle vecteur, ses critères morphologiques d'identification. Le commentaire sur les phlébotomes capturés est indiqué pour chaque espèce.

D'après Faraj et Himmi (2019), vingt-quatre espèces de phlébotomes, réparties entre le genre *Phlebotomus* (14 espèces), avec trois sous-genres (*Phlebotomus*, *Paraphlebotomus* et *Larroussius*) et le genre *Sergentomyia* (10 espèces), avec quatre sous-genres (*Sergentomyia*, *Parrotomyia*, *Grassomyia* et *Sintonius*), ont été signalées jusqu'à présent au Maroc. Elles sont représentées dans la liste ci-après par ordre alphabétique :

### **Genre *Phlebotomus***

#### **Sous-genre *Phlebotomus***

***Ph. Phl. bergeroti* (Parrot, 1934).**

Synonyme (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus viduus* (Parrot, 1936)

***Ph. Phl. papatasi* (Scopoli, 1786)**

Synonymes (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Bibio papatasi* (Scopoli, 1786)

[Basionyme]

= *Flebotomus papatasi* (Rondani, 1840)

= *Ciniphes molesta* (Costa, 1840)

= *Cyniphes molestus* (Costa, 1843)  
= *Phlebotomus breviventris* (Ristorcelli, 1941)

**Sous-genre *Larroussius***

***Ph. Lar. ariasi* (Tonnoir, 1921)**

***Ph. Lar. chadlii* Rioux, (Juminer et Gibily, 1966)**

***Ph. Lar. langeroni* (Nitzulescu, 1930)**

Synonyme (GBIF, 2019) = *Phlebotomus orientalis* (Parrot, 1936)

***Ph. Lar. longicuspis* (Nitzulescu, 1930)**

***Ph. Lar. mariae* (Rioux, Croset, Léger et Bailly Choumara, 1974)**

***Ph. Lar. perfiliewi* s.l. (Parrot, 1930)**

Synonyme (GBIF, 2019) = *Phlebotomus macedonicus* (Adler et Theodor, 1931)

***Ph. Lar. perniciosus* (Newstead, 1911)**

Synonymes (GBIF, 2019) = *Phlebotomus legeri* (Mansion, 1913)

= *Phlebotomus nigerrimus* (Newstead, 1911)

**Sous-genre *Paraphlebotomus***

***Ph. Par. alexandri* (Sinton, 1928)**

Synonyme (BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus borovskii* (Khodukin et Sofiev, 1931)

***Ph. Par. chabaudi* (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970)**

***Ph. Par. kazeruni* (Theodor et Mesghali, 1964)**

***Ph. Par. riouxi* (Depaquit, Léger et Killick-Kendrick, 1998)**

***Ph. Par. sergenti* (Parrot, 1917)**

**Genre *Sergentomyia***

**Sous-genre *Sergentomyia***

***S. Ser. antennata* (Newstead, 1912)**

Anciens noms (Rioux *et al.*, 1978) = *Phlebotomus minutus* (Rondani, 1843, 1912)

= *Phlebotomus africanus* (Newstead, 1912)

Synonymes (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus cinctus* (Parrot et Martin, 1944)

= *Phlebotomus occidentalis* (Theodor, 1933)

= *Phlebotomus minutus* var. *occidentalis* (Theodor, 1933)

= *Phlebotomus sanneri* (Galliard et Nitzulescu, 1931)

= *Phlebotomus signatipennis* (Newstead, 1920)

= *Sergentomyia cincta* (Parrot et Martin, 1944)

= *Phlebotomus antennatus* var. *cinctus* (Kirk et Lewis, 1949)

***S. Ser. bedfordi* (Newstead, 1914)**

Synonymes (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus aretasi* (Kervran, 1946)

= *Phlebotomus bereiri* (Kirk et Lewis, 1952)

= *Phlebotomus congolensis* (Bequaert et Walravens, 1930)

= *Phlebotomus cowlandi* (Lewis et Kirk, 1946)

= *Phlebotomus distinctus* (Theodor, 1933)

= *Phlebotomus firmatus* (Parrot et Malbrant, 1945)

= *Phlebotomus medius* (Kirk et Lewis, 1950)

= *Phlebotomus nairobiensis* (Theodor, 1931)

= *Phlebotomus aretsi* (Kervran, 1946)

***S. Ser. fallax* (Parrot, 1921)**

Synonyme (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus fallax* (Parrot, 1921)

[Basionyme]

= *Phlebotomus Sergentomyia minutus* var. *fallax* (Parrot, 1921)

Synonyme (Ristorcelli, 1945) = *Phlebotomus minutus signatipennis*

***Se. Ser. minuta* (Rondani, 1843)**

Anciens noms : (Rioux *et al.*, 1978 ; Ristorcelli, 1945) = *Phlebotomus minutus parroti* (Adler et Theodor, 1927)

= *Phlebotomus parroti* (Adler et Theodor, 1927)

= *Phlebotomus parroti blanci* (Ristorcelli, 1941)

= *Sergentomyia minuta subsp. parroti* (Adler et Theodor, 1927)

= *Sergentomyia minuta subsp. minuta* (Rondani, 1843)

= *Sergentomyia minuta subsp. parroti* (Adler et Theodor, 1927) [Bibionyme]

= *Phlebotomus italicus* (Adler et Theodor, 1931)

= *Sergentomyia parroti* (Adler et Theodor, 1927)

Synonymes : (GBIF, 2019) = *Phlebotomus meridionalis* (Plerantoni, 1924)

= *Phlebotomus minuta* (Rondani, 1843) [Basionyme]

= *Phlebotomus sardous* (Boglioli, 1934)

= *Sergentomyia sequens* (Perfiliew, 1941)

**S. Ser. schwetzi (Adler, Theodor et Parrot, 1929)**

Synonymes (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus aethiopicus* (Parrot, 1936)

= *Phlebotomus guiraudi* (Kervran, 1946)

= *Phlebotomus murphyi* (Lewis et McMillan, 1961)

= *Phlebotomus nigricans* (Parrot, 1948)

= *Phlebotomus symesi* (Sinton, 1930)

= *Phlebotomus schwetzi var. aethiopicus* (Parrot, 1936)

= *Phlebotomus schwetzi var. nigricans* (Parrot, 1948)

**Sous-genre Sintonius**

**S. Sin. christophersi (Sinton, 1927)**

Synonymes (BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus christophersi* (Sinton, 1927)

**S. Sin. clydei (Sinton, 1928)**

Synonymes (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus latiterna* (Theodor, 1958)

= *Phlebotomus vagus* (Parrot et Martin, 1939)

= *Phlebotomus viator* (Parrot et Martin, 1939)

= *Phlebotomus clydei* (Sinton, 1928)

**Sous-genre Parrotomyia**

**S. Par. africana (Newstead, 1912)**

Synonymes (GBIF, 2019 ; BIOINFO, 2019) = *Phlebotomus ater* (Parrot, 1936)

= *Phlebotomus furanus* (Lewis et Kirk, 1958)

= *Phlebotomus longior* (Parrot, 1936)

= *Phlebotomus magna* (Sinton, 1932)

= *Phlebotomus meridiana* (Meillon et Lavoipierre, 1944)

= *Phlebotomus niger* (Parrot et Schwetz, 1937)

= *Phlebotomus sudanicus* (Theodor, 1933)

= *Phlebotomus africanus var. longior* (Parrot, 1936)

= *Phlebotomus africanus var. niger* (Parrot et Schwetz, 1937)

**S. Par. lewisi (Parrot, 1948)**

**Sous-genre Grassomyia**

**S. Gra. dreyfussi (Parrot, 1933)**

Ancien nom (Parrot *et al.*, 1944) = *Sergentomyia squamipleuris var. dreyfussi* (Parrot, 1933).

Afin de mieux connaître la structure phlébotomienne du nord marocain, nous avons réalisé un inventaire taxonomique, entre avril et novembre 2010, au niveau de dix stations différentes (Bouchrif, Sidi Soufi et Bni Rbea de la province de Ouezzane; Hjafna Boughdor et Zirara de la province de Sidi Kacem; Aïchoune et Aît Chaïb de la province de Séfrou; Bouaâsem de la province de Boulemane; M'rouj de la province de Taounate et Oulad Aïd de la province de My. Yaâkoub. Lors de cette étude, nous avons inventorié six espèces de phlébotomes, regroupées en deux genres (*Phlebotomus* et *Sergentomyia*) et quatre sous-genres (*Phlebotomus*, *Paraphlebotmus*, *Larrousius* et *Sergentomyia*).

## **II.1. GENRE *PHLEBOTOMUS* RONDANI ET BERTE, 1840**

Le genre *Phlebotomus* regroupe toutes les espèces vectrices des leishmanioses dans l'Ancien Monde. Par distinction au Nouveau Monde, les critères d'inclusion dans ce genre sont :

- Soies des tergites abdominaux dressés.
- Formule antennaire 2/III-XV chez la femelle. Présence de deux antennes ascoïdes au moins jusqu'au sixième segment antennaire, chez le mâle.
- Armature buccale absente ou rudimentaire sans tache pigmentée.
- Coxite portant des soies longues sur la surface ventrale ou latérale.
- Spermathèque annelée ou incomplètement segmentée.

### **II.1.1. Sous-genre *Phlebotomus* s. s. Rondani et Berté, 1840**

Ce sous-genre est bien individualisé morphologiquement et possède un intérêt épidémiologique particulier puisqu'il comprend des espèces vectrices de leishmaniose cutanée à *Leishmania major*. Les critères d'inclusion dans ce sous-genre sont :

#### **Chez le mâle :**

- Coxite portant un petit lobe basal garni de quelques soies courtes et un placard de soies longues sur sa partie sub-terminale, dont le nombre est utilisé pour la diagnose différentielle des espèces ;
- Edéage court, conique et légèrement courbé à son extrémité.
- Paramère trilobé ;
- Lobe latéral armé ;
- Style long (3/4 du coxite) portant 5 épines dont 3 terminales.

#### **Chez la femelle :**

- Pharynx armé de dents squamiformes ;
- Spermathèque annelée avec une tête arrondie en bouton.

### **II.1.1.1. *Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786)**

#### **1. Systématique et critères morphologiques d'identification**

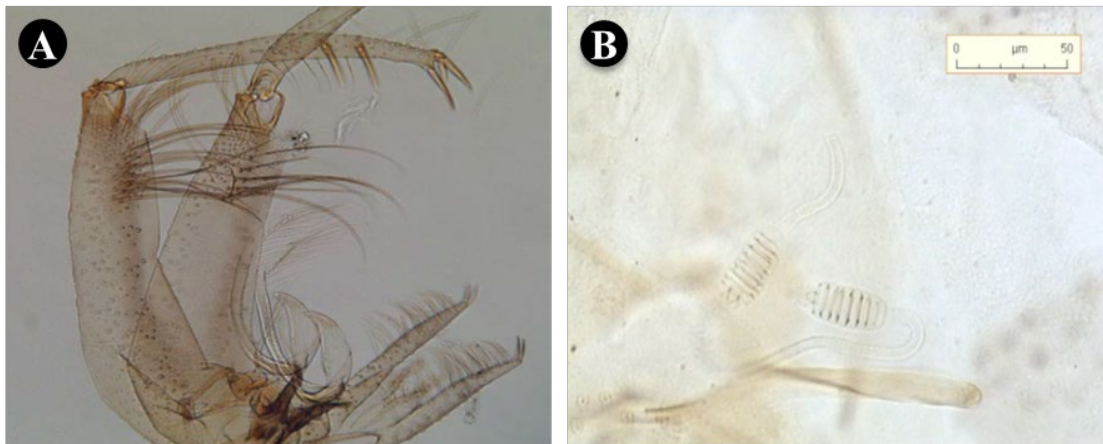
**Chez le mâle**, le genitalia est très développé (Fig. 29A). La longueur du coxite et du style réunis dépassent la longueur du thorax. Le style, long et grêle, porte cinq épines trapues ; trois apicales et deux sub-terminales plus proches l'une de l'autre que les trois premières. Le coxite, présente à sa base un petit lobe garni de quelques soies courtes et dans sa partie

sub-terminale une douzaine de soies longues bien différenciées. Le paramère, élément caractéristique du sous-genre, est trilobé. Il comporte :

- Un lobe ventral court portant à son extrémité distale une petite épine.
- Un lobe médian, digitiforme, plus court que le lobe ventral.
- Un lobe dorsal, le plus long, nettement arqué et hérissé de soies sur sa concavité.

**Chez le femelle,** Le lobe latéral porte à son extrémité distale deux épines spatulées. La morphologie des spermathèques et de l'armature pharyngienne permet l'identification de la femelle. Les spermathèques (Fig. 29B) sont annelées, sans col. Elles comportent six à dix annulations dont la dernière est de même taille que les précédentes. Ce caractère distingue la femelle de *P. papatasi* des représentants du sous-genre *Paraphlebotomus*, chez lesquels le dernier segment de la spermathèque est nettement différencié.

Le pharynx de *P. papatasi* femelle est orné de denticules larges sur les bords et plus petites au milieu. Le pharynx postérieur est armé d'une plage de dents écailleuses irrégulières dans leur forme et leur implantation.



**Figure 29 : A. Vue générale du genitalia mâle de *P. papatasi* ; B. Spermathèques femelle de *P. papatasi* (Guernaoui, 2006).**

## **2. Répartition géographique**

*P. papatasi* a été signalée pour la première fois en Grèce (Athènes) en 1911. *P. papatasi* est une espèce à répartition paléarctique méditerranéenne. En région afro-tropicale, elle est trouvée en Arabie Saoudite, au Soudan, en Somalie et en Ethiopie (Abonnenc, 1972). Elle se rencontre jusqu'en Asie centrale ; en Inde et au Bangladesh à l'est et du sud de l'ex URSS au nord. En Algérie, à l'image de sa répartition mondiale étendue, *P. papatasi* est énormément étalée sur tout le territoire algérien (Depaquit *et al.*, 2008b).

A l'échelle nationale, cette espèce est récoltée dans tout le pays où elle compte parmi les espèces les plus abondantes (Boussaa, 2008, 2016). La première observation sur la présence de *P. papatasi* au Maroc revient à Delanoë en 1916. C'est une espèce parmi les plus fréquentes (Bailly-Choumara *et al.*, 1971 ; Rioux *et al.*, 1997). Elle est rare dans les zones humides, et abondantes dans les zones arides. Ce phlébotome se rencontre avec une grande fréquence dans les stations chaudes et sèches, situées en terrain plat à couverture végétale rasée ou de type steppique (Rioux *et al.*, 1984 ; Rioux *et al.*, 1997 ; Guernaoui, 2000 ;

Boussaa, 2003, 2016 ; El Miri *et al.*, 2013). Une étude récente montre que le stress hydrique du sol influence négativement les densités de *P.papatasi* (Boussaa *et al.*, 2016).

Tout récemment cette espèce a été récoltée dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane, au sein de localités Zerara, Hjafna Bougdor, Bouchrif, Sidi Soufi et Bni Rbea (EL Miri *et al.*, 2013), dans la province de Moulay Yacoub au sein d'une niche entropique avec abondances remarquables (Lahouiti *et al.*, 2013, 2014), à Aichoune dans la province de Séfrou (Talbi *et al.*, 2015), à Ouaouizerth et Bzou dans la province d'Azilal (Zouirech *et al.*, 2013, 2015), au Maroc central et de sud (Kahalime *et al.*, 2015).

### **3. Ethologie**

*P. papatasi* est considérée comme une espèce très anthropophile et domestique (Depaquit *et al.*, 2001 ; Hanafi *et al.*, 2007). Elle est rencontrée avec un maximum de fréquence dans les stations de basse altitude au-dessous de 300m. Killick-Kendrick (1999) et Wasserberg *et al.*, (2003) ont remarqué que les basses et les hautes températures sont des facteurs limitant pour son activité. Au moyen Orient, les populations de Phlébotomes sont répandues d'avril à novembre avec un pic entre juin et aout (Kravchenko *et al.*, 2004).

Récemment, EL Miri *et al.*, (2013), déclarent qu'au niveau des provinces de Sidi Kacem et Ouazzane (nord ouest du Maroc), *P. papatasi* n'est apparue qu'à partir du mois de juin, avec un pic de densité au mois de septembre. La même évolution a été notée par Guernaoui *et al.*, (2005) dans la province de Chichaoua, par Orshan *et al.*, (2016) dans communauté coopérative (Urim) au nord d'Israel et par Reza *et al.*, (2006) à Shiraz, en Iran. Boussaa *et al.*, (2005), par contre, ont identifié deux pics de densité dans la zone urbaine de Marrakech, le premier en juin et le second en novembre.

La présence de cette espèce a été inféodée à la présence de terriers des rongeurs dans plusieurs foyers de leishmaniose à *L. major* (Schlein *et al.*, 1989 ; Janini *et al.*, 1995), en Libye (Ashford *et al.*, 1977), en Iran (Theodor et Mesghali, 1964), en Algérie (Cherif *et al.*, 2012) et Au Maroc (Bailly-Choumara *et al.*, 1971 ; Rioux *et al.*, 1982 ; Boussaa *et al.*, 2016 ; Mouloudi, 2017).

### **4. Rôle vecteur**

*Phlebotomus papatasi* est l'un des vecteurs les plus importants de la leishmaniose cutanée. Elle est endophile et anthropophile sur une vaste gamme (Hanafi Hanafi *et al.*, 2007 ; Schur *et al.*, 2004). De même, *P. papatasi* est un vecteur confirmé de *L. major* (Rioux *et al.*, 1986a Killick-Kendrick, 1990).

En Algérie, Le rôle de ce vecteur dans la transmission de la leishmaniose cutanée a été affirmé expérimentalement par Sergent *et al.*, (1921). L'isolement et le typage du parasite chez *P. papatasi* a affirmé son rôle épidémiologique dans plusieurs pays : en Iran par Yaghoobi-Ershadi *et al.*, (1995), en URSS, en Arabie Saoudite (Killick-Kendrick *et al.*, (1985a), en Tunisie (Ben-Ismaïl, 1987), en Egypte (Hanafi Hanafi *et al.*, 2007) et au Maroc (Rioux *et al.*, 1986b). La presque totalité des 1178 cas de LC qui ont atteint les troupes américaines en Irak entre Janvier 2003 et Novembre 2004 ont été attribués à *L. major* dont le principal vecteur est *P. papatasi* (Lay, 2004).

Au Maroc, Le cycle épidémiologique de cette forme, s'appuie sur la présence dans les sites de répartition, d'un rongeur commensal, *Mériones shawi* (Rioux *et al.*, 1982), qui joue le rôle de réservoir du parasite, sachant que, la transmission du parasite depuis le réservoir à l'homme se fait par le biais du *P. papatasi*. Toutes les souches isolées du réservoir, de l'homme et du vecteur sont identiques et se sont identifiées biochimiquement, comme étant *L. major* MON 25 (Rioux *et al.*, 1986b).

## 5. Commentaires sur nos captures

Au total, 934 spécimens de *P. papatasi* ont été captures par la méthode des pièges adhésifs et pièges lumineux. 62,5% de l'effectif total de *P. papatasi* proviennent des provinces de Sidi Kacem et Ouezzane seulement, sachant que, les 37,5% restante était présenté sur toutes les autres zones d'étude. Des stations précédemment prospectées par Jellouli (2006) dans la zone de Sidi Kacem montrent une faible dominance de *P. papatasi* par rapport aux autres espèces.

### II.1.2. Sous-genre *Paraphlebotomus* Theodor, 1948

#### II.1.2.1. *Phlebotomus Paraphlebotomus sergenti* (Parrot, 1917)

##### 1. Systématique et critères morphologiques d'identification

**Chez le mâle :** (Fig. 30A), le genitalia présente un style court et trapu, armé de quatre épines dont une terminale et trois autres insérées à des niveaux différents ; le lobe basal du coxite, étroit et court, porte six à dix soies relativement courtes ; le lobe latéral est plus long que le coxite, les valves péniennes sont en cône court à extrémité mousse et légèrement recourbées.

**Chez la femelle :** (Fig. 30B), des spermathèques annelées portant de trois à sept anneaux. Le segment terminal, aussi haut que large, est dilaté. Les conduits sont striés sur toute leur longueur. Le pharynx postérieur présente une plage écailleuse occupant moins du quart et formée de fortes écailles, très acérées et moins nombreuses que chez *P. alexandri*.

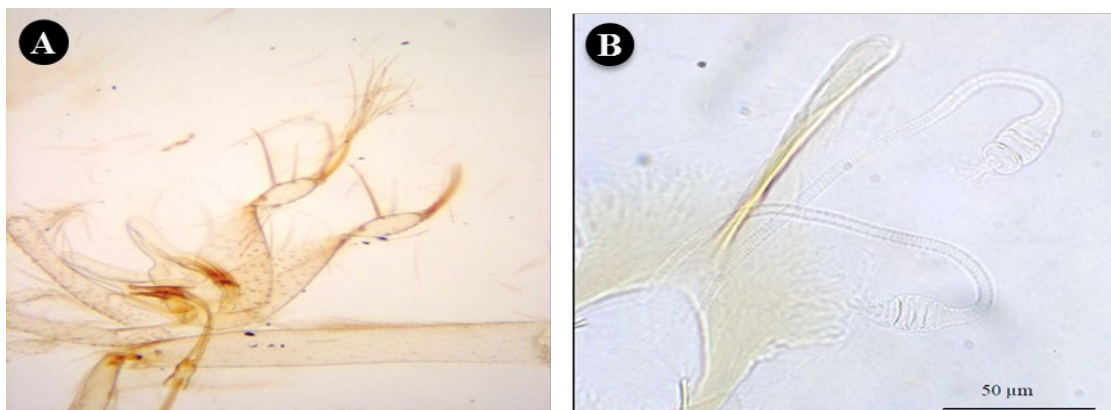


Figure 30 : A. Genitalia du mâle de *P. sergenti* ; B. Spermathèques de la femelle de *P. sergenti* (Guernaoui, 2006).

##### 2. Répartition géographique

*Phlebotomus sergenti* possède une aire de répartition très vaste, dépassant amplement celle du parasite (Depaquit *et al.*, 1998 ; Depaquit *et al.*, 2000a). Le mâle de l'espèce est décrit d'Algérie (Parrot, 1917), alors que la femelle est décrite du Portugal (Franca, 1918).

Adler et Theodor (1929) ont redessiné les mâles et les femelles à partir de spécimens appartenant à la collection de Parrot et de leurs propres collections de Palestine, Syrie et la Mésopotamie. Ils notent chez le mâle, l'existence d'un style globuleux termine par deux épines légèrement décalées. Dans la description de la femelle, ils ont recours à des caractères morphologiques internes comme l'armature pharyngienne et le réservoir de la spermathèque.

*Phlebotomus sergenti* est le principal vecteur de *leishmania tropica* (Guilvard *et al.*, 1991). Son aire de répartition est très étendue. Elle recouvre tout le bassin méditerranéen, le sud Sahara, la péninsule arabique, le Moyen- Orient et l'Ethiopie (Fig. 19). Depuis peu Au Maroc, cette espèce est récolté dans la province de Moulay Yacoub au sein d'une niche anthropique (Ouled Aïd) et une niche sauvage (Zliligh) (Lahouiti *et al.*, 2013, 2014), dans différentes localités au sein des provinces de Sidi Kacem et Ouazzane (El Miri *et at.*, 2013), a Aïchoune dans la province de Sefrou (Talbi *et al.*, 2015), a Ouaouizerth et a Bzou dans la province d'Azilal (Zouirech *et al.*, 2013, 2015), et a plusieurs régions au Maroc central et de sud (Kahime *et al.*, 2015).

En Algérie, *P. sergenti* est très fréquent, il est présent aussi bien au sud qu'au sahara central. Au Maroc, *P. sergenti* est signalé comme une espèce largement répandue dans tout le pays (Gaud 1947 ; Bailly-Choumara *et al.*, 1971 ; Rioux *et al.*, 1984) et présente une diversité génétique considérable (Yahia *et al.*, 2004) (Fig. 28).

### **3. Ethologie**

*Plebotomus sergenti* est une espèce zoo-anthropophile, représente une attention considérable, car elle est qualifiée de jouer le rôle d'hôte-vecteur dans le cycle des Leishmanioses à *Leishmania tropica*. Elle pique l'homme à l'intérieur et à l'extérieur des habitations. Ce phlébotome peut être récolté non seulement dans les gîtes sauvages mais également près des habitations humaines (Yaghoobi-Ershadi *et al.*, 2003). Il est également capturé dans les abris d'animaux (Bailly-Choumara *et al.*, 1971).

Durand-Delacre et Memin, 1953 in Croset (1969) ont récolté par la technique des pièges adhésifs aussi bien d'échantillon en zone inhabité qu'en zone habité. Al Zahrani *et al.*, (1997) constatent que lorsqu'il est abondant, *P. sergenti* est capturé en plus grand nombre par les pièges lumineux que par les pièges adhésifs. Cette espèce aurait son optimum écologique aux étages sub-humide et semi-aride (Berchi, 1993). Telles populations de *P. sergenti* sont jugées comme des vecteurs domestiques et endophiles, notamment repéré dans les zones de montagnes, à une altitude supérieure à 2500 m.

La sous-espèce *P. sergenti sergenti* se rencontre dans des zones a climats arides, voire désertiques (Rioux *et al.*, 1986 ; Frayauff *et al.*, 1995). La population adulte des phlébotomes est fréquente du mois d'avril à novembre et domine entre juin et aout. Ils sont plus abondants pendant l'été dans les périmètres d'habitats irrigues (les jardins, les champs, les plantations). Les femelles de *P. sergenti* enregistrent un pic d'activité après le coucher du soleil (20.00-22.00 heures), alors que l'activité des mâles dure plus tard dans la nuit. Bien entendu qu'une légère élévation de l'activité a été signée avant l'aube (02.00 - 04.00 heures) (Kravchenko et Wasserberg, 2004).

#### **4. Rôle vecteur**

*P. sergenti* est un vecteur confirmé de *L. tropica*, au laboratoire (Killick-Kendrick *et al.*, 1995) et dans la nature (Volf *et al.*, 2002 ; Svobodova et Votypka (2003)). En Iraq, *P. sergenti* est un vecteur connu de *L. tropica* (Coleman *et al.*, 2006). L'occupation dans certains foyers comme le Maroc, la Tunisie, le Syrie et l'Inde du même zymodème chez le chien et l'homme, pose toutefois le problème d'une dynamique différente du cycle épidémiologique, en fonction des régions (Ajouad *et al.*, 2015).

L'aire de répartition de *P. sergenti* située entre les zones telliennes et les zones steppiques présahariennes, correspond à celle de la leishmaniose cutanée endémique dans le sud, sous sa forme zoonotique et sporadique dans le tell. En Iran, l'analyse morphologique et moléculaire (DNAm) des populations de *P. sergenti* ont permis de mettre en évidence trois lignées de *P. sergenti* en fonction de la distribution géographique (Moin-Vaziri *et al.*, 2007b). C'est aussi la première fois que *P. sergenti* est impliqué dans la transmission de *L. tropica* en Ethiopie ; l'isolement de *L. aethiopica* par *Paraphlebotomus* d'une espèce (*P. sergenti*) est également un nouveau record. La présence éventuelle de la leishmaniose cutanée (*L. tropica* et *L. aethiopica*), et des réservoirs sauvages hôtes des parasites, en particulier rock hyrax (*Procavia capensis*) dans le Haut et le Moyen-Aouache Valley restent à être déterminé (Gebre-Michael *et al.*, 2004).

#### **5. Commentaires sur nos captures**

Pendant nos captures (d'avril à novembre 2010), *P. sergenti* était présent dans toutes les stations d'étude. Elle est de loin l'espèce dominante (44,8% des captures). Cette espèce, est très abondante dans les captures sur papiers huilés par rapport aux pièges lumineux. Les adultes de *P. sergenti* étaient actifs durant les six mois d'étude (entre avril et novembre), dans toutes les stations prospectées, avec une évolution bimodale durant la période d'étude. Des études antérieures ont montré que *P. sergenti* est largement répandu au Maroc (Baily choumara *et al.*, 1991 ; Rioux *et al.*, 1997).

#### **II.1.3. Le sous-genre *Larroussi***

Ce sous-genre du genre *Phlebotomus* est bien connu aussi bien par sa morphologie que par son rôle vecteur dans la transmission de *L. infantum*, agent causal de la leishmaniose viscérale chez l'homme et le chien (Rioux *et al.*, 1986).

D'après Killick-Kendrick (1990) et Belazzoug (1992), *P. ariasi* et *P. perniciosus* sont, des vecteurs de *L. infantum* dans les pays méditerranéens. Ils sont également vecteurs d'arbovirus. Verani *et al.*, (1991, 1995) indiquent que dans la famille des Bunyaviridae *Phlebovirus*, Toscana virus et l'Arbia virus, sont isolés chez *P. perniciosus* alors que, Comer et Tesh (1991) mentionnent que dans la famille des Rhabdoviridae *Vesiculovirus*, Radi virus est également isolé chez *P. perniciosus*. Les caractères morphologiques élémentaires qui servent de définir ce sous-genre sont :

##### **Chez le mâle :**

- La présence de cinq longues épines sur le style (dont deux terminales et trois médianes);
- Des lobes latéraux non armés ;

- Des filaments génitaux, relativement courts.

**Chez la femelle :**

- Le corps de la spermathèque est annelé, avec une petite tête arrondie portée par un long cou ;
- Le pharynx armé de dents punctiformes disposées selon des lignes courbes concentriques ou sub-concentriques.

La diagnose de *P. Larroussius perniciosus* n'est pas toujours facile, surtout dans les régions où elle subsiste en sympatrie avec l'espèce affine *Phlebotomus Larroussius longicuspis*.

*P. longicuspis* depuis sa description, n'est connu que d'Afrique du nord et n'a été signalé (mâle seulement) en Espagne qu'en 1982 par Morillas-Marquez *et al.*, (1982). Dans l'est Algérien, cette espèce se retrouve dans tous les étages bioclimatiques, notamment dans les zones humides (Berchi, 1993). Depuis peu, sa présence a été signalé au sud du Sahara, au Burkina Faso (Depaquit *et al.*, 2005). *P. perniciosus* est une espèce ouest méditerranéenne dont l'aire de répartition en Europe s'étale du Portugal à la Slovénie. En Afrique du nord, il est retrouvé surtout en bioclimat humide à semi-aride.

Les travaux de Benabdennbi et Pesson (1998) dans l'Ouest rifain (Maroc) ont montré l'existence de quelques exemplaires mâles présentant cette même morphologie intermédiaire. A Chefchaoune (nord du Maroc), Benabdennbi et Pesson (1998) et Benabdennbi *et al.* (1999) ont identifié les femelles des deux espèces, mais aucun mâle ne présentait des valves bifurquées. En première analyse morphologique, tous ont été considérés comme *P. longicuspis*. Une double approche isoenzymatique et morphologique a pu distinguer deux taxons ; les mâles ayant des valves péniennes effilées à apex incurvés appartiennent en fait au taxon *P. perniciosus*. Le nombre des soies sur le coxite est caractère taxinomique permettant de séparer ces deux morphes.

Des travaux récents (Pesson *et al.*, 2004) ont montré, dans le nord marocain, en plus de *P. longicuspis s.s.*, *P. perniciosus* (forme typique et forme atypique), l'existence d'individus hybrides entre *P. longicuspis* et *P. perniciosus* et d'une espèce cryptique de *P. longicuspis*.

**II.1.3.1. *Phlebotomus Larroussius perniciosus* (Newstead, 1911)**

**1. Systématique et critères morphologiques d'identification**

*Phlebotomus perniciosus*, l'une des premières espèces étudiées dans le bassin méditerranéen, est décrite dans l'île de Malte par Newstead (1911). Ce dernier différencie les mâles, morphologiquement, par l'extrémité bifurquée de leur valve copulatrice, avec occasionnellement une petite dent surnuméraire. Parrot démontre en 1936, en comparant des individus de France, d'Algérie et d'Espagne que celle-ci demeurant très polymorphe. L'identification de cette espèce basée sur des caractères externes, est qualifiée d'incomplète par Raynal (1954).

**Chez le mâle :**

- ☆ La valve pénienne (Fig. 29) est bifurquée à l'extrémité ;
- ☆ La fourche terminale est très polymorphe ;

- ★ Ces variations morphologiques sont à l'origine de la description de nombreuses sous espèces ou variétés qui ont été par la suite élevées au rang d'espèces comme, *P. tobbi*, *P. langeroni*, *P. orientalis* et *P. longicuspis*.

**Chez la femelle :**

- ★ Le corps de la spermathèque comporte une dizaine des segments, le processus terminal présent un long cou dont le diamètre diminue progressivement de la base à l'extrémité distale avec une petite tête arrondie ;
- ★ L'aspect de la spermathèque de *P. perniciosus* (corps, processus terminal et conduit) sont identiques à ceux de *P. longicuspis*. Le seul caractère différentiel a été mis en évidence au niveau de la partie terminale du conduit de la spermathèque (Leger *et al.*, 1983).

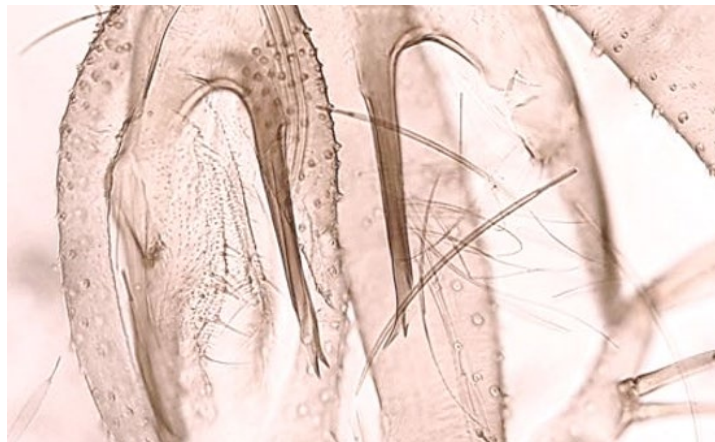


Figure 31 : Valves péniennes de *Phlebotomus perniciosus* (Zarrouk, 2018)

## 2. Répartition géographique

*Phlebotomus perniciosus* a été décrite par Newstead en 1911 dans l'île de Malte. Cette espèce occupe une partition géographique importante dans le bassin méditerranéen (Lewis, 1982). Marchais déclare en (1992) que la répartition de *P. perniciosus* semble limitée à l'est par les chaînes dinariques, du fait de sa présence jusqu'en Istrie et de son absence dans tous les pays situés à l'est de la Croatie. Ainsi, la répartition géographique de *P. perniciosus* s'étend du nord vers le sud avec une augmentation parallèle à sa relative abondance. Jusqu'en 1937, *P. perniciosus* est prédomine généralement sur le littoral et les Hauts Plateaux. C'est en 1937 que Parrot et Goanach rejoindre *P. perniciosus* dans le sud à Tamanrasset (Hoggar a une altitude de 1400 m), étendant ainsi l'aire de distribution de cette espèce jusqu'aux frontières de la région éthiopienne (Parrot et Picheyre 1941b). Parrot et Clastrier ont annoncé en 1936 à G'Houfi la présence de *P. perniciosus*, parmi sept espèces de phlébotomes. Les captures de Dedet et Addadi en 1974, le long d'un itinéraire transect dans le massif montagneux de l'Aurès, ont permis d'identifier quelques spécimens cette espèce (Dedet et Addadi, 1977).

*Phlebotomus perniciosustres* répondu en Algérie ou elle a été signalée pour la première fois par Sergent (1941). Dans l'est Algérien, cette espèce se retrouve dans tous les étages bioclimatiques, cependant une fréquence élevée dans les régions humides (Berchi, 1993). Egalement, sa distribution s'étend au sud, les Aurès, la Steppe et la zone présaharienne où le bioclimat est aride voir même saharien (Berchi, 1993 ; Moulahem *et al.*, 1998).

Au Maroc, Gaud et Laurent (1952) trouvent exceptionnellement *P. perniciosus* dans les alentours de Rabat. Bailly-Choumara *et al.* (1971) entre 1965 et 1970 capturent *P. perniciosus* dans diverses régions naturelles : plaines et collines nord-Atlantique (Rabat), plateau central, plaines moyennes intérieures, Haut-Atlas (Tizi-n-Test ; 2100m), Anti-Atlas (Taфраout ; 1050m) et Maroc oriental (Itzer ; 1650 m). En 1973 et 1975, Rioux *et al.* attirent l'attention sur la rareté des captures de *P. perniciosus*. Ce phénomène pourrait expliquer l'absence de leishmaniose viscérale dans ces régions.

*P. perniciosus* est proportionnellement peut abondant, déterminée comme vecteur de *L. infantum* MON-1 en Algérie (Zhioua *et al.*, 2007 ; Seridi *et al.*, 2008), ce qui confirme les observations faites à Alger en 1933a par Parrot *et al.* Au Maroc trois espèces du sous-genre *Larroussius* dont *P. perniciosus* sont revoquer en doute de transmettre *L. infantum* (Killick-Kendrich, 1990 ; Rioux *et al.*, 1997 ; Guernaoui *et al.*, 2005b).

Recemment, *P. perniciosus* est récolté dans la province de Moulay Yacoub au sein d'une niche antropic d'Ouled Aid (Lahouiti *et al.*, 2013, 2014), dans les deux provinces de Sidi Kacem de Sidi Kacem et Moulay Yakoub (El Miri *et al.*, 2013), également dans la province de Sefrou a Aïchoune (Talbi *et al.*, 2015), aux Ouaouizerth et Bzou dans la province d'Azilal (Zouirech *et al.*, 2013, 2015), et au Maroc central et de sud (Kahime *et al.*, 2015).

Les deux espèces (*P. longicuspis* et *P. perniciosus*) ont des préférences bioclimatiques bien définies. Rioux *et al.*, montrent en 1984, une distribution différente selon l'étage climatique. Ainsi *P. perniciosus* se rencontre à l'étage sub-humide et *P. longicuspis* à l'étage sub-humide à semi-aride. De même, l'altitude semble avoir une influence sur leur abondance. Guernaoui *et al.*, en 2006, montrent dans une étude que *P. longicuspis* vit préférentiellement entre 600 et 800 m d'altitude alors que *P. perniciosus* se trouve majoritairement entre 1000 et 1200 m.

### **3. Ethologie**

*P. perniciosus* est connue comme espèce endophile et anthropozophile (Rossi *et al.*, 2008). Le transect entomologique effectué par (Rioux *et al.*, 1986a). a montré une relative abondance de *P. perniciosus* dans les zones bioclimatique arides Deux pics annuels de forte densité sont distingués en Afrique du nord, en Italie et dans les Baléares. L'un observé en juin, l'autre de fin aout à fin septembre (Biocca *et al.*, 1977 ; Garcia, 1991). En Algérie également, deux pics maximums sont signalés l'un en juin-juillet et l'autre en octobre (Dedet et Addadi, 1984 ; Berchi, 1993). En Italie, Rossi *et al.* (2008), *P. perniciosus* apparait assez tôt dans l'année, habituellement dès le mois de mai et persiste jusqu'à octobre. Dans une étude sur les phlébotomes marocains, Guernaoui *et al.* (2006) montrent que cette espèce se trouve fréquemment entre 1000 et 1200 m. Sa prédominance est plus importante dans les sites domestiques que dans les sites de repos sauvages.

### **4. Rôle vecteur**

Le rôle de *P. perniciosus* joué dans la transmission de la *L. viscerale* dans le bassin méditerranéen a été suspect par Sinton dès 1925. Par la suite, Izri (1992b) a trouvé une femelle parasitée par *L. infantum* MON-1 en Kabylie et rapporte que le taux de *P. perniciosus* naturellement infesté dans le sud de la France est plus élevé (Harrat *et al.*, 1996 ; Djerbouh *et al.*, 2005). Effectivement, *P. perniciosus* a été affirmé en tant que vecteur de leishmanioses viscérale et cutanée due à *L. infantum*, au Portugal, en Italie, en Tunisie et au Maroc, où les hôtes réservoirs sont des Canidae (Izri *et al.*, 1990).

## 5. Commentaire sur nos captures

Durant la période d'étude (d'avril et novembre 2010), *P. perniciosus*, vecteur potentiel de *L. infantum* au Maroc, était présent dans presque toutes les stations étudiées, avec une abondance relativement faible. Les adultes de *P. perniciosus* étaient actifs durant les six mois d'étude (entre avril et novembre) avec une évolution unimodale.

### II.1.3.2. *Phlebotomus L. longicuspis* (NITZULESCU, 1930)

#### 1. Systématique et critères morphologiques d'identification

*P. longicuspis* décrite en Tunisie par Nitzulescu (1930). L'auteur considère les variantes morphologiques de *P. perniciosus* de Tunisie comme une nouvelle variété : *P. langeroni* var. *P. longicuspis* élève au rang d'espèce par Parrot (1936). Par ailleurs, *P. longicuspis* est étroitement apparenté à *P. perniciosus* (Newstead, 1911). D'après des travaux basés sur des caractères morphologiques, isoenzymatiques et moléculaires, il semblerait qu'il s'agit d'un complexe d'espèces (Benabdennebi *et al.*, 1999 ; Martin-Sanchez *et al.*, 2000 ; Pesson *et al.*, 2004). Ces derniers auteurs ont mis en évidence 3 morphotypes mâles et 2 femelles.

L'éthologie de cet insecte est généralement rapprochée de celui de *P. perniciosus*, particulièrement en ce qui concerne l'identification des femelles (Benabdennabi *et al.*, 1999 ; Pesson *et al.*, 2004).

**Le mâle** diffère par la morphologie de la structure terminale de la valve pénienne et par le nombre de soies sur la face intérieure du coxite. La valve pénienne (Fig. 32A) est simple, droite, pointue et effilée avec 22 soies sur le coxite de *P. longicuspis* typique (*P. longicuspis sensu stricto*). Pour l'espèce atypique, la valve pénienne possède un nombre de soie comprise entre 19 et 21 soies au niveau du coxite.

**La femelle** diffère par la morphologie au niveau de la dilatation basale du conduit de la spermathèque (Fig. 32B). Ces conduits apparaissent réfringents avec une lumière large et un aspect cordiforme caractéristique. Quelques années plus tard, Leger *et al.*, (1983), identifient les femelles appartenant au sous-genre *Larroussi* à partir de l'observation de l'armature du pharynx et du corps de la spermathèque.

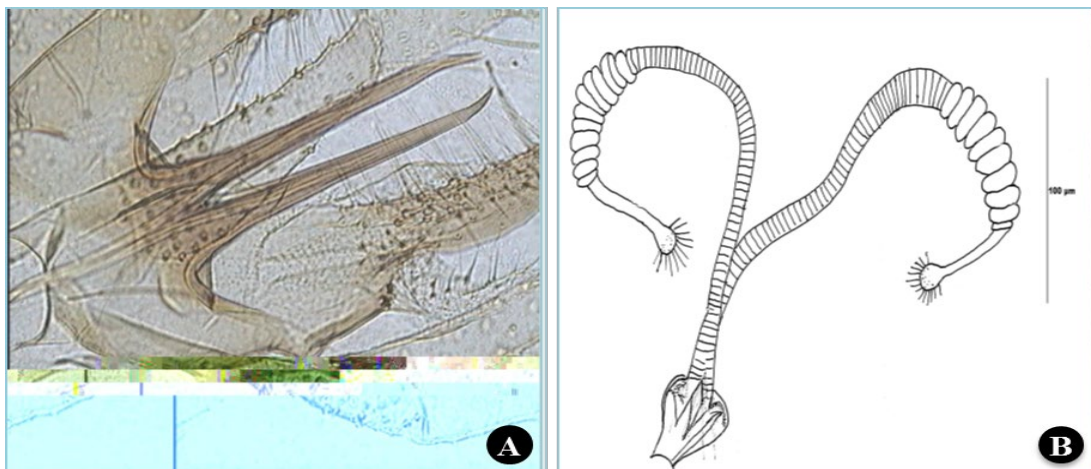


Figure 32 : A. Valves péniennes du mâle de *P. longicuspis* ; B. Spermathèques de la femelle de *P. longicuspis* (Guernaoui, 2006).

## 1. 1. Comparaison entre le complexe *P. perniciosus*

### a. Comparaison morphologique

*Phlebotomus perniciosus* a révélé l'existence de formes atypiques en Espagne (Morillas-Marquez *et al.*, 1991) et au Maroc (Benabdenni et Pesson, 1998 ; Benabdenni *et al.*, 1999). Celles-ci peuvent être à l'origine d'erreurs d'identification et par conséquent être confondues avec l'espèce affine *Phlebotomus longicuspis* (Martin-Sanchez *et al.*, 2000). Le principal caractère discriminant utilisé pour separer les mâles de *P. perniciosus* et *P. longicuspis* est le dénombrement des soies coxales (Benabdenni *et al.*, 1999 ; Pesson *et al.*, 2004 ; Berchi *et al.*, 2007). Au contraire, la différenciation entre les femelles des deux (basée sur la partie distale des spermathèques) ne pose pas de problème (Leger *et al.*, 1983).

Les mâles de *P. perniciosus* sont identifiés par des valves péniennes bifurquées a extrémités pointues de 8 à 19 soies, alors qu'il est nettement plus élevé chez *P. longicuspis* ou il peut atteindre 30 soies (Pesson *et al.*, 2004) (Fig. 33A). Ils peuvent parfois présenter des valves à pointe unique et par conséquent être facilement confondue avec *Phlebotomus longicuspis* qui possède un édéage a extrémité simple effilée plus ou moins incurvée (Fig. 33C).

Pour vérifier s'il y a une confusion, Bounamous *et al.* (2008) différencient ces deux espèces affines grâce au critère morphologique basé sur le nombre de soies médianes des coxites (Fig. 33B et D). *P. perniciosus* présente généralement un nombre de soies inférieur à 18, alors que chez *P. longicuspis* il est supérieur à ce nombre. La comparaison des moyennes effectuées sur les populations de *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus longicuspis* par le test de Student montre qu'il existe une différence significative entre les deux espèces au seuil de 1%. Les résultats obtenus indiquent a priori qu'il ne peut y avoir de confusion entre ces deux espèces dans les régions prospectées.

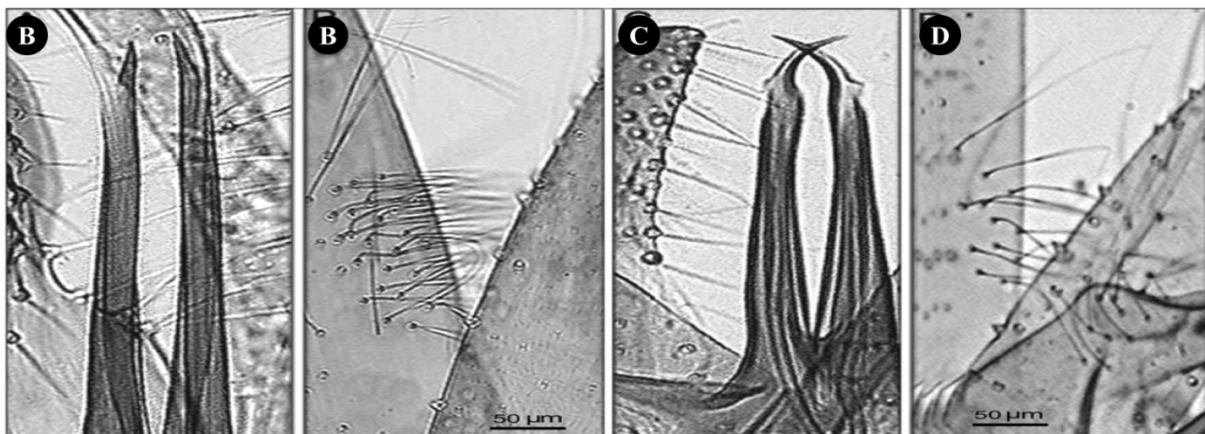


Figure 33 : A. Extrémité des valves péniennes de *P. longicuspis* ; B. Extrémité des soies médianes des coxites de *P. longicuspis* ; C. Extrémité des valves péniennes de *P. perniciosus* ; D. Extrémité des soies médianes des coxites de *P. perniciosus* (Guernaoui, 2006).

Ces deux espèces sont par leurs comportements assez proches l'une de l'autre. Dans leurs diagnoses, les caractères utilisés pour identifier les mâles reposent sur l'appareil génital. Si les mâles de *P. perniciosus* se différencient par la présence de valves péniennes bifurquées à extrémités pointues (Fig. 31C) il se peut que ce critère soit absent. Cette observation est rapportée par Benabdenni *et al.* (1999) dans le nord du Maroc où des populations de *P. perniciosus* mâles présentent des valves péniennes a pointe unique et sont donc facilement

confondus avec *P. longicuspis*. Les résultats de Bounamous *et al.* (2008) de l'analyse morphométrique en Algérie basée sur le nombre de soies médianes des coxites ne révèlent pas de formes atypiques et par conséquent aucune confusion entre ces deux espèces affines n'est à signaler. Cependant, sachant que le caractère bifide peut faire défaut, le dénombrement des soies, peut être un critère pour confirmer l'identité de *P. perniciosus* et de *P. longicuspis* (Benabdennbi *et al.*, 1998). La caractérisation biochimique et moléculaire de ces populations est préconisée.

## **b. Comparaison moléculaire**

Bounamous *et al.* (2008) confirment cette identification morphologique par séquençage d'une partie de gène du cytochrome B, COX I et par le gène ND4 de l'ADN mitochondrial qui met en évidence une homologie totale entre les espèces.

## **2. Répartition géographique**

*Phlebotomus longicuspis* vit dans la partie occidentale du bassin méditerranéen. Leur zone d'attribution s'étend de la limite nord du Sahara au sud de la péninsule ibérique. *P. longicuspis* est donc en sympatrie sur à peu près la totalité du territoire de distribution de *P. perniciosus* (Bounamous, 2010). Depaquit *et al.* (2005b) identifient pour la première fois des *P. longicuspis* à Ouagadougou. *Phlebotomus longicuspis* est l'espèce vitale dans la zone bioclimatique subsaharienne avec une abondance relative (Ayadi *et al.* (1991)). Des résultats similaires en Tunisie ont été signalés par Zhioua *et al.* (2007). *P. longicuspis* a été cité pour la première fois en Algérie par Parrot (1936). Le même auteur en 1951, mentionne sa présence à Alger et dans sa banlieue où elle est plus commune avec *P. perniciosus* (Bounamous, 2010). En 1956 Clastrier, récolte *P. longicuspis* dans la ville de Biskra et dans la palmeraie voisine (Parrot et Clastrier, 1956).

Au Maroc, Ristorcelli (1939) annonce pour la première fois la présence de *P. langeroni* var. *longicuspis* au sud du Maroc dans la localité de Taghjicht. A Rabat, Gaud et Laurent (1952) récupèrent *P. longicuspis* réuni à *P. perniciosus*. Les travaux de Bailly-Choumara *et al.* (1971) font état de la présence de *P. longicuspis* qui se répartit dans les différents étages bioclimatiques, ainsi que dans la totalité des régions géographiques. Lors de ces captures, *P. longicuspis* n'est jamais signalé comme associé à *P. perniciosus*. Des résultats identiques ont été signalés dans le sud du Maroc où *P. longicuspis* est l'espèce la plus nombreuse dans les zones bioclimatiques arides et par conséquent, il est suspecté d'être le seul vecteur de la L. viscérale dans cette région (Deureure *et al.*, 1986 ; Rioux *et al.*, 1997).

## **3. Ethologie**

Selon Rioux *et al.* (1984), *P. longicuspis* est plus peuplé dans les zones bioclimatiques semi-arides, arides et per-aride méditerranéennes. D'après Bailly-Choumara *et al.* (1971), cette espèce est active de mai à octobre, avec une densité maximale de juin à septembre. Guernaoui *et al.* (2006b) découvrent que *P. longicuspis* vit préférentiellement entre 600 et 800 m d'altitude.

## **4. Rôle vecteur**

En Algérie, et depuis les années quarante, cette espèce est considérée comme un important vecteur de *L. infantum* (Parrot *et al.*, 1941 ; Parrot et Donatien 1952 ; Rioux *et al.*, 1990), qui pourrait jouer un rôle avec *P. perniciosus* dans la transmission de la leishmaniose viscérale

(Izri *et al.*, 1990 ; Moulahem *et al.*, 1998 ; Harrat et Belkaid, 2003). En Tunisie *P. longicuspis* est responsable de la *L. viscerale* dans le sud du pays (Zhioua *et al.*, 2007).

### 5. Commentaire sur nos captures

Nous avons capturé 1864 spécimens de *P. longicuspis*, ce qui représente 27,9% de nos captures. Elle est disséminée dans toutes les zones prospectées (Bouchrif, Sidi Soufi, Bni Rbea, Zerara, Hjafna Bogdor, Aît Chaâb, Aîchoune, Oulad Aîd, Bouaâsem et M'rouj), que ça soit par les pièges adhésifs ou encore par les pièges lumineux. Cette espèce se situe en deuxième position sur le plan numérique. Elle était fréquente et largement répandue au Maroc (Bailly-Chaumara *et al.*, 1971). Rioux (1999) considère que c'est une espèce plutôt inféodée aux zones semi arides et subhumides.

#### II.1.3.3. *Phlebotomus L. ariasi* (TONNOIR, 1921)

##### 1. Systématique et critères morphologiques d'identification

**Chez le mâle**, La forme des valves péniennes (Fig. 34A) est courte et renflées en battant de cloche. Cette forme permet de séparer les mâles de *P. ariasi* de ceux de *P. Chadlii* et de *P. mariae*. Chez *P. chadlii* les valves péniennes sont élargies à l'apex en forme de glaive, alors que celles de *P. mariae* sont effilées et directement renflées à leur extrémité. Par ailleurs, la touffe de soies ornant la face interne du coxite compte 38-78 soies disposées régulièrement chez *P. chadlii*, alors que ce nombre n'est jamais supérieur à 32 chez *P. ariasi* et *P. mariae*.

**Chez la femelle**, Le conduit de la spermathèque (Fig. 34B) est fusiforme dans sa partie terminale aboutissant directement dans l'atrium génital. La paroi du conduit fait apparaître une structure gaufrée. Le réservoir est constitué de 10 à 14 anneaux. Le cou est court et trapu et présente aussi un manchon hyalin. La plage de denticulations pharyngienne très postérieure, occupe à peine le dixième de la longueur totale de l'organe. Elle est armée de grosses dents séparées par des replis transversaux concaves en avant, elle présente une plage plus antérieure à petites dents insérées sur des lignes concaves en avant.



Figure 34 : A. Génitalia du mâle de *P. ariasi* ; B. Spermathèques de la femelle de *P. ariasi* (Guernaoui, 2006)

## **2. Répartition géographique**

L'espèce *P. ariasi* est un phlébotome ubiquiste, le mâle a été décrit pour la première fois par Tonnoir, en 1921 sur un lot provenant de Barcelone. La femelle sera identifiée en 1930 par Nitzulescu dans un lot de phlébotomes provenant des Alpes Maritimes au sud de la France (Izri *et al.*, 1992). L'aire de sa distribution englobe le bassin méditerranéen occidental, avec un maximum de densité à l'étage humide à hiver frais. Sa présence, est signalée au Portugal (Meira et Ferreira, 1944). En Espagne, son abondance dans le sud-est du pays où sévit *L. infantum*, lui confère un rôle suprême avec *P. perniciosus* dans la transmission du parasite (Morillas Marquez *et al.*, 1995). En Italie, *P. ariasi* se trouve uniquement dans l'Est du pays. En Algérie, cette espèce a été signalée pour la première fois dans le massif des Aurès par Parrot (1936). L'aire de répartition de *P. ariasi* est essentiellement tellienne (Dedet et Addadi, 1984 ; Izri, 1994). En Tunisie l'espèce est signalée par Croset *et al.* (1966).

Au Maroc, la première mention de *P. ariasi* daté de 1947 (Gaud, 1947). C'est une espèce peu fréquente, répandue sur l'ensemble du pays, des plaines nord atlantique (climat sud humide) aux flancs des Moyen et Haut-Atlas (Bailly-Chaumara *et al.*, 1971 ; Abonnenc *et al.*, 1972).

## **3. Ethologie**

L'espèce *P. ariasi*, apparaît inféodée aux étages bioclimatiques humides et sub-humides, et se rencontre dans la cédraie. En Grande Kabylie, *P. ariasi* atteint 1400 m d'altitude (Dedet *et al.*, 1984) et dans les Pins maritimes en France, elle atteint 850 m d'altitude (Izri *et al.*, 1992).

## **4. Rôle vecteur**

En Afrique du nord, *P. ariasi* est présent en trop faible quantité pour qu'il soit possible de lui reconnaître un rôle effectif dans la transmission (Dedet *et al.*, 1984). *P. ariasi* et *P. perniciosus* sont signalés comme vecteurs de *L. infantum* dans les pays méditerranéens (Killick-Kendrick, 1984, 1990 ; Belazzoug, 1992).

*P. ariasi*, anthropo-zoophile, pique de préférence le chien. Elle a été reconnue comme le vecteur de la leishmaniose viscérale dans le foyer cévenol français. En effet, sa densité est très élevée (Rioux *et al.*, 1969b). *P. ariasi* a pu être infecté expérimentalement à partir de chiens leishmanies (Rioux *et al.*, 1972), et l'on trouve spontanément infesté (Rioux *et al.*, 1973). Enfin, la transmission expérimentale de chien à chien par la pique de la femelle de *P. ariasi* a été démontrée par Rioux *et al.*, (1969b). *P. ariasi* est connu comme vecteur de *L. viscéral* en Europe dont le réservoir canin est abondant dans ces régions (Izri *et al.*, 1992). Cette espèce est actuellement connue comme vectrice de *L. viscérale*. (Rioux *et al.*, 1984a).

## **5. Commentaire sur nos captures**

Durant la période d'étude (avril - novembre 2010), *P. ariasi*, vecteur potentiel de *L. infantum* au Maroc, était présent dans presque toutes les stations d'études, avec une abondance relativement très faible. En effet, Nous avons capturé 74 spécimens durant la période de piégeage, dont 56 phlébotomes par les pièges lumineux et 18 par les pièges adhésifs.

## **II.2. Genre *Sergentomyia* França et Parrot, 1920**

Les phlébotomes du genre *Sergentomyia* sont connus depuis longtemps comme se nourrissant sur les reptiles. Ils sont impliqués dans la transmission de *Sauroleishmania*, Trypanosomatides de reptiles dans l'ancien monde. Ils ne présentent donc pas de risque épidémiologique pour l'Homme (Lane, 1993) bien que certaines espèces se nourrissent sur l'Homme (Hoogstraal *et al.*, 1962). Plusieurs virus ont été isolés des phlébotomes du genre *Sergentomyia* comme le virus *Saboya chandipura* et les virus ArD 95737 (Ba *et al.*, 1999) et ArD 111740 (Charrel *et al.*, 2006). Récemment, l'isolement de l'ARN de virus humains chez les espèces du genre *Sergentomyia*, a permis de soupçonner leur rôle vecteur (Geevarchese *et al.*, 2005 ; Charrel *et al.*, 2006). Le genre *Sergentomyia* regroupe jusqu'aux 12 sous-genres (Artemiev, 1991). Selon Theodor (1958), les critères d'inclusion de ce genre sont :

- ☞ Les poils des tergites abdominaux 2 à 6, tous couchés (ou éventuellement quelques soies dressées sur le bord postérieur) ;
- ☞ La formule antennaire (sauf exceptions) 2/III - XV chez la femelle et 1/III - XV chez le mâle ;
- ☞ La formule papillaire (sauf exception : 1/III - IV ;
- ☞ Le cibarium armé avec une plage pigmentée plus ou moins développée ;
- ☞ Les spermathèques annelées, segmentées ou tubulaires ;
- ☞ Les styles porteurs de 4 longues épines et d'une petite soie ventrale non caduque.

D'après les travaux de Belazzoug (1991) et Izri (1994) dix espèces du genre *Sergentomyia* sont identifiées en Algérie. Malgré cette richesse spécifique, seules des études morphologiques ont été menées sur les espèces de ce genre en Algérie et aucune caractérisation moléculaire n'est rapportée.

### **II.2.1. Sous-genre *Sergentomyia* Franca & Parrot, 1921**

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

**Chez le mâle**, édéage épais digitiforme, arrondi à son extrémité.

**Chez la femelle**, la spermathèque tubulaire, lisse, légèrement et progressivement élargie dans sa partie distale forme le réservoir sans démarcation nette.

A l'exception des espèces africaines, subsahariennes, le sous-genre a été très peu étudié, du fait qu'il ne semble pas impliqué dans la transmission de leishmanioses humaines. En Algérie, ce sous-genre est représenté par 4 espèces : *S. (Sergentomyia) munita*, *S. fallax*, *S. antennata* et *S. schwetzi*. Cependant, au Maroc, ce genre est représenté par 4 espèces : *S. (Sergentomyia) munita*, *S. (S) fallax*, *S. (Grassomyia) dreyfussi* et *Sergentomyia (Parrotomyia) africana*.

#### **II.2.1.1. *Sergentomyia minuta parroti* Adler et Theodor, 1927**

Il s'agit d'une sous-espèce nord-africaine de *Sergentomyia (Sergentomyia) minuta* (Rondani, 1843), distinguée d'après le nombre élevé (70) de ses denticules du cibarium.

## 1. Systématique et critères morphologiques d'identification

**Chez le mâle**, le style (Fig. 35A), court et trapu (deux à trois fois plus long que large) porte quatre épines terminales groupées et une soie non caduque insérée au niveau du tiers apical. Les valves péniennes sont épaisses, digitiformes et arrondies à l'apex.

**Chez la femelle**, les spermathèques (Fig. 35B) sont lisses, en forme de boudin et sans réservoir différencié. Le pharynx (Fig. 35D), en verre de lampe, porte de très fins denticules acérés. L'armature cibariale (Fig. 35C) très développée est caractéristique : une rangée transversale, régulière de 60 à 100 dents quadrangulaires sur lesquelles se surimpose une plaque pigmentée ovalaire à grand axe transversal. Dans notre collection, *S. minuta* se distingue des autres espèces par sa très petite taille, et sa couleur très foncée. Le nombre de dents cibariales a été considéré comme un critère permettant en particulier de distinguer les sous-espèces *S. minuta parroti* et *S. minuta minuta*.

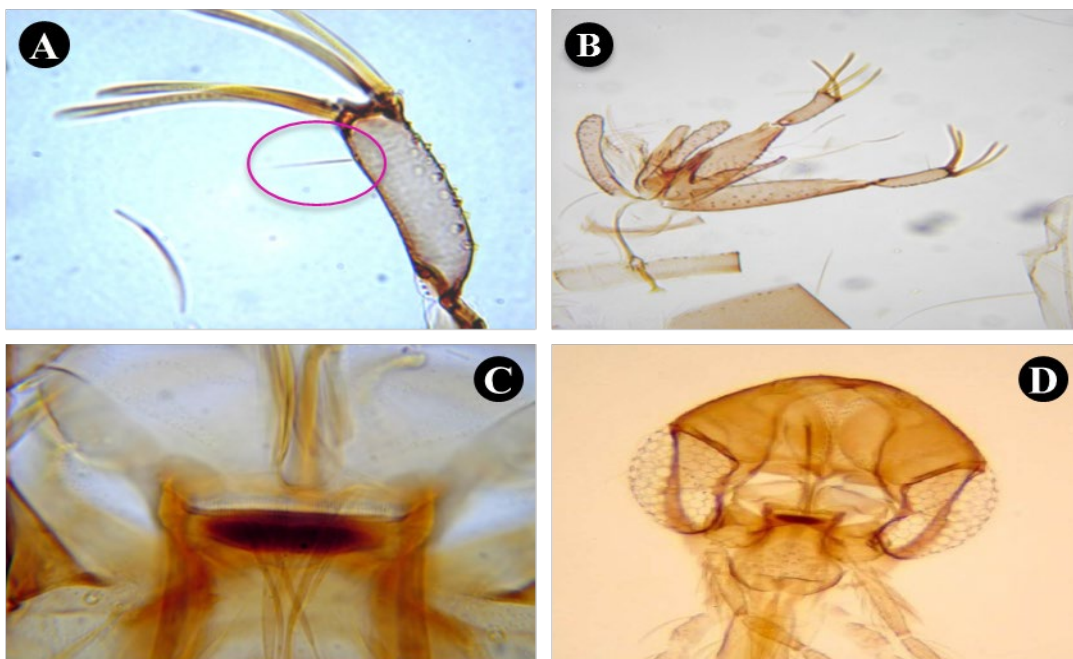


Figure 35 : A. Style avec soie non caduque de *S. minuta* mâle ; B. Vue générale de génitalia de *S. minuta* mâle ; C. Cibarium du femelle de *S. minuta* ; D. Tête de la femelle de *S. minuta* (Guernaoui, 2006).

## 2. Répartition géographique

En 1843, Rondani décrit ce phlébotome à partir d'un exemplaire provenant du nord de l'Italie sous binôme *Phlebotomus minutus*. En 1911, Newstead retrouve cette espèce en Europe, en Asie et en Afrique. En 1958, Theodor considère que cette espèce est constituée de deux sous-espèces, à savoir : *Sergentomyia minuta minuta*, sous espèce européenne pourvue en moyenne de 40 dents cibariales et de *Sergentomyia minuta parroti*, sous-espèce nord-africaine possédant en moyenne 70 dents cibariales.

*Sergentomyia minuta* est une espèce paléarctique dont la distribution est périméditerranéenne (Espagne, France, Italie, Grèce, Yougoslavie, Turquie, Jordanie, Palestine, Tunisie, Algérie et Maroc). Cette espèce s'étend sur la bordure méridionale de la région méditerranéenne du Maroc à Chypre et de la Méditerranée au Sahara. Les fortes densités sont localisées aux étages subhumide et humide que les étages arides et sahariens (Boussaa *et al.*, 2007).

En Algérie, *S. minuta* est le phlébotome le plus abondant et même au dessus de 1200 m (Belazzoug *et al.*, 1982), il est présent sur l'ensemble du territoire Algérien du nord au sud, et d'est en ouest, dans chaque étage bioclimatique et toute. Les fortes densités sont localisées aux étages subhumide et humide (Croset, 1969). Il colonise des biotopes variés, vu son comportement trophique herpétophile (Dedet *et al.*, 1984). Au Maroc, cette espèce largement ubiquiste (Bailly-Choumara *et al.*, 1971). Dernièrement, *S. minuta* est capturé à Ouled Aid et a Zlilig dans la province de Moulay Yacoub (Lahouiti *et al.*, 2013, 2014), également aux provinces ce Sidi Kacem et Ouazzane (El Miri *et al.*, 2013), a Ouaouizerth et Bzou dans la province d'Azilal (Zouirech *et al.*, 2013, 2015), et a plusieurs régions du Maroc central et de sud (Kahime *et al.*, 2015).

### **3. Ethologie**

Rioux *et al.* (1974), déclarent que *S. munita* a l'état adulte, colonise les biotopes les plus variés. D'après Dedet *et al.* (1984), cette espèce herpétophile, se rencontre aussi bien en milieu urbain qu'en pleine nature. Toujours d'après les mêmes auteurs, dans la barbacane, l'imago femelle de *S. minuta* est parfaitement a sa place, car elle cohabite avec le lézard des murailles qui constitue son hôte préférentiel. Elle se rencontre avec une concentration particulière dans les fissures de clôture en pierres, dans les murs en ruines et dans les barbacanes sèches (Dancesco *et al.*, 1970 ; Berchi *et al.*, 1993).

### **4. Rôle vecteur**

Bien que *S. minuta* a été trouvé négative pour l'Homme et la vache lors de l'analyse des repas sanguin (Yaghoobi *et al.*, 1995 ; Dancesco, 2008), Massila *et al.*, confirment en 2011 que trois femelles de genre *Sergentomyia* (*S. dubai*, *S. schwetzi* et *S. magna*), ont été trouvés naturellement infestées par *L. infantum* dans le foyer de Mont-Rolland.

### **5. Commentaire sur nos captures**

Nous avons capturé 665 espèces de *Sergentomyia minuta* au cours de nos campagnes de piégeage, ce qui représente 10% de nos captures. Cette espèce est particulièrement abondante dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane. Généralement Les espèces du genre *Sergentomyia* dont *Sergentomyia minuta* n'ont pas d'impact sur la santé humaine, c'est-à-dire que son rôle épidémiologique est négligeable, mais récemment, plusieurs études : au Portugal (Campino *et al.*, 2013 ; Maia *et al.*, 2015), en tunisie (Jaouadi *et al.*, 2013) et au sénégal (Senghar *et al.*, 2011), ont montré que cette espèce peut jouer un rôle dans la transmission de la leishmansiose humaine.

### III. RESULTATS DES CAPTURES PAR PIEGES ADHESIFS

Ce mode de piégeage est particulièrement bien adapté à l'inventaire faunistique exhaustif, qualitatif et quantitatif. On note que 5959 phlébotomes ont été capturés durant la période d'étude entre avril et novembre 2010, dans toute la zone d'étude, était répartie comme suit dans la figure 36. La densité globale obtenue est de 5,46 phlébotomes/m<sup>2</sup>. Les phlébotomes récoltés appartiennent aux 6 espèces suivantes : *P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *P. ariasi*, *P. papatasi*, *P. sergenti* et *S. minuta*.

L'inventaire de la faune phlébotomienne dans le nord Marocain, a montré la présence en milieu rural notamment de *P. sergenti* qui a été signalé comme une espèce largement répandue dans tout le pays (Gaud 1947 ; Bailly-Choumara *et al.*, 1971 ; Rioux *et al.*, 1984) et présente une diversité génétique considérable (Yahia *et al.*, 2004). Son rôle vecteur a été prouvé au Maroc (Guilvard *et al.*, 1991), sans oublier la présence de *P. longicuspis* vecteur de LC à *L. infantum* (Harrat *et al.*, 1996 ; Boussaa, 2008, Aoun et Bouratbine, 2014).

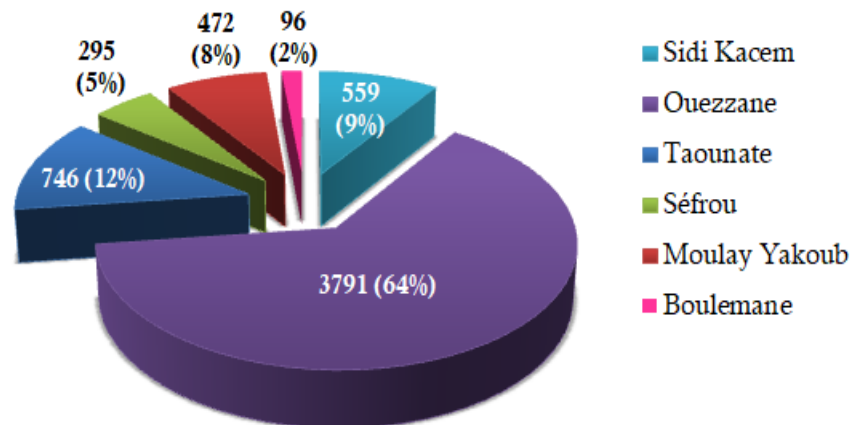


Figure 36: Proportion des espèces de phlébotomes capturées par provinces via les pièges adhésifs

#### III.1. Province de Sidi Kacem

Durant nos prospections, nous avons récolté 559 spécimens, appartenant aux quatre espèces du genre *Phlebotomus* (43,9%), représentant (13,7%) du *P. longicuspis*, (2,1%) du *P. perniciosus*, (22,3%) du *P. sergenti*, (3,1%) du *P. papaasi* et une espèce du genre *Sergentomyia* à savoir *S. minuta*, qui constitue (56,1%) des espèces inventoriés (Fig. 37).

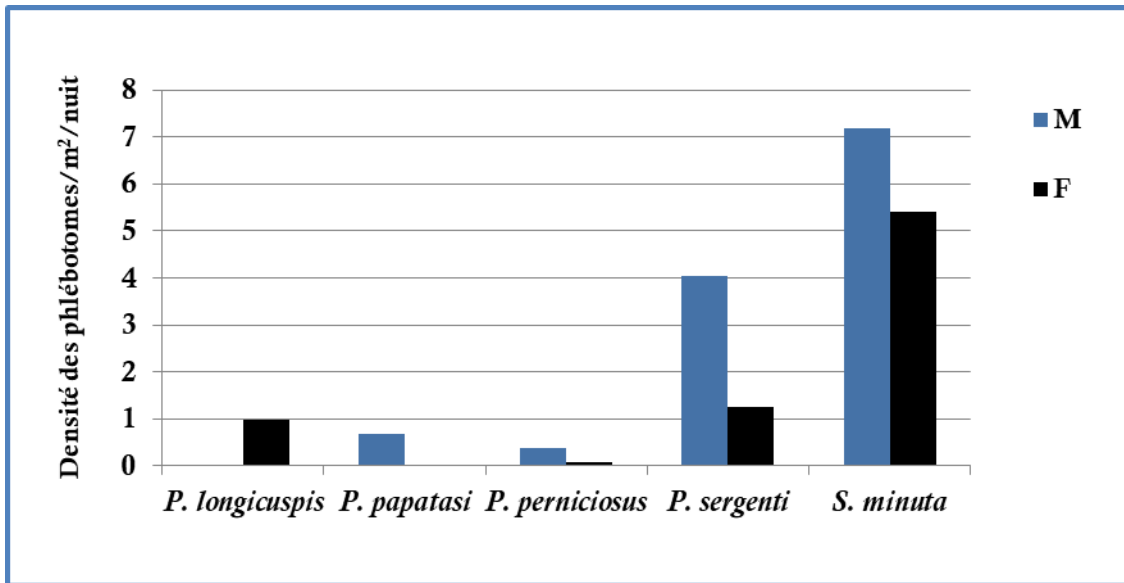


Figure 37 : Densité des espèces capturées dans la province de Sidi Kacem

La technique de capture par piège adhésifs (rentable, efficace et peut sélective), particulièrement adapté à la région étudiée, a permis un inventaire qualitatif et quantitatif des espèces mortes de phlébotomes présentes.

### III.2. Province d'Ouezzane

Durant nos missions, nous avons récolté 3791 spécimens, appartenant aux cinq espèces du genre *Phlebotomus* (91,6%), représentant (28,4%) du *P. longicuspis*, (0,3%) du *P. ariasi*, (3%) du *P. perniciosus*, (45,9%) du *P. sergenti*, (13,8%) du *P. papaasi* et une espèce du genre *Sergentomyia* (*S. minuta*), qui représente (8,4%) des espèces collectées (Fig. 38).

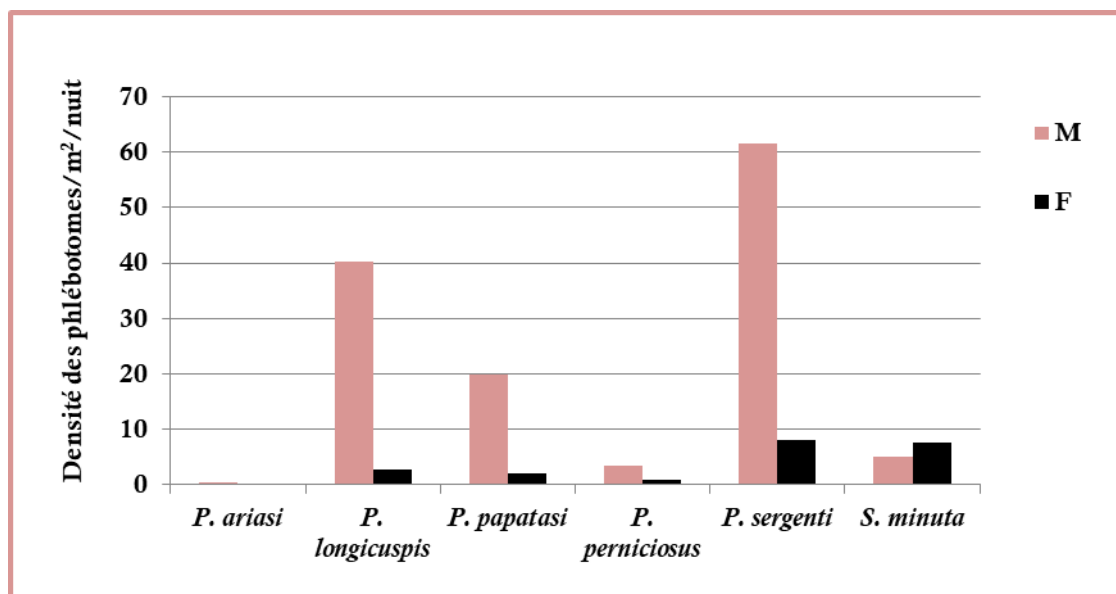


Figure 38 : Densité des espèces capturées dans la province d'Ouezzane

La technique de capture par piège adhésifs, particulièrement adapté à la région étudiée, a permis un inventaire qualitatif et quantitatif des espèces de phlébotomes présentes.

La comparaison de la population phlébotomienne de Sidi Kacem & Ouezzane, a montré que la majorité des espèces sont collectés à partir de localité Bouchrif (37,7%), Sidi Soufi (29,2%) et Bni Rbea (17,5%). Seulement 9,6% et 2,8% sont collectés à partir des localités Zerara et Hjafna Boughdor respectivement. Sachant que l'espèce *P. ariasi* ne présente que dans deux localités, celle de Bouchrif et Bni Rbea. Le sous-genre *Larroussius*, comprend des espèces susceptibles de transmettre *Leishmania infantum*, est particulièrement abondant dans les cinq localités où l'espèce *P. longicuspis* prédomine à Zirara. *P. sergenti* du sous-genre paraphlebotomus prédomine dans trois localités : Sidi Soufi, Bouchrif et Bni Rbea.

Afin d'étudier la stabilité des populations des phlébotomes d'une année à l'autre et au cours d'une même saison, nous avons réalisé des captures par pièges adhésifs deux fois par mois dans toutes les biotopes prospectés. Les deux pics de densité enregistrés en juin et en septembre sont observés uniquement dans les localités Bouchrif, Sidi Soufi et Bni Rbea, Pour les deux autres localités, situées en plaine, l'évolution est plutôt monophasique.

Au cours des dissections portant sur les 399 femelles du genre *Phlebotomus*, quatre états physiologiques sont individualisés d'après l'aspect de l'abdomen :

- ☞ Femelles à jeun (366 spécimens) ;
- ☞ Femelles gravides (20 spécimens) ;
- ☞ Femelles semi-gravides (3 spécimens) ;
- ☞ Femelles gorgées (10 spécimens).

La dissection n'a jamais révélé la présence de forme promastigotes.

### III.3. Province de Taounate

Nous avons récolté 746 spécimens, appartenant aux cinq espèces du genre *Phlebotomus* (98,4%), où *P. sergenti* est la plus abondante (68,3%) suivie par *P. longicuspis* (28,2%), *P. papatasi* (0,5%), *P. ariasi* (1,1%), alors que *P. perniciosus* retrouve avec 2 spécimens (0,3%), Cependant, *S. minuta* du genre *Sergentomyia* a été capturé avec un effectif de 1,6%. (Fig. 39).

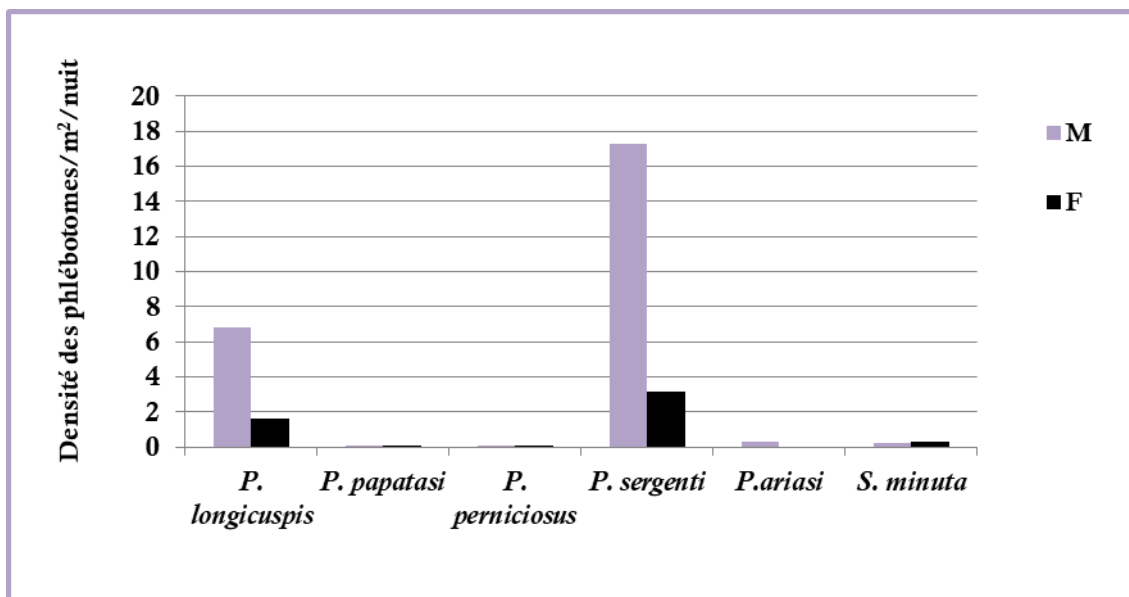


Figure 39 : Densité des espèces capturées dans la province de Taounate

Les espèces collectées proviennent de localité M'rouj, sur le total des *Phlebotomus* récolté, les espèces mâles représentent 83% et les espèces femelles 17%. L'étude montre que dans le genre *Phlebotomus*, 83% des insectes capturés par les pièges adhésifs sont des mâles. Nous avons réalisé des captures par pièges adhésifs d'une façon irrégulière dans la localité étudiée, les phlébotomes sont actifs durant toute la période d'étude.

La totalité des phlébotomes collectés (à partir des écuries) sont endophile. Cette répartition montre que les écuries présentent un climat favorable pour les phlébotomes, puisque toutes les espèces sont présentes. Au cours des dissections portant sur les 127 femelles du genre *Phlebotomus*, trois états physiologiques sont individualisés d'après l'aspect de l'abdomen :

- ☛ Femelles à jeun (114 spécimens) ;
- ☛ Femelles gravides (8 spécimens) ;
- ☛ Femelles gorgées (5 spécimens).
- ☛ La dissection n'a jamais révélé la présence de forme promastigotes.

#### III.4. Province de Moulay Yaâkoub

Nous avons récolté 472 spécimens appartenant aux 4 espèces du genre *Phlebotomus* (100%) qui sont *P. perniciosus* (0,2%), *P. longicuspis* (4,5%), *P. papatasi* (68,4%) et *P. sergenti* (26,9%) (Fig. 40).

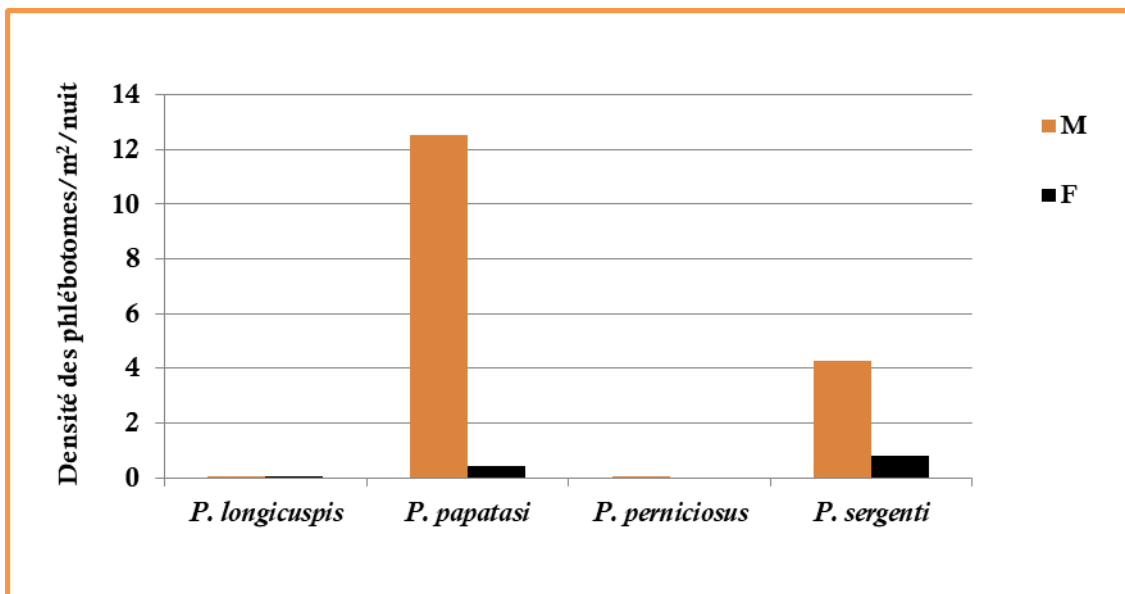


Figure 40 : Densité des espèces capturées dans la province de Moulay Yaâkoub

Les espèces collectées proviennent de localité Ouled Aïd, sur le total des *Phlebotomus* récolté, les mâles représentent 93,4% et les femelles 6,6%. Nous avons réalisé des captures par pièges adhésifs d'une façon irrégulière dans la localité étudiée, parfois une seule fois par mois, parfois bimensuelle. Les phlébotomes sont actifs durant toute la période d'étude. La totalité des phlébotomes collectés sont endophile (collectés à partir des écuries).

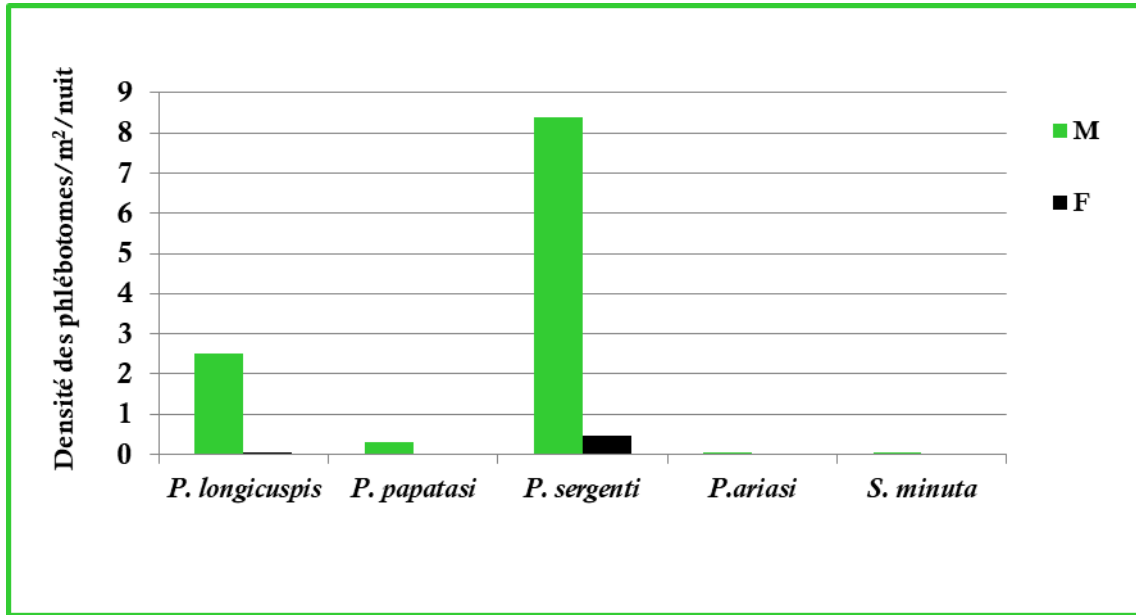
Au cours des dissections portant sur les 31 femelles du genre *Phlebotomus*, trois états physiologiques sont individualisés d'après l'aspect de l'abdomen :

- ☛ Femelles à jeun (28 spécimens) ;
- ☛ Femelles gravides (2 spécimens) ;

- ☞ Femelles gorgées (1 spécimens).
- ☞ La dissection n'a jamais révélé la présence de formla priomastigotes.

**III.5. Province de Sэфrou**

Nous avons récolté 295 spécimens appartenant à 4 espèces du genre *Phlebotomus* (99,6%) à savoir *P. papatasi* (2,7%), *P. longicuspis* (21,6%), *P. sergenti* (74,9%) le plus abondant, *P. ariasi* (0,4%) et une seule espèce du genre *Sergentomyia* (0,4%) à savoir *S. minuta* (0,4%) (Fig. 41).



**Figure 41 : Densité des espèces capturées dans la province de Sэфrou**

Les espèces collectées proviennent de deux localités : Aît Chaïb et Aîchoune. Sur le total des *Phlebotomus* récolté, les mâles représentent 95,6% et les femelles 4,4%. L'étude montre que dans le genre *Phlebotomus*, 99,6% des insectes piégés par les pièges adhésifs sont des mâles.

Nous avons réalisé des captures par pièges adhésifs d'une façon irrégulière dans les deux localités d'étude. La totalité des phlébotomes collectés sont endophile (collectés à partir des écuries). Cette répartition montre que les écuries présentent un climat favorable pour les phlébotomes, puisque toutes les espèces sont présentes. Au cours des dissections portant sur les femelles du genre *Phlebotomus*, seulement 13 femelles à jeun sont individualisées d'après l'aspect de l'abdomen.

**II.5. Province de Boulemane**

Nous avons récolté 96 spécimens, appartenant à 2 espèces du genre *Phlebotomus* (100%) qui sont *P. sergenti* (57,2%) et *P. longicuspis* (42,8%) (Fig. 42).

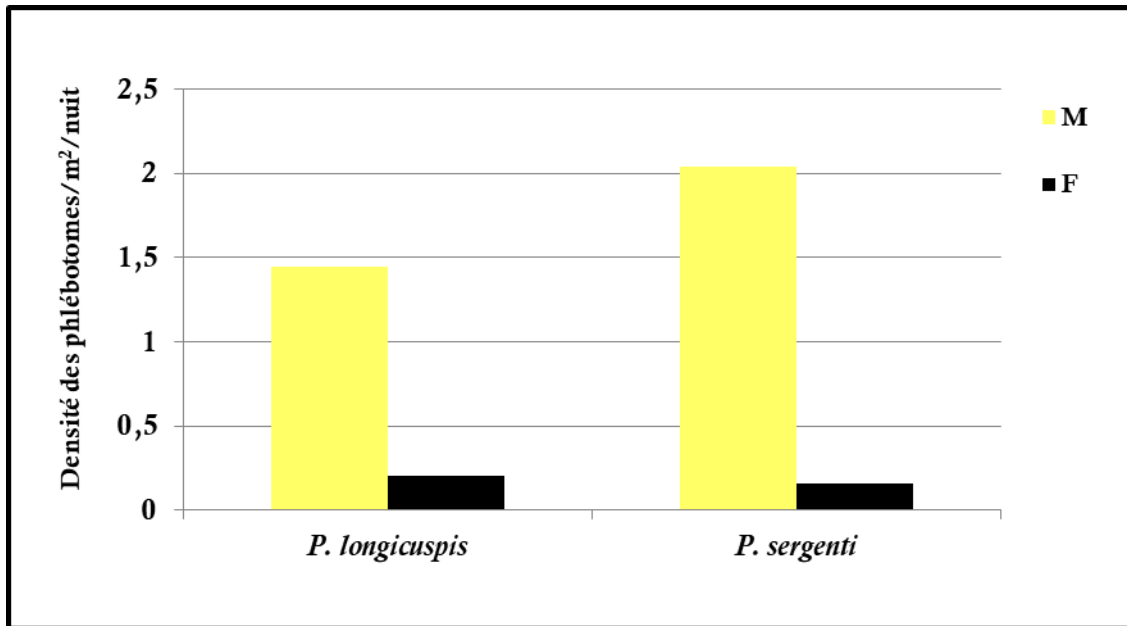


Figure 42 : Densité des espèces capturées dans la province de Boulemane

Les espèces collectées proviennent de localité Bouâassem, sur le total des *Phlebotomus* récolté, les males représentent 90,6% et les femelles 9,4%. Nous avons réalisé des captures par pièges adhésifs d'une façon irrégulière dans la localité étudiée, parfois une seule fois par mois, parfois bimensuelle.

La totalité des phlébotomes collectés sont endophile (collectés à partir des écuries). Au cours des dissections portant sur les femelles du genre *Phlebotomus*, seulement 9 femelles à jeun sont individualisée d'après l'aspect de l'abdomen.

#### IV. RESULTATS DES CAPTURES PAR PIEGES LUMINEUX

Le nombre total de phlébotomes capturés, par cette méthode durant la période d'étude, dans toutes les provinces étudiées au nord du Maroc est de 699 spécimens. La densité moyenne des phlébotomes est relativement faible soit 14,8 ph. /nuit/piège.

La répartition des phlébotomes capturés par provinces d'étude, ainsi que l'effectif des espèces représentées, se présente respectivement dans les figures 43 et 44 comme suit :

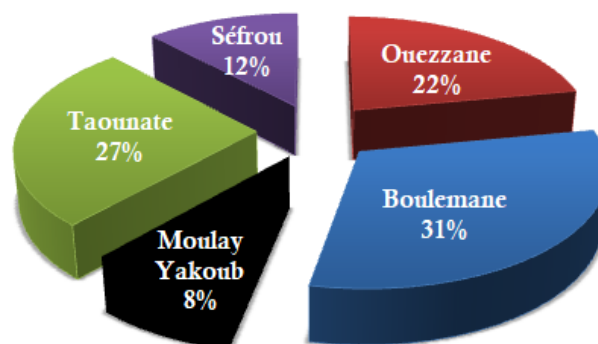


Figure 43 : Abondance relative (%) des phlébotomes par province, durant la période d'étude.

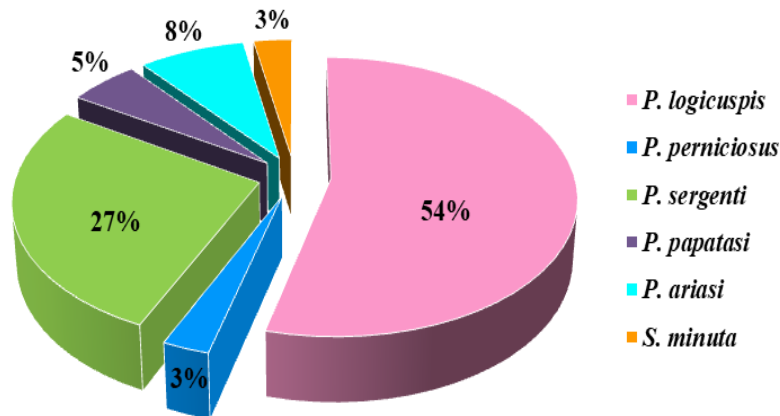


Figure 44 : Répartition de phlébotomes capturés, durant la période d'étude.

## V. ANALYSE ETHOLOGIQUE DES RESULTATS

Les captures effectuées par pièges adhésifs sont plus importantes (5959 spécimens) que celles faites par des pièges lumineux (699 spécimens), de façon générale les pièges adhésifs, largement utilisé dans ces recherches, permet un échantillonnage qualitatif et quantitatif satisfaisant. Cependant, malgré cette différence, le nombre d'espèces inventorié est le même par les deux méthodes de capture (pièges adhésifs et pièges lumineux CDC). En analysant la fréquence et la distribution des espèces dans les stations prospectées (figures : 35 à 42), un seul groupe d'espèce peut être distingué :

**i - les espèces constantes**, présentes au moins dans 50% des stations (occurrence >50%).

Regardant la faune totale, l'effectif total des mâles collectés est plus important que celui des femelles (5497♂/ 1161♀). Généralement, pour les espèces du genre *Phlebotomus*, l'effectif des mâles collectés était plus important par rapport à celui des femelles (5172♂/ 820♀). Alors que, pour les espèces du genre *Sergentomyia*, la balance était en faveur des femelles (325♂/ 340♀).

Plus de 90% des femelles ont été collectées à jeun. Peu de femelles ont été trouvées gorgées et/ou gravides. Il faut noter que nous avons collecté, dans la localité Bouchrif (province de Ouezzane), trois femelles semi-gravides (gravides et gorgées) 2 femelles de *P. sergenti* et une femelle de *P. papatasi*, ce qui augmente la survie (repas sanguin fréquents) et par conséquent la capacité vectorielle de ces vecteurs.

Un comportement photophile est enregistré pour *P. longicuspis*. Cependant, *P. sergent* semble avoir un phototropisme légèrement négatif puisqu'il est mieux représenté par les captures sur papier huilés. Par ailleurs, *S. minuta*, habituellement considérée comme photophobe, apparaît fréquemment dans nos pièges lumineux. L'analyse qualitative de nos captures suggère une plasticité écologique pour certaines espèces et une exigence pour d'autres.

- \* *S. minuta*, apparaît dans des biotopes très variés et peut être qualifiée d'ubiquiste.
- \* *P. perniciosus*, souvent associé à *S. minuta* et *P. longicuspis*, est répartie dans la plupart des biotopes prospectés depuis la localité Bouâassem (35 m) au niveau de la province de Boulemane (faible altitude) jusqu'à la localité Zerara (1334 m) à Sidi Kacem (la plus haute altitude).

## **VI. DISCUSSION**

Afin de caractériser les populations phlébotomiennes du nord marocain, une enquête entomologique a été effectuée d'avril à novembre 2010 dans les six provinces d'étude.

Dans l'aire d'étude, nous avons capturé 6658 spécimens appartenant à 6 espèces de phlébotomes parmi les 24 espèces inventoriées au Maroc. Il faut signaler que parmi les 6 espèces capturées, 5 espèces appartiennent au genre *Phlebotomus*, vecteurs prouvés de la leishmaniose humaine dans l'Ancien Monde (Killick-Kendrick, 1985, 1990). Parmi ces dernières, 3 espèces appartiennent au sous-genre *Larroussius* (*P. ariasi*, *P. perniciosus* et potentiellement *P. longicuspis*), sont signalés d'être les vecteurs de *L. infantum* dans le bassin méditerranéen, une espèce appartient au sous-genre *Paraphlebotomus* (*P. sergenti*), vecteur prouvé de *L. tropica* ou suspecté de *L. killicki*, et enfin une espèce appartient au sous genre *Phlebotomus* (*P. papatasi*), vecteur prouvé de *L. major* (Killick-Kendrick, 1990).

Les 6 espèces identifiées sont représentées par *P. longicuspis* (27,9%), *P. perniciosus* (2,1%), *P. ariasi* (1,1%), *P. sergenti* (44,8%), *P. papatasi* (14,1%) et *S. minuta* parroti (10%). Les espèces impliquées dans la transmission de la leishmaniose représentent 90% du total des espèces capturées. L'analyse de la répartition des espèces de phlébotomes montre que *P. sergenti* est l'espèce la plus abondante suivie respectivement par *P. longicuspis*, *P. papatasi*, *S. minuta*, *P. perniciosus* et *P. ariasi* au dernier rang.

On peut observer que sur la totalité des 6658 espèces de phlébotomes capturés, le nombre des mâles soit 5 fois plus celui des femelles, avec 4596 individus mâles contre seulement 1162 femelles. La proportion entre le nombre de mâles et le nombre de femelles varie selon les moyens de capture et le type d'abris exploré.

Dans nos captures par pièges adhésifs, nous avons récolté globalement 5054 mâles contre 905 femelles, soit 84,8% pour les mâles contre 15,2% pour les femelles. Par contre dans nos captures par pièges lumineux (de type CDC), nous avons trouvé le nombre des mâles est quasiment le double de celui des femelles, avec 442 individus mâles contre seulement 257 femelles. Ces résultats correspondent à ceux trouvés en Tunisie (Dancesco *et al.*, 1969), au Maroc dans la province de Marrakech à travers le travail de Boussaa *et al.* (2007), dans la province de Moulay Yakoub (Lahouiti *et al.*, 2013), dans la province de Sidi Kacem (El Miri *et al.*, 2013), à Kabylie en Algérie (Moulouya *et al.*, 2014), dans la province d'Azilal (Zouirech *et al.*, 2013, 2015), et dernièrement à plusieurs régions du Maroc central et de Sud (Kahime *et al.*, 2015). Dolmatrova et Demina (1971), affirment que le rapport des sexes chez les phlébotomes capturés dépend également des conditions de la capture et de biotope. Ceci peut s'expliquer par le fait que les mâles reposent habituellement près des gîtes de repos (Ready *et al.*, 1988) tandis que les femelles disposent à la recherche d'un repas sanguin ou d'un gîte de ponte (Rioux & Golvan, 1969).

Apparemment, les pièges adhésifs et lumineux, attirent davantage les mâles que les femelles, cela peut s'expliquer par le fait que les mâles sont plus mobiles, ce qui augmente les probabilités de leur capture. Cette hypothèse, est confortée par le fait que les femelles à jeun, plus mobiles, car à sa recherche de nourriture sont plus capturées que les femelles gorgées, soit 1056 de femelles à jeun contre seulement 50 femelles gorgées. C'est même résultats a été trouvés par Dolmatova & Demina (1971).

Parmi les phlébotomes capturés par pièges adhésif c'est *P. sergenti* qui domine avec 2790 spécimens, suivie de *P. longicuspis* (1786 spécimens), *P. papatasi* arrive en troisième position (1198 individus), *S. minuta* en quatrième position (645 spécimens), *P. perniciosus* en cinquième position (122 spécimens). *P. ariasi* est faiblement représentée, arrive en dernier rond et qui n'est présent qu'à travers 18 individus. Contrairement aux captures par pièges adhésif, c'est l'espèce *S. minuta* qui domine au niveau des pièges lumineux, avec 645 spécimens, ce nombre élevé a été notamment observé au niveau de la station de Bouâassem (province de Boulemane) avec 189 individus, contre 16 spécimens de *P. sergenti*.

Nos résultats correspondent à ceux de Ellassri *et al.* (2014) qui a trouvé une prédominance de spécimens de *P. sergenti* dans les captures par pièges adhésifs au niveau de la station Harrouch (province de Sidi Kacem). En contre parti, l'auteur il même, a trouvé, toujours par les pièges adhésifs, une nette dominance de *P. longicuspis* dans la station de Sidi Yahia (province de Kenitra).

Ces résultats ne correspondent pas à ceux de Boulkenafet (2006), qui retrouve une prédominance de spécimens de *P. perniciosus* dans les captures par pièges adhésifs, et inversement un plus grand nombre d'individus appartenant à l'espèce *P. perfiiewi* lors de captures lumineuses. Cette variation peut s'expliquer par le fait que *P. perfiiewi* est une espèce très endophile, qui se laisse plus facilement capturée par les pièges lumineux posés à l'intérieur des bâtiments d'élevage, en effet, Moulahem (1998) montre que 75,5% des phlébotomes capturés à l'intérieur d'un appartement à Constantine appartiennent à l'espèce *P. perfiiewi*, contre seulement 23,3% pour *P. perniciosus* qui est cependant considérée aussi comme une espèce endophile.

Dans cette aire d'étude, il est important de signaler que la diagnose de l'espèce *P. perniciosus* reste difficile, particulièrement dans les régions où elle se trouve en sympatrie avec l'espèce affine *P. longicuspis*. La majorité des mâles de *Phlebotomus perniciosus*, sont identifiés par des valves péniennes bifurquées à extrémités pointues. Parfois ils ont présenté des valves à pointe unique et courbée, et par conséquent être facilement confondue avec *P. longicuspis*, qui possède un édéage à extrémité simple effilée plus ou moins incurvée.

Pour remédier à ce problème, nous avons différencié ces deux espèces affines grâce au critère morphologique basé sur le nombre de soies médianes sur la coxites. *P. perniciosus* présente généralement un nombre de soies inférieur ou égale à 18, alors que chez *P. longicuspis* il est supérieur strictement à ce nombre.

En 1999, Benabdenni *et al.* isolent des mâles de *P. perniciosus*, présentant des valves bifurquées, mais également des valves à pointe unique et courbée. Ce résultat confirme que, cette nouvelle population de *P. perniciosus* identifiée, n'est pas une espèce à part entière, mais un morphotype *perniciosus* caractéristique chez les mâles. Ces résultats confirment ceux trouvés au nord du Maroc (Benabdenni et Pesson, 1998 ; Pesson *et al.*, 2004).

## Chapitre II :

Recherches Entomologiques dans les foyers  
de Sidi Kacem et Ouezzane

## **Etude entomologique de cinq foyers de leishmaniose cutanée dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane au nord du Maroc.**

### **INTRODUCTION**

La leishmaniose cutanée est un important problème de santé publique dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane au nord-ouest du Maroc. L'incidence de cette affection, due aussi bien à *Leishmania tropica* qu'à *Leishmania infantum* est en augmentation progressive depuis 1997. La présente étude a été menée dans le but d'étudier l'écologie et la dynamique des populations des vecteurs de cette maladie dans les principaux foyers de ces provinces.

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires vectorielles, dues à un protozoaire flagellé, du genre *Leishmania*, qui affecte de très nombreuses espèces de mammifères, et dont la transmission est assurée par la piqure d'un insecte Diptère Nématocère appartenant à la famille des Psychodidae et à la sous-famille des Phlebotominae (Rioux *et al.*, 1993). Chez l'homme, les leishmanioses correspondent à un groupe de maladies comprenant trois entités cliniques : la leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée (LC) et la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM). A l'instar des autres pays de l'Afrique du nord, les formes viscérale et cutanée constituent dans certaines régions du Maroc un véritable problème de santé publique (OMS, 2010). En revanche, la forme cutanéomuqueuse, qui sévit de façon épidémique dans les régions d'Amérique latine, n'a jamais été décrite jusqu'à maintenant dans notre pays. La leishmaniose viscérale due à *Leishmania infantum* sévit principalement au Nord du pays sous un mode hypoendémique dans des foyers ruraux dispersés.

Les leishmanioses cutanées présentent un ensemble de syndromes du fait de la diversité des parasites dont chacun est lié à un vecteur et à un réservoir spécifique: - la leishmaniose cutanée zoonotique à *L. major* se manifeste de manière endémo-épidémique dans les zones présahariennes ; - la leishmaniose cutanée anthroponotique à *L. tropica* évolue sous forme hypo-endémique au centre du pays avec des poussées épidémiques dans certains foyers ; la leishmaniose cutanée à *L. infantum* signalée pour la première fois au Maroc en 1996 au Rif Central (Rioux *et al.*, 1996), puis en 2007 dans d'autres régions du Nord du Maroc, particulièrement dans la province de Sidi Kacem (Rhajaoui *et al.*, 2007). La distribution et l'épidémiologie de cette dernière forme restent mal connues.

Les études entomologiques des foyers de leishmanioses cutanées à *L. tropica* et à *L. major* sont nombreuses au Maroc (Rioux *et al.*, 1986b ; Guessous-Idrissi, 1999 ; Ramaoui *et al.*, 2008 ; Boussaa *et al.*, 2005 ; Guernaoui *et al.*, 2005). En revanche, les études entomologiques dans les foyers de leishmaniose à *L. infantum* restent très rares. En effet, à l'exception des deux signalisations faites en 1996 et 2007, aucune investigation ni épidémiologique ni écologique, ne s'est intéressée à cette forme de leishmaniose au Maroc. C'est dans ce cadre que la présente étude a été menée. Elle vise à étudier l'écologie des phlébotomes dans des foyers actifs de leishmaniose cutanée due à *L. infantum* et *L. tropica*, dans le but d'identifier les vecteurs et de déterminer les périodes et les zones à risque dans cette province.

D'un point de vue épidémiologique, les leishmanioses cutanées sévissent à l'état endémique dans cette province (Ministère de la santé, données non publiées). Elles constituent un vrai problème de santé publique, en raison de l'augmentation constante du nombre de cas enregistrés par année durant les dix dernières années (Fig. 45). L'identification moléculaire

des parasites responsables de ces cas révèle l'existence de deux espèces : *L. tropica* et *L. infantum* (Ministère de la santé, données non publiées).

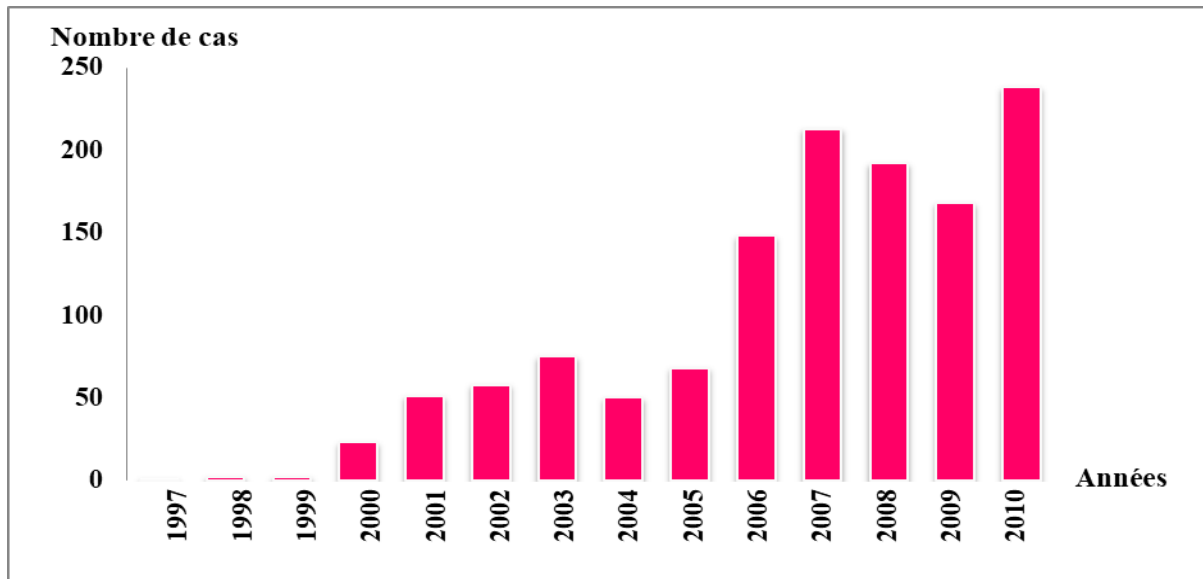


Figure 45: Répartition des atteintes cutanées à *L. tropica* et/ou *L. infantum* dans les provinces de Sidi Kacem & Ouezzane 1997-2010. (Source: Ministère de la santé, 2011).

## RESULTATS

Au cours de cette étude, un total de 4504 phlébotomes qui ont été capturés par les deux types de pièges, adhésifs et lumineux, avec une sex-ratio de 4 mâles pour une femelle. Ces phlébotomes appartiennent à deux genres : *Phlebotomus* (85,8%) et *Sergentomyia* (14,2%) et six espèces : *Phlebotomus sergenti* Parrot 1917 (42,6%), *P. longicuspis* Nitzulescu 1930 (27,2%), *Sergentomyia minuta* (Rondani 1843) (14,2%), *P. papatasi* (Scopoli 1786) (13,0%), *P. perniciosus* (Newstead 1911) (2,8%) et *P. ariasi* (Tonnoir 1921) (0,2%). Le sex-ratio et l'abondance relative de ces espèces sont donnés dans le tableau 11. Pour toutes les espèces capturées, à l'exception de *S. minuta*, que ce soit par pièges adhésifs ou lumineux, la sex-ratio est en faveur des mâles. Cet indice n'a pas pu être déterminé pour *P. ariasi*, puisqu'aucune femelle n'a été capturée.

Tableau 11: Phlébotomes collectés dans la province de Sidi Kacem, sex-ratio et abondances relatives en fonction des méthodes de capture

Genre (Abondance)	S / G (Abondance)	Espèces	Total		Sex-ratio	Abond. (%)	Fréq. (%)
			Nb. Ph. /PA	Nb. Ph. /PL			
<i>Phlebotomus</i> (85,79%)	<i>Larrousius</i> (30,2%)	<i>P. ariasi</i>	9		*	0,2	60
			9	-			
		<i>P. longicuspis</i>	1227		8,3		
			1150	77			
	<i>P. perniciosus</i>	126		3,5			
		119	7				
	<i>Phlebotomus</i> (13,0%)	<i>P. papatasi</i>	584		8,6	13,0	100
			562	22			
<i>Paraphlebotomus</i> (42,6%)	<i>P. sergenti</i>	1917		6,7	42,6	100	
		1878	39				
<i>Sergentomyia</i> (14,23%)	<i>Sergentomyia</i> (14,2%)	<i>S. minuta</i>	641		0,9	14,2	60
			632	9			
		<b>Total</b>	4504		-	100	-

Nb : Nombre de captures ; PA : Pièges Adhésifs ; PL : Pièges Lumineux ; Abond : Abondance relative.

La méthode de capture par pièges lumineux n'a permis la collecte que de 154 phlébotomes appartenant à cinq espèces. Les résultats des captures par site d'étude sont résumés dans le tableau 12. A l'exception de *S. minuta*, les 5 autres espèces sont plus abondantes dans les localités en altitude qu'en plaine. *P. ariasi* est rare dans les captures, il a été trouvé notamment à Bouchrif à une altitude de 277 m.

Tableau 12 : Nombre de phlébotomes capturés à Sidi Kacem, par pièges adhésifs et par site d'étude.

Espèces	Milieu Montagneux (204 - 279 m d'altitude)			Milieu Plaine (35 - 149 m d'altitude)	
	Bouchrif	Sidi Soufi	Bni Rbea	Zirara	Hjafna Boughdor
<i>P. ariasi</i>	8	-	1	-	-
<i>P. longicuspis</i>	480	364	230	61	15
<i>P. perniciosus</i>	86	9	13	5	6
<i>P. papatasi</i>	263	229	53	3	14
<i>P. sergenti</i>	543	729	465	51	90
<i>S. minuta</i>	289	6	23	5	309

Les fluctuations mensuelles des différentes espèces par station d'étude sont représentées sur la Figure 46. L'activité de la population phlébotomienne dans la province de Sidi Kacem s'est poursuivie de mai à novembre et a été plus importante pendant deux périodes. La première s'est étalée de mai à juillet avec un pic en juin (6,9 individus/m<sup>2</sup>/nuit) et la seconde de fin juillet à novembre avec un pic en septembre (15,7 individus/m<sup>2</sup>/nuit).

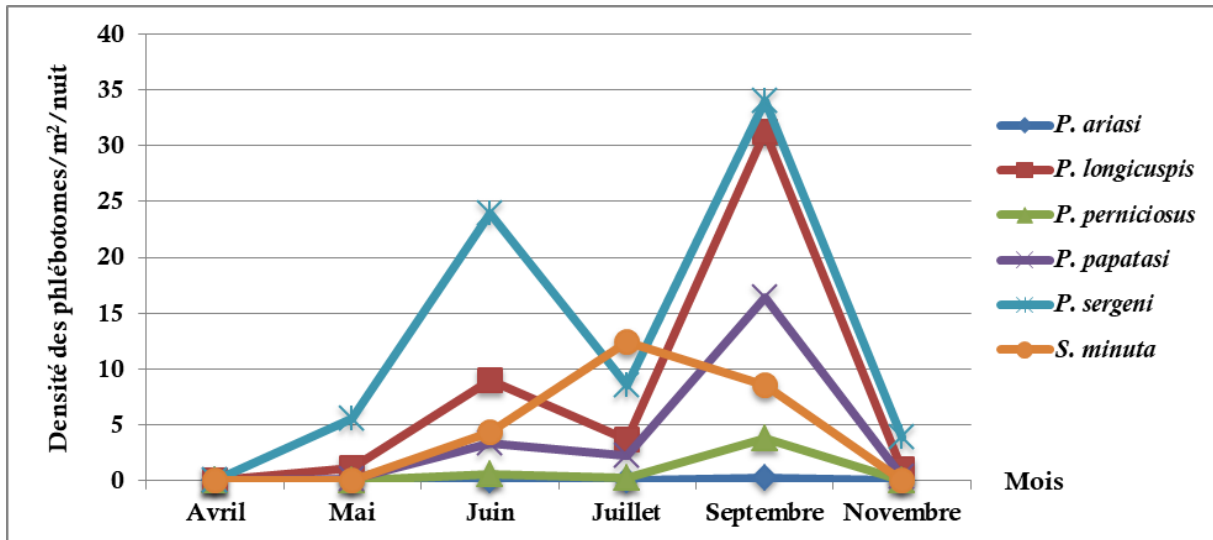


Figure 46 : Evolution de la densité moyenne mensuelle des espèces de phlébotomes capturés dans les cin stations d'étude (avril - novembre 2010).

Les phlébotomes sont actifs de mai à novembre, dans les localités de Sidi Soufi et Bni Rbea, alors qu'au niveau des trois autres localités, les captures étaient nulles en novembre (Fig. 47).

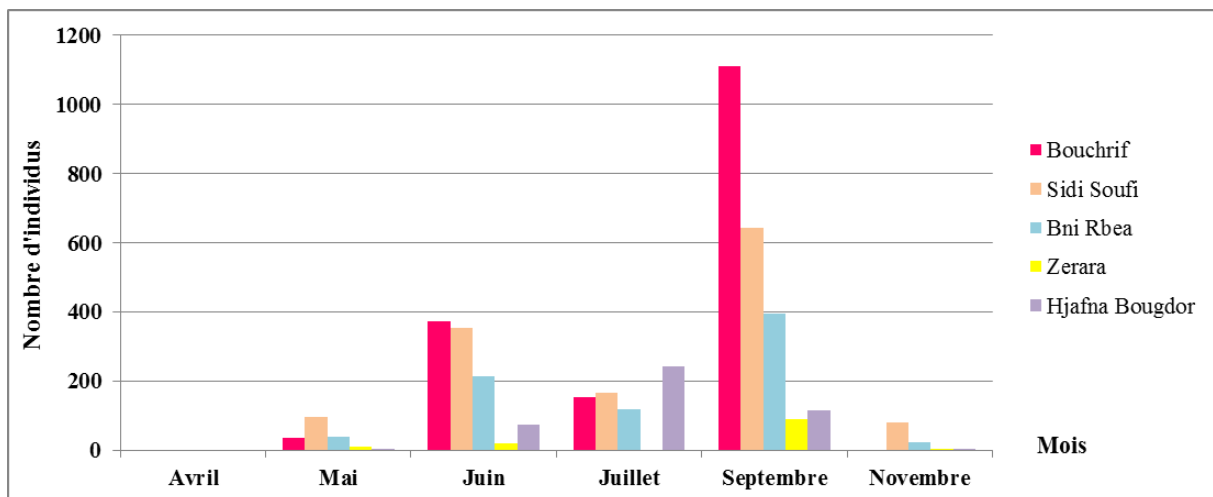


Figure 47 : Evolution du nombre total des phlébotomes capturés par localité par pièges adhésifs, (avril - novembre 2010).

Les deux pics de densité enregistrés en juin et en septembre sont observés uniquement dans les localités Bouchrif, Sidi Soufi et Bni Rbea, Pour les deux autres localités, situées en plaine, l'évolution est plutôt monophasique.

## DISCUSSION

La présente étude est la première recherche détaillée en termes de diversité spécifique, d'abondance et de fluctuations saisonnières des phlébotomes dans des foyers de leishmaniose cutanée dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane.

Elle constituerait une référence pour des études entomologiques ultérieures. Des suivis réguliers des populations de vecteurs sont nécessaires pour établir une éventuelle relation entre l'abondance de ces derniers et la recrudescence de la leishmaniose dans cette région. En effet, Rioux *et al.* (1986a) affirment que, sur le pourtour du bassin méditerranéen, le développement des leishmanioses dépend du volume des populations de phlébotomes.

Dans des foyers similaires au nord du Maroc, Faraj *et al.* (2012) ont lié l'augmentation de l'incidence de la leishmaniose, d'une part à l'augmentation des densités des vecteurs, en particulier *P. sergenti* et *P. longicuspis*, et d'autre part à l'allongement de leurs périodes d'activité. Ces mêmes auteurs expliquent que la prolifération des vecteurs est plutôt liée à une détérioration des conditions d'hygiène et plus particulièrement à l'installation d'abris animaux de plus en plus au voisinage des habitations humaines.

Le piégeage effectué au cours de cette étude a permis l'identification de 4504 phlébotomes répartis en six espèces, *Phlebotomus longicuspis*, *P. perniciosus* et *P. ariasi* du sous genre *Larroussius*, *P. sergenti* du sous genre *Paraphlebotomus*, *P. papatasi* du sous genre *Phlebotomus* et *Sergentomyia minuta*. Ces espèces sont considérées comme étant les espèces les plus abondantes parmi les 23 signalées au Maroc (Ministère de Santé 2010).

Si on ne considère que le genre *Phlebotomus*, impliqué dans la transmission des leishmanioses, *P. sergenti* est l'espèce dominante dans 4 sites parmi cinq avec une abondance totale de (42,6%) suivie par *P. longicuspis* (27,2%), *P. perniciosus* (2,8%) et *P. ariasi* (0,2%). *P. longicuspis* est l'espèce dominante dans la localité Zirara. *P. sergenti*, le vecteur confirmé de leishmaniose cutanée à *Leishmania tropica* au Maroc comme dans d'autres pays du bassin méditerranéen (Guilvard *et al.*, 1991), est présent de mai à novembre avec deux pics d'activité, le premier en juin et le second en septembre ce qui correspond aux mois les plus humides de la saison sèche.

Ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par Guessous-Idrissi *et al.* (1997) dans la province de Taza à l'est de la province de Sidi Kacem. Alors que dans la province de Chichaoua au sud-ouest du Maroc, Guernaoui *et al.* (2005) n'ont noté qu'un seul pic au décours du mois d'août. Cette espèce est largement répandue dans tout le pays (Bailly-Chaumara *et al.*, 1971) mais domine dans les zones arides et semi arides (Rioux, 1999) et présente une diversité génétique considérable (Yahia *et al.*, 2004).

En vérifiant les critères d'incrimination des vecteurs et en considérant la grande spécificité vecteur-parasite connue en épidémiologie des leishmanioses, nous pouvons considérer *P. sergenti*, comme responsable du maintien de la transmission de la leishmaniose à *L. tropica* dans la province de Sidi Kacem de la faite qu'elle est la seule espèce potentiellement vectrice (de *L. tropica*) présente dans la région. *P. longicuspis* est également une espèce fréquente et largement répandue au Maroc (Bailly-Chaumara *et al.* 1971). Rioux (1999) considère que c'est une espèce plutôt inféodée aux zones semi-arides et subhumides. Cette espèce est connue pour son rôle dans la transmission de la leishmaniose viscérale à *L. infantum* dans le bassin méditerranéen (Killick Kendrick, 1990) et au Maroc (Rioux *et al.*, 1997).

Vu la rareté et la faible saisonnalité de *P. perniciosus* et *P. ariasi*, autres vecteurs potentiels de *L. infantum*, dans nos captures, *P. longicuspis*, serait le vecteur le plus probable de *L. infantum* dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane. Comme *P. sergenti*, ce vecteur est aussi actif de mai à novembre avec deux pics de densité, le premier en début d'été et le second, nettement plus important, en début d'automne. Ce qui situerait la période de transmission de la leishmaniose à *L. infantum* autour du deuxième pic en début d'automne. En effet, en plus de la forte abondance de l'espèce à cette période, les conditions ambiantes (température et humidité particulièrement) sont beaucoup plus en faveur d'un développement biologique plus rapide et par conséquent d'une capacité vectorielle plus importante de cette espèce. *P. papatasi*, vecteur confirmé de *L. major* au Maroc (Rioux *et al.*, 1986b), est également présent dans nos captures avec une abondance relative non négligeable.

Cette espèce se situe parmi les espèces les plus fréquentes au Maroc. Rioux *et al.* (1997) considèrent que *P. papatasi* présente sa densité maximale aux étages per-aride et arides et devient rare dans l'étage subhumide, humide et semi-aride. Guernaoui *et al.* (2005) corrèlent négativement son abondance avec l'altitude et trouvent qu'il est plus abondant dans les stations à basse altitude entre 300 et 400 m. *P. papatasi* n'est apparu dans la province de Sidi Kacem qu'à partir du mois de juin et contrairement à *P. sergenti* et *P. longicuspis*, il a présenté un seul pic de densité au mois de septembre. La même évolution a été notée par Guernaoui *et al.* (2005) dans la province de Chichaoua.

Boussaa *et al.* (2005), par contre, ont identifié deux pics de densité dans la zone urbaine de Marrakech, le premier en juin et le second en novembre. La présente étude confirme ce qui a été observé antérieurement sur la large distribution et la forte abondance de *P. sergenti* et *P. longicuspis* dans les zones semi-arides du Maroc. Ces deux espèces sont présentes dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane de mai à novembre et suivent une évolution biphasique avec un optimum de densité en septembre où les conditions climatiques sont favorables à la transmission, particulièrement dans les stations rurales en altitude. La période à haut risque se situe, donc, en fin d'été - début automne dans cette région.

## Chapitre III :

Leishmaniose Cutanée dans les provinces de  
Sidi Kacem et Ouezzane, Maroc (1997-2012)

## **Leishmaniose cutanée dans les provinces d'Ouezzane et Sidi Kacem, au Maroc (1997-2012).**

### **INTRODUCTION**

La leishmaniose cutanée (LC) est un problème majeur de santé publique au Maroc. Trois parasites distincts sont impliqués ; *Leishmania tropica* et *Leishmania major* sont les espèces les plus répandues. *Leishmania infantum* a également été décrite dans quelques foyers. L'objectif de cette étude est d'étudier l'épidémiologie et les caractéristiques cliniques des foyers endémiques de LC dans les provinces Sidi Kacem et Ouezzane au nord du Maroc (1997-2012), y compris l'identification moléculaire des parasites effectués sur 18 échantillons de lames positives en leishmanies en provenance des provinces de Sidi Kacem et Ouazzane respectivement en 2012 et 2013.

La Leishmaniose cutanée (LC) constitue un problème de santé publique à l'échelle mondiale ; elle est endémique dans plus de 70 pays avec une incidence annuelle estimée à 1 500 000 cas (Jones *et al.*, 2005). Elle est connue depuis de longues dates au Maroc, décrite comme une forme lupoïde de petite taille, unique, du visage dans des foyers d'endémicité stable.

Le Maroc compte parmi les pays les plus touchés dans le monde avec 46 251 cas déclarés entre 1997-2011 (DELM, 2012). La maladie connaît une extension continue de son aire de répartition géographique avec apparition régulière de nouveaux foyers. A ce jour, trois formes de LC sont décrites au Maroc, chacune avec son propre agent pathogène : La LC à *L. tropica* au nord et au centre du pays, qui est responsable de la majorité des cas de LC et qui évolue de façon endémo-épidémique ; La LC à *L. major* au sud et la LC à *L. infantum* au nord du royaume (Rioux *et al.*, 1996), qui engendrent des cas sporadiques.

La complexité des cycles de transmission et l'influence des facteurs environnementaux rendent la surveillance épidémiologique et le contrôle de la maladie extrêmement difficiles avec les outils de surveillance classiques (Croft *et al.*, 2006).

En 2007, la province de Sidi Kacem, région d'endémie de la leishmaniose viscérale, enregistre pour la première fois les leishmanioses cutanées sporadiques dues à *L. infantum* (Rhajaoui *et al.*, 2007), dont le cycle de transmission reste inconnu.

L'objectif assigné à cette étude est de préciser et d'analyser épidémiologiquement et cliniquement les cas de leishmanioses cutanées survenus dans la région de Rabat-Salé-Kénitra, dont les provinces de Sidi Kacem, Kenitra et Sidi Slimane (depuis 2009), de localiser géographiquement l'étendue de la maladie et d'identifier également les différentes espèces de *Leishmania* impliquées dans la maladie.

Vu que, les cas enregistrés dans les provinces de Sidi Slimane et Kenitra sont relativement faibles, respectivement 2 et 13 cas durant toute la période d'étude (1997-2012), notre étude a été focalisée précisément sur les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (faisant partie de la province de Sidi Kacem jusqu'en 2010).

## RESULTATS

### Données épidémiologiques

#### *L'incidence de la maladie*

1656 cas ont été recensés pendant la période d'étude (1997-2012), avec une incidence estimée de 201,3/100 000 habitants. L'incidence annuelle moyenne des cas était de 103,5 cas/an, avec des variations extrêmes allant de 1 à 238 cas, ce qui correspond à un taux d'incidence annuel moyen de 10,4 cas pour 100 000 habitants. L'évolution annuelle de l'incidence était hétérogène avec un nombre de cas relativement faible (5 cas) durant les trois premières années, comparativement aux années 2006 (148 cas), 2007 (213 cas), 2008 (192 cas), 2009 (168 cas), 2010 (238 cas), 2011 (190 cas) et 2012 (177 cas) où le nombre de cas est nettement plus élevé (Fig. 46).

#### *Répartition annuelle des cas de leishmanioses cutanées*

De janvier 1997 au décembre 2012, 1656 cas de LC dépistés dans la zone d'étude, ont été déclarées au niveau de la Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies, avec un pic d'enregistrement en 2010 correspondant à 238 cas (Fig. 48).

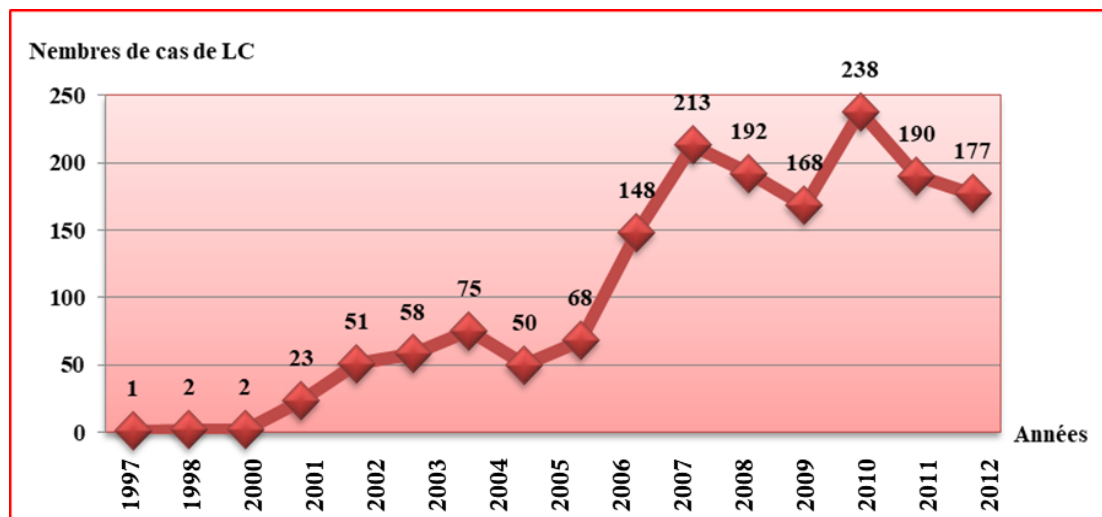


Figure 48 : Evolution du nombre de cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).

#### *Répartition saisonnière*

Il n'y a pas de saison de prédilection, la LC est vue toute l'année avec une moyenne de 138 cas par mois et un discret pic de recensement en avril (206 cas) (Fig. 49). La majorité des patients s'étaient présentés au laboratoire provincial au printemps (691 cas) soit (42%).

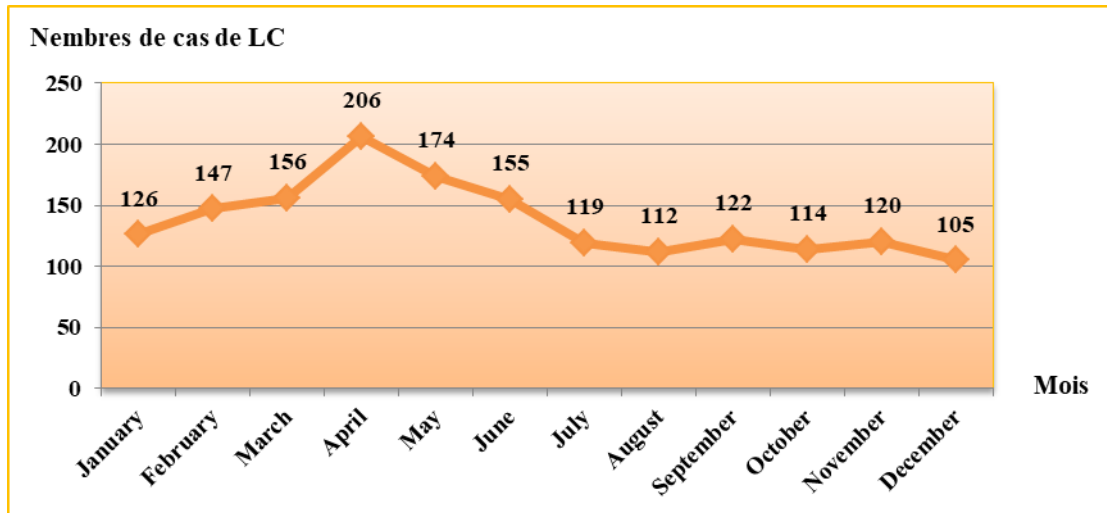


Figure 49 : Répartition saisonnière/mensuelle des cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).

### Répartition par âge

Selon les données du service provincial des maladies parasitaires de la province de Sidi Kacem, l'information concernant l'âge était disponible pour 1381 malades, dont l'âge variait de 6 mois à 85 ans, avec une médiane de 7 ans et une moyenne d'âge de 20,6 ans. La LC est significativement plus fréquente dans la tranche d'âge de moins de 9 ans ( $K_{hi^2} = 245,9754$  ;  $p < 2,2e^{-16}$ ), où elle représente (26,2%) de la totalité des cas. La distribution des cas positifs selon l'âge est représentée sur la figure 50.

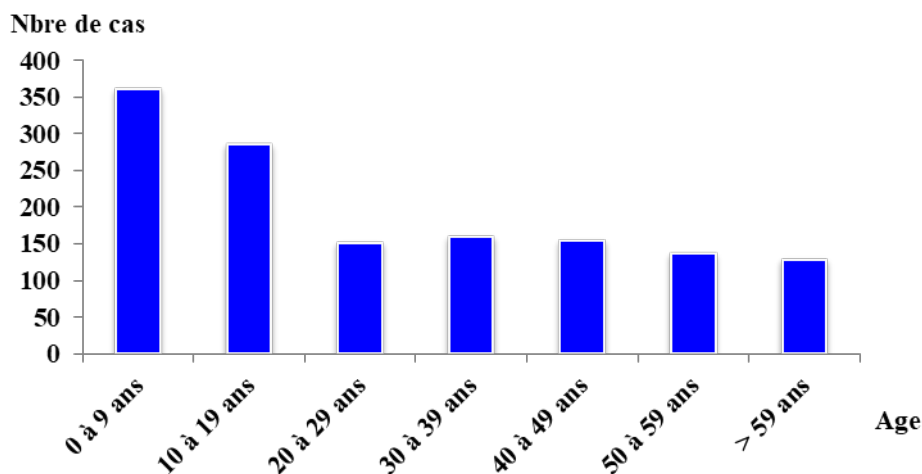


Figure 50 : Répartition du nombre de cas de LC en fonction de l'âge dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).

### Répartition par sexe

Les 1656 cas de LC, se répartissent en 894 cas de sexe féminin et 762 de sexe masculin, avec une sex-ratio de 1,17 (femmes/hommes). On note une significative prédominance de l'atteinte féminine (54%) ( $K_{hi^2} = 10,9986$  ;  $p = 0,0009118$ ) (Fig. 51).

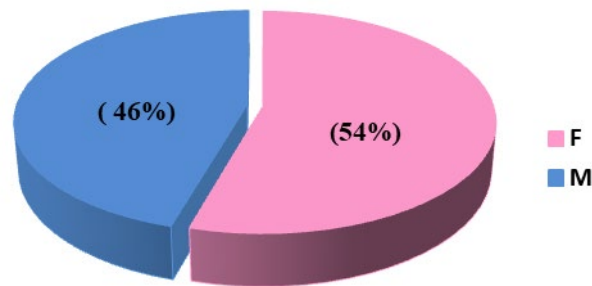


Figure 51 : Distribution du nombre de cas de LC en fonction du sexe dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).

*Origine et distribution géographique des cas*

La province de Sidi Kacem est divisée en 40 secteurs, le plus grand nombre de cas a été enregistré dans des secteurs situés à l’est et au nord-est de la province de Sidi Kacem (province de Ouazzane actuelle, faisant partie de la province de Sidi Kacem jusqu’en 2010). Les cas sont clairsemés dans la majorité de ces secteurs, en particulier : Zghira (160 cas), Ouannana (139 cas), suivi par ceux de Lamjaâra (123 cas), Sidi Bousber (116), Teroual (107 cas), Aïn Dfali (98 cas), Sidi Redouane (91 cas), Sidi Ahmed Chrif (78 cas), Bni Qolla (76 cas), Masmouda (59 cas) et Bni Oual (40 cas) (Fig. 52).

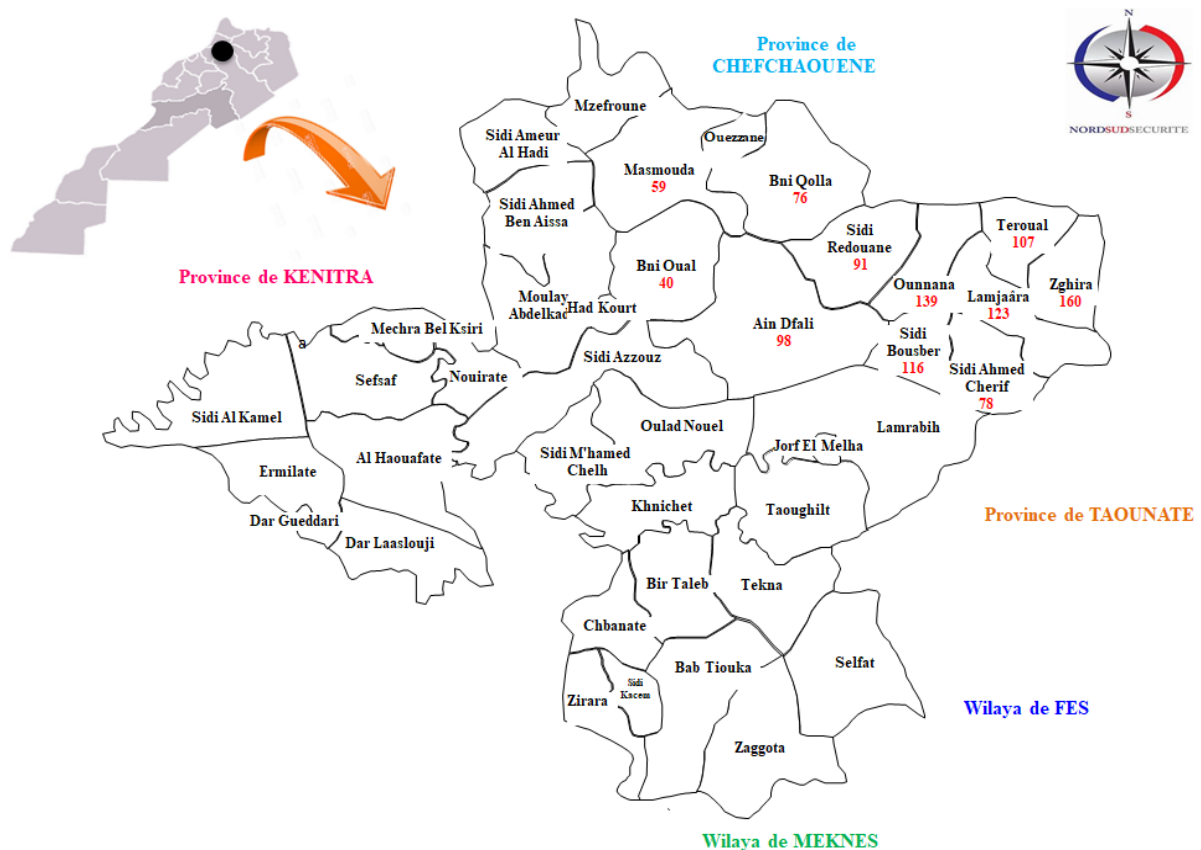
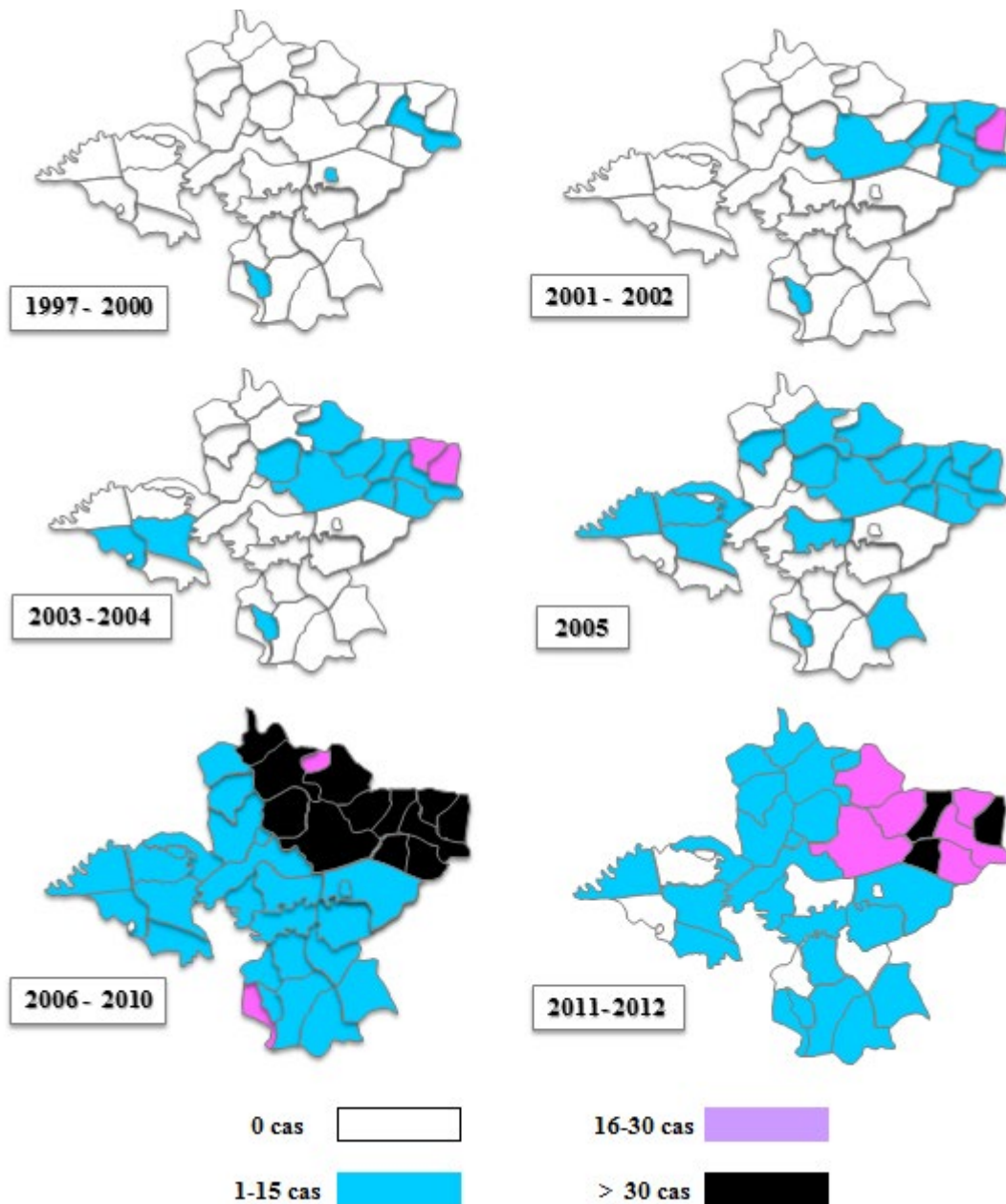


Figure 52 : Origine géographique des cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).

Le service provincial des maladies parasitaires de la province de Sidi Kacem, a déclaré une augmentation du nombre de cas de LC d'un seul cas en 1997 à 148 cas en 2006, pour atteindre un pic d'enregistrement en 2010 (238 cas).

Les résultats de cette étude rétrospective nous ont permis de suivre l'extension géographique de la leishmaniose dans cette zone d'étude et de noter que la majorité des secteurs indemnes durant la période (1997-2000) sont devenus endémiques après l'année 2001, y compris ceux qui sont éloignés de la zone primitive d'endémie (Fig. 53).



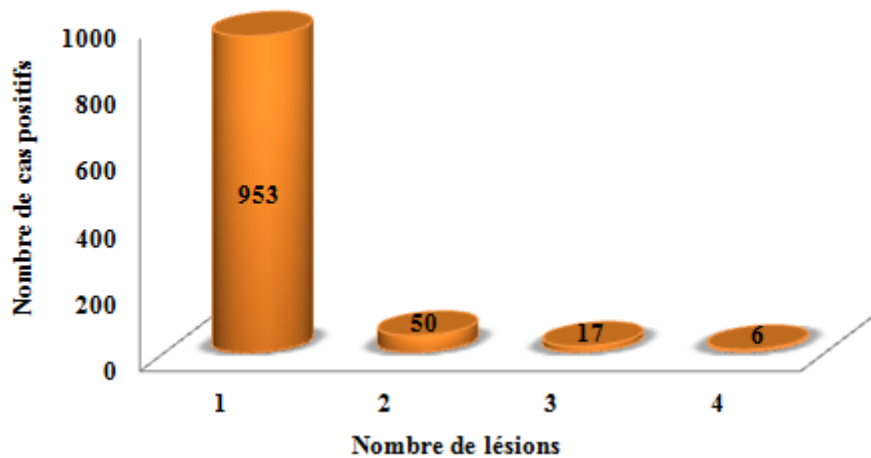
**Figure 53 : Répartition spatio-temporelle des cas de LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).**

La majorité des cas a été enregistré en milieu rural ; 1170 cas (70,7%) contre 486 cas (29,3%) en milieu urbain. La différence est statistiquement significative ( $K_{hi^2} = 242,1693$  ;  $p < 2,2e^{-16}$ )

## **Donnees Cliniques**

### *Types de lésions*

Les lésions cutanées étaient non uniformes, généralement de petites tailles, sèches, parfois humides, rarement fongiformes. Les lésions uniques étaient les plus fréquentes et vues dans 953 cas parmi les 1026 cas déclarés, tandis que les lésions de type multiples étaient rencontrées dans 73 cas (Fig. 54). Le nombre moyen de lésion par patient était de 1,1 avec un maximum de 4 lésions. La majorité des patients ont présenté une lésion unique (92,9%) contre (7,1%) des patients ayant présenté des atteintes multiples (> à 2 lésions). La différence entre le nombre de lésions présentées chez les patients était statistiquement significative ( $\text{Khi}^2 = 2525,789$  ;  $p < 2,2e^{-16}$ ).



**Figure 54 : Distribution des cas de LC en fonction du nombre des lésions dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).**

### *Siège des lésions*

On a noté une prédilection de siège au visage (817 cas soit 79,6%) avec en premier plan les joues qui constituent le site préférentiel des localisations et en second le front. Les membres supérieurs étaient la seconde localisation observée avec 175 cas (17,1%), suivis de 26 cas sur des membres inférieurs (2,5%) et en dernier le tronc avec 8 cas (0,8%) : le thorax (1 cas), l'abdomen (1 cas), le cou était le siège de lésions dans 6 cas. Les lésions multiples, étaient observées au niveau de la même partie du corps (Fig. 55).

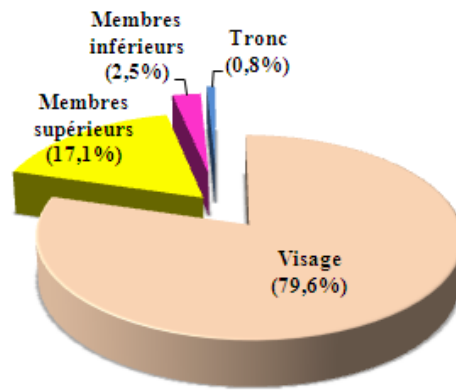


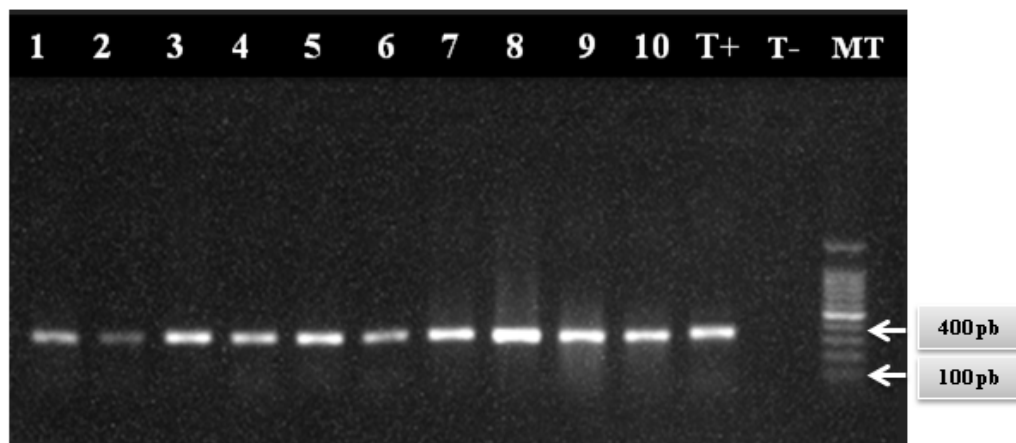
Figure 55 : Répartition de la leishmaniose cutanée par emplacement de la lésion dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (1997-2012).

La différence dans le siège de lésions présentées par les patients était statistiquement significative ( $\text{Khi}^2 = 1698,577$  ;  $p < 2,2e^{-16}$ ).

### Identification moléculaire

#### Amplification d'ADN par PCR de la région ITS1

L'amplification de la région ITS1 par PCR selon les protocoles décrits par Schönian *et al.*, 2003 et Aljawabreh *et al.*, 2004, des leishmanies extraites des lames positives des secteurs les plus touchés des provinces de Sidi Kacem (Had Hourt, Khnichat, Zerara, Sidi Kacem et Aïn Dfali) et Ouezzane (Teroual), a permis de confirmer le résultat positif de l'examen direct. Le résultat positif a été confirmé par la visualisation des produits d'amplification (bandes de 300 pb) sur gel d'agarose correspondant à la *Leishmania* (Fig. 56).



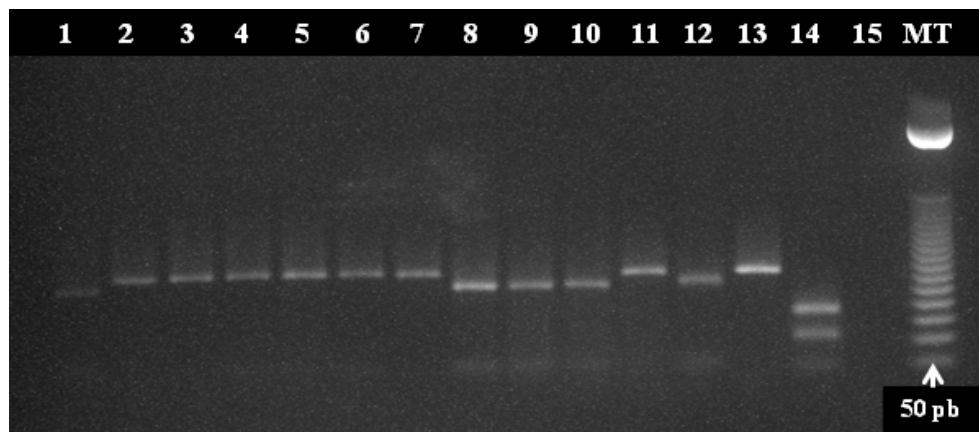
Les échantillons cliniques et les souches de référence de *Leishmania*. Les échantillons cliniques, échantillons 1-10 : échantillon 1 : Had Kourt ; échantillon 2 : Teroual ; échantillon 3 : Khnichat ; échantillon 4 : Zirara ; échantillon 5-6 : Sidi Kacem ; échantillon 7-8 : Aïn Dfali ; échantillon 9-10 : Teroual ; T+ : Témoin positif ; T- : Témoin négatif ; MT : marqueur de taille (pb).

Figure 56 : Résultats de l'analyse RFLP du produit PCR-ITS1 des lames positives des personnes touchées par la LC dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (2012-2013).

***Digestion par enzyme MnlI***

La digestion du produit PCR-ITS1 par l'enzyme de restriction MnlI (RFLP = Restriction Fragment Length Polymorphism) a permis donc de différencier entre les trois espèces de *Leishmania* qui circulent au Maroc à savoir *L. tropica*, *L. infantum* et *L. major*. La digestion des fragments d'ADN amplifiés par l'enzyme de restriction MnlI, a montré l'existence de l'espèce *L. infantum* dans les secteurs (Teroual, Khnichat, Zirara, Sidi Kacem Aîn Dfali, Sidi Ahmed Chrif et Sidi Bousber) et l'espèce *L. tropica* dans les secteurs (Had Kourt, Teroual, Bab Touika, Aîn Dfali), à l'exception des secteurs d'Aîn Dfali et Teroual où les deux espèces de *Leishmania* (*L. tropica* et *L. infantum*) coexistent (Fig. 57).

Cette enzyme a un site de restriction au niveau de la région ITS1 de *L. tropica* généré par deux bandes sur le profil électrophorétique (276 pb, 43 pb). A l'ITS1 de *L. infantum*, l'enzyme MnlI n'a pas de site de restriction. Ainsi, la bande a été trouvée sur le gel à 300 pb. Concernant *L. major*, la région ITS1 comprend trois sites de restriction correspondant à l'enzyme MnlI. Cependant, le profil électrophorétique révèle 4 bandes, mesurant respectivement, 173 pb, 109 pb, 43 pb et 10 pb.



Les échantillons cliniques et les souches de référence de *Leishmania*. Les échantillons cliniques, les échantillons 1-11 : échantillon 1 : Had Kourt ; échantillon 2 : Teroual ; échantillon 3 : Khnichat ; échantillon 4 : Zirara ; échantillon 5-6 : Sidi Kacem ; échantillon 7-8, Aîn Dfali ; échantillon 9-11 : Teroual. Les souches de référence, les échantillons 12-15 : échantillon 12 : contrôle positif de *L. tropica* ; échantillon 13 : contrôle positif de *L. infantum* ; échantillon 14 : contrôle positif de *L. major* ; échantillon 15 : contrôle négatif. MT : Marqueur de Taille (pb).

**Figure 57 : Résultats de l'analyse RFLP du produit PCR-ITS1 des lames positives des provinces de Sidi Kacem et Ouezzane (2012-2013).**

## **DISCUSSION**

Compte tenu de la réémergence de cette maladie dans le monde, de sa variabilité géographique, des modifications écologiques, climatiques et d'autres facteurs de risque de transmission dans notre région ; on constate, depuis ces dix dernières années, une extension des régions rurales vers les zones urbaines caractérisées par un niveau de vie bas, le manque d'hygiène, la promiscuité et le caractère primitif des habitations notamment dans les régions montagneuses. En effet, on note l'afflux régulier de personnes à partir de zones endémiques avec prolifération des vecteurs et abondance de chiens malades, errants, non traités qui contribuent à la propagation et l'entretien de l'enzootie dans la zone d'étude. Les campagnes de lutte antivectorielle sont insuffisantes, limitées aux secteurs les plus touchés par manque de moyens et non soutenues dans le temps.

Présentes sur quatre continents, les leishmanioses affectent plus de 98 pays, dont 72 parmi les plus faiblement développés (Louzir *et al.*, 2013). La population exposée au risque de leishmanioses est estimée à 370 millions de personnes et le nombre de nouveaux cas annuellement diagnostiqués, toutes formes cliniques confondues, est évalué entre 1,5 et 2 millions (Desjeux, 2004). Le poids économique mondial des leishmanioses est chiffré à près de 2,4 millions d'années de vie perdues pour mortalité prématurée (Desjeux, 2004), selon d'indice DALY de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (<http://www.who.int/healthinfo/doddalay/en/index.html>).

Dans les deux provinces d'étude, la LC est un véritable problème de santé publique. Sa répartition se superpose avec celle de la leishmaniose viscérale zoonotique (DELM, 2000). Elle est causée par *L. tropica* (DELM, 2010) et *L. infantum*, avec un variant enzymatique dermatopre prédominant, le zymodème MON-24 (Rhajaoui *et al.*, 2007).

L'étude rapporte une transmission importante et continue de la parasitose depuis l'année 1997 jusqu'en 2012, touchant presque la totalité des secteurs des deux provinces (Sidi Kacem et Ouezzane), notamment le périmètre rural. Ce résultat met l'accent sur l'existence de nombreux problèmes rencontrés dans le biotope dans ces deux provinces.

En effet, il existe de nombreuses habitations humaines qui abritent des étables destinées aussi bien à l'élevage de toutes sortes de bétail et volaille qu'à l'hébergement d'animaux destinés à la vente hebdomadaire. Ces étables sont mal entretenues offrant des conditions d'humidité et d'insalubrité adéquate pour entretenir les larves de phlébotomes. De même, la présence de décharges non contrôlées des déchets solides et la vocation rurale de Sidi Kacem malgré son caractère urbain au centre de la ville, font compliquer encore plus les efforts de lutte. Parallèlement, l'éloignement des centres de santé de la population et les douleurs engendrées par le traitement par Glucantime® en péri lésionnelle, font diminuer le nombre de personnes traitées et augmenter le nombre de porteurs pouvant alors infecter un plus grand nombre de phlébotomes.

En l'an 1997, la zone d'étude a notifié un seul cas de LC, puis elle a connu une augmentation très importante du nombre de cas durant les années suivantes. Ce résultat démontre la survenue d'un pic épidémique durant la période de l'étude.

Les femmes étaient plus nombreuses à présenter la maladie avec un sex-ratio de 1,17. Ce résultat est en accord avec la littérature et pourra s'expliquer par le fait que les femmes et par

rapport aux hommes se présentent beaucoup aux centres de santé à cause des lésions inesthétiques (Al Tawfiq 2004 ; Arroub *et al.*, 2012 ; Hmamouch *et al.*, 2014).

La LC touche tous les âges, du nourrisson au vieillard. Elle est très fréquente dans la tranche d'âge de moins de 9 ans, qui représente (26,2%) du total des atteintes. Cela peut être expliqué, d'une part, par le fait que le système immunitaire des enfants n'est pas encore bien développé, et par conséquent l'incapacité de combattre les affections étrangères (Arroub *et al.*, 2012). D'autre part, c'est que les personnes âgées peuvent être plus résistants aux piqûres des phlébotomes que les jeunes enfants (Ben abda *et al.*, 2009 ; Fazaeli *et al.*, 2009 ; Arroub *et al.*, 2012). Le même constat a été rapporté dans d'autres études (Zougaghi, 2011).

La LC a été observée au cours des douze mois de l'année. C'est en printemps (42%) que le plus fort taux de positivité a été enregistré. En effet, cette zoonose possède un mode de transmission estivo-automnale, lié à la dynamique saisonnière des phlébotomes.

Les lésions étaient plus fréquentes au visage (Fellah *et al.*, 2007), avec comme siège de prédilection la joue. D'autres études ont montré que les membres supérieurs ont été les plus touchés (Fazaeli *et al.*, 2009 ; Aoun *et al.*, 2012). La majorité de ces localisations siégeaient sur les parties découvertes du corps, ce qui est en rapport avec le comportement vestimentaire. En effet les grandes chaleurs estivales, notamment aux milieux montagnaux, poussaient à un habillement léger, ample et assez découvert (surtout pour les enfants) exposant ainsi une plus grande surface du corps aux piqûres infectantes des phlébotomes (Belazzoug *et al.*, 1985).

L'extension de la zone d'endémie, peut être expliquée par le fait que la leishmaniose aurait été importée dans des régions saines par des humains. La transmission à leur retour à d'autres humains ou chiens se ferait par l'intermédiaire des phlébotomes, présents en effet dans de nombreuses régions. Les chiens porteurs asymptomatiques constituent donc un réservoir important de la maladie, tout comme les chiens symptomatiques non traités.

Depuis le début de l'épidémie, le ministère de la santé considère la LC comme problème de santé publique prioritaire dans la région et y a instauré un programme de lutte qui tient compte des spécificités épidémiologiques de la LC dans cette région du Maroc. Malgré ces efforts, la LC persiste à des taux élevés.

La leishmaniose cutanée humaine due à *L. infantum* a été signalée pour la première fois en France (Rioux *et al.*, 1980). Depuis, elle a été trouvée dans la plupart des foyers à LV canine et humaine du pourtour méditerranéen. Le premier cas marocain a été dépisté, dans le Rif central à Taounate. L'identification enzymatique du parasite a montré qu'il s'agit de *L. infantum* MON 24 (Rioux *et al.*, 1996). Des investigations moléculaires, réalisées en 2007, montrent l'existence de formes cutanées causées par *L. infantum*. La majorité de ces cas ont été enregistrés au niveau de la province de Sidi Kacem (Rhajaoui *et al.*, 2007). Il s'agit de formes sporadiques montrant des lésions uniques, ulcérocroûteuses ou lupoides, évoluant pendant au moins deux ans (Rioux *et al.*, 1996).

La leishmaniose humaine due à *L. infantum* s'observe de façon sporadique sur tout le pourtour du bassin méditerranéen. En effet, même si le chien peut être considéré comme un réservoir principal de *L. infantum*, en hébergeant les leishmanies dans le derme, dont plusieurs variantes (*L. infantum* MON-1, MON-24, MON-34, MON-77, MON-108) ont déjà été identifiés chez cet hôte (Aoun *et al.*, 2003 ; Benikhlef *et al.*, 2004 ; Pratlong *et al.*, 2004), la nature du vecteur reste encore hypothétique (Harrat *et al.*, 1996 ; Pratlong *et al.*, 2004). Il

appartiendrait cependant très probablement au sous-genre *Larrousius*, qui est le vecteur confirmé de *L. infantum* dans le bassin méditerranéen (Killick-Kendrick *et al.*, 1990). En outre, au Maroc, le réservoir naturel de LV est le chien et peut devenir le réservoir de LC (Guessous Idrissi *et al.*, 1997).

Dans le sud de l'Europe, *Leishmania infantum* a été isolé chez le rat noir, le chat et le renard mais le rôle de ces animaux dans l'épidémiologie de cette zoonose n'a pas été totalement expliqué (Criado-Fornelio *et al.*, 2000). A Séfrou, cette forme a été identifiée dans un seul secteur « Azzaba » chez un bébé de 8 mois (Hmamouch *et al.*, 2014), ce qui pourrait s'expliquer par la présence de la leishmaniose canine due à *L. infantum* dans le même secteur (Nejjar *et al.*, 2000).

Le tableau clinique de la LC due à *L. tropica* et *L. infantum* observée dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane était le même. Les lésions ont été généralement de petites tailles, sèches, de type unique et la plupart situés sur le visage.

L'application de mesures de contrôles indirects sur les chiens doit être renforcée par des mesures appropriées dans ces deux provinces. Aussi, nous recommandons que les protocoles de traitement, en particulier dans les cas de la coexistence des deux espèces, doivent être fondés sur un diagnostic biologique et non seulement clinique. En outre, il faut renforcer les études visant à caractériser les différentes variantes enzymatiques de *L. infantum* impliqués.

# **CONCLUSION GENARALE ET PERSPECTIVE**

## Conclusion générale et perspectives

La leishmaniose est une maladie parasitaire non contagieuse, provoquée par le parasite protozoaire du genre *Leishmania*. Transmise à l'homme par la piqûre des phlébotomes femelles, se décline en trois formes principales : viscérale (mortelle en l'absence de traitement), cutanée (la plus fréquente) et cutanéomuqueuse. Dans les pays du pourtour méditerranéen, la leishmaniose cutanée sévit principalement en milieu rural, dans les villages et autour des villes des zones arides et sahariennes et autour des oasis.

Les leishmanioses représentent un problème de santé publique au Maroc, non seulement à cause du nombre de cas enregistrés chaque année, mais aussi à cause de la large répartition de la maladie sur le territoire marocain, la diversité des espèces de leishmanies et la diversité des formes cliniques ; ainsi que tous les facteurs socio-économiques, climatiques et environnementales ayant un impact sur la propagation de la maladie. La leishmaniose est classée par l'OMS parmi les 17 maladies tropicales négligées à combattre.

Les phlébotomes posent un problème de santé humaine et animale. Son épidémiologie dépend des caractéristiques de l'espèce, des particularités écologiques locales des sites de transmission, de l'exposition actuelle et passée de la population humaine au parasite et des comportements humains. La réussite d'un programme de lutte contre les leishmanioses nécessite une connaissance préalable et approfondie de ces vecteurs. Dans cette optique, nous avons mené de pair des recherches écologiques et des études moléculaires sur les phlébotomes dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane.

Le choix de Sidi Kacem et Ouezzane comme région d'étude principale, est fondé essentiellement sur sa position carrefour entre les foyers de leishmaniose cutanée (à *Leishmania tropica* et *infantum*) et leishmaniose viscérale de Taounate (Bailly-Chounara *et al.*, 1972 ; Bamba, 2011 ; Aoun & Bouratbine, 2014) et entre le foyer de leishmaniose anthroponotique à *L. tropica* de Moulay Yakoub (Ben Abda *et al.*, 2009).

L'inventaire des phlébotomes de la zone d'étude révèle la présence en sympatrie de trois espèces vectrices (ubiquistes du pays) des trois leishmanies responsables des foyers marocains de leishmanioses : *Phlebotomus papatasi/L. major*, *P. longicuspis/L. infantum* et *P. sergenti/L. tropica*. Au sein du genre *Sergentomyia*, nous avons collecté *S. minuta* dans la zone d'étude, sauf à l'exception de la province de Boulemane où la capture été nul.

Ce travail, met l'accent sur plusieurs facteurs naturels et anthropogènes qui influencent de façon importante l'abondance et la distribution spatio-temporelle des populations de phlébotome. Au Maroc, plusieurs travaux (Rioux *et al.*, 1984 ; Rioux *et al.*, 1997 ; Rispaïl *et al.*, 2002, Rioux et de La Rocque, 2003) ont souligné le rôle joué par le bioclimat. Dans ces milieux, où les ressources sont limitées, les phlébotomes vecteurs se trouvent associés à l'environnement humain car il offre un habitat de choix (richesse en matière organique, abri, hôtes, gîtes de repos...).

Les conditions socioéconomiques, la malnutrition, la mobilité de la population et les changements environnementaux, considéré comme les principaux facteurs de risque de la propagation de la maladie dans la zone d'étude. Au Maroc, en 2006, Guernaoui *et al.* attirent l'attention sur le rôle de certains types de constructions habitables (en terre ou en béton) sur la répartition des phlébotomes. En effet, les vecteurs sont abondants seulement dans les quartiers où les constructions sont faites en terre.

## Conclusion générale et perspectives

Dans le volet du parasite, l'espèce de leishmanie a une influence déterminante sur l'évolution de la maladie. Il est essentiel de connaître l'identité du ou des parasites dans chaque foyer, car elle influe sur l'épidémiologie, la lutte et le traitement. Dans cette optique, nous avons procédé à un diagnostic microscopique et moléculaire à partir de lames positives de province de Sidi Kacem et Ouazzane. Le premier est basé sur l'observation microscopique, a permis de déterminer les cas positifs parmi les patients suspects, cependant l'étude moléculaire est consacrée à l'identification de l'agent causal de la LC dans la région. En effet, l'analyse RFLP des produits PCR ITS1 par l'enzyme M<sub>n</sub> II a prouvé sa grande efficacité pour identifier *L. tropica* et *L. infantum*, les deux espèces circulantes dans la région d'étude.

L'analyse des fluctuations saisonnières des espèces inventoriées dans la région de Sidi Kacem et Ouezzane montre deux pics de densité totale des phlébotomes : pic de novembre et pic de mai. *P. sergenti* est l'espèce la plus abondante et active sur toute l'année. Ces résultats permettent de cerner les périodes à risque augmenté de transmission de *L. tropica* et *L. infantum* à Sidi Kacem & Ouazzane. La connaissance précise de ces périodes peut aider à l'intervention anti-vectorielle dans cette région.

En plus des poussées épidémiques répétitives de la maladie, on a remarqué et de plus en plus, la coexistence de plusieurs formes de la maladie dans la même région géographique, chose qui n'était pas décrite avant.

Le traitement des cas est la seule méthode de lutte adoptée par Le Ministère de la Santé au Maroc. Le traitement est offert gratuitement pour tous les malades. Puisqu'il est irréalisable, sur le plan pratique, de traiter tout le monde, il est indispensable de conjuguer cette méthode à la lutte anti-vectorielle si l'on veut stopper la transmission et prévoir l'émergence de la maladie dans des régions limitrophes dans la zone d'étude.

L'élaboration de stratégies destinées à prévenir et à combattre les leishmanioses, nécessite une bonne connaissance de l'interaction entre l'évolution de l'environnement rural et les phlébotomes vecteurs (OMS, 2002). Donc, s'informer préalablement sur le vecteur dans son milieu naturel présente un intérêt capital pour proposer un programme anti-vectoriel efficace. Cela permet de préciser les biotopes et les périodes d'intervention, ainsi que les conditions biotiques et abiotiques qui favorisent la pullulation du vecteur. Pour se faire, nous avons procédé à une étude systématique de la distribution spatio-temporelle, de l'abondance et la fréquence des phlébotomes à travers la zone d'étude, au niveau plusieurs biotopes (à l'intérieur des habitations, au sein des écuries, des étables, à proximité de la végétation, au niveau des trous d'arbres et sous-bois dégradé) avant de proposer quelques moyens de lutte (OMS, 2010).

Le présent travail a donné de nombreuses recommandations à prendre en considération dans la planification d'un programme de contrôle plus précis, qui pourra compléter le programme national de lutte contre la leishmaniose supervisée par le ministère marocain de la santé.

- **Volet information, la disponibilité des services sanitaires, le renforcement des capacités des cliniciens et des agents de santé, la sensibilisation de la communauté de la maladie ainsi que les associations civiles, les autorités locales...** surtout au sein des établissements scolaires et des théâtres forum, en s'intéressant de plus aux élèves, des intermédiaires pour sensibiliser les parents.

## Conclusion générale et perspectives

- **Volet parasite** : L'analyse moléculaire du parasite laisse conclure, que chaque programme de lutte (physique, biologique et chimique) doit être renforcé contre *L. tropica* et *L. infantum*.
- **Volet lutte anti vectorielle** : Le traitement actif et précoce des cas et la lutte contre le réservoir diminuent le nombre de nouveau cas infectés, mais sans pouvoir stopper l'épidémie. Il suffirait que quelques cas restent sans traitement, dans un milieu où la population de vecteur est importante, pour que la transmission du parasite s'éclate et de façon épidémique. Dans le cas d'une anthroponose, Afin d'appuyer une stratégie de lutte contre la maladie et la rendre plus efficace, il faut y joindre des efforts dans le renforcement de la collaboration intersectorielle avec le ministère de l'intérieur, cela permet l'élimination des ordures ménagères qui est le biotope favorable pour la pullulation des phlébotomes, ainsi que la restauration des vieux murs de la région, afin de réduire la densité du vecteur. Il faut dans ce sens s'efforcer d'améliorer les conditions d'hygiène pour des populations qui vivent dans les zones d'endémie pour faire reculer la transmission (OMS, 2010).

Malgré les multitudes des travaux de recherches qui s'intéressent à cette maladie, on ne voit pas encore de progrès ni sur le volet thérapeutique ni préventif ; les dérivés antimoniés pentavalents intra lésionnel ou par voie systémique reste le traitement de première intention, voir le seul traitement pour cette maladie. Les données acquises dans ce travail ne doivent pas rester limitées à un cadre de recherche universitaire et doivent être exploitées pour l'établissement d'une stratégie de prévention et de lutte efficace contre la maladie. La nouvelle feuille de route de l'OMS pour les maladies tropicales négligées 2021-2030 (OMS, 2020) propose des objectifs et des indicateurs plus solides pour suivre les progrès réalisés dans la lutte contre la leishmaniose et son élimination (OMS, 2020).

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- ABONNENC E, RIOUX JA. 1960. Contribution à l'étude des phlébotomes (Diptera: Psychodidae) du Nord Tchad in: mission epidemiologique au Nord. Tchad, J-A. Rioux. *Ed. Paris : arts et metiers graphiques* 30-53.
- ABONNENC E. 1972. Les phlébotomes de la region Ethiopienne (Diptera : Psychodidae). *Mem; O.R.S.T.O.M, Ser. Ent. Med. Parasitol.*, 289p.
- ADL SM, SIMPSON AGB, FARMER MA, ANDERSEN RA, ANDERSEN OR, BARTA JR, BOWSER SS, BRUGEROLLE G, FENSOME RA, FREDERRIQ S, JAMES T.Y., KARPOV, S., KUGRENS, P., KRUG, J., LANE, C.E., LEWIS, L.A., LODGE, J, LYNN DH, MANN DG, MCCOURT RM, MENDOZA L, MOESTRUP O, MOZLEY-STANDRIDGE S, NERAD TA, SHEARER CA, SMIRNOV AV, SPIEGEL F. ET TAYLOR MFJR. 2005. The New Higher-Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52 pp : 399-451.
- ADLER S, THEODOR O. 1927. On a collection of Phlebotomes sp. of the *minutus* group. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 21-68.
- AFSSA. 2005. Rapport sur l'évaluation du risque d'apparition et de développement de maladies animales compte tenu d'un éventuel réchauffement climatique : 25-7.
- AGOUMI A, AARAB H, TIGLI H *et al.* (2003). Précis de parasitologie médicale.
- Aît Anta D. 2021. Le profil épidémiologique de leishmaniose cutanée et viscérale dans la province Al Haouz. Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech.
- AJDARY S, ALIMOHAMMADIAN M. H, ESLAMI M. B, KEMP K. and KHARAZMI A. 2000. "Comparison of the immune profile of nonhealing cutaneous Leishmaniasis patients with those with active lesions and those who have recovered from infection." *Infect Immun* 68(4): 1760-1764.
- AL JAWABREH, A., SCHNUR, L. F., NASEREDDIN, A., SCHWENKENBECHER, J.M., ABDEEN, Z., BARGHUTHY, F., KHANFAR, H., PRESBER, W. ET SCHÖNIAN, G. 2004. The recent emergence of *Leishmania tropica* in Jericho (A'riha) and its environs, a classical focus of *L. major*. *Trop. Med. Int. Health* 9(7) pp: 812-6.
- AL-JAWABREH A, DUMAIDI K, EREQAT S, NASEREDDIN A, AZMI K, AL-JAWABREH H, AL-LAHAM N, ABDEEN Z. 2018. A comparison of the efficiency of three sampling methods for use in the molecular and conventional diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Acta Trop* 182:173-177.
- ALEXANDER, B. (2000). Sampling methods for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Medical and Veterinary Entomology*, 14, 109-122.
- ALVAR J. et JIMENEZ M, 1994. Could infected drug users be potential *Leishmania infantum* reservoirs? *AIDS*; 8 :854. DOI: 10.1097/00002030-199406000-00024.
- ALVAR J, VELEZ ID, BERN C, HERRERO M, DESJEUX P. 2012. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLoS ONE*, 2012; 7(5).
- AL-ZAHRANI, MA, LANE RP, CHING-CHIN I, ASIRY MA, PETERS W. 1997. Biology of Phlebotomus sandflies (Diptera: Psychodidae) in two contrasting leishmaniasis foci of south-west Saudi Arabia. *Bull. Ent. Res.* 87, 221-230.
- AL TAWFIQ JA., ABUKHAMSIN A. 2004. Cutaneous leishmaniasis: a 46-year study of the epidemiology and clinical features in Saudi Arabia (1956-2002). *International Journal of Infectious Diseases*, 8(4), 244-250.
- ALVAREZ F, ROBELLO C. et VIGNALI M. 1994. Evolution of codon usage and base contents in kinetoplastid protozoans. *Mol. Biol. Evol.* 11(5) pp: 790-802.
- AMRO A, HAMDY S, LEMRANI M, MOUNA I, MOHAMMED H, MOSTAFA S, RHAJAOUI M, HAMARSHEH O, SCHÖNIAN G. 2013. Moroccan *Leishmania infantum*: genetic diversity and population structure as revealed by multi-locus microsatellite typing. *PLoS One* 8 : e77778.

- AMATO VS, TUON FF, BACHA HA, NETO VA and NICODEMO AC. 2008. "Mucosal leishmaniasis. Current scenario and prospects for treatment." *Acta Trop* 105(1): 1-9.
- ANTOINE JC, LANG T, PRINA E, COURRET N. & HELLIO R. 1999. H-2M molecules, like MHC class II molecules, are targeted to parasitophorous vacuoles of *Leishmania*-infected macrophages and internalize by amastigotes of *L. amazonensis* and *L. mexicana*. *J Cell Sci.* 112, 2559-70.
- ANOFEL. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie 2014.
- ANOFEL, 2014. Association française des enseignants de parasitologie et mycologie médicales, parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales, Ed. Elsevier Masson, pp -.
- ANON., 1997. Lutte contre les leishmanioses. Guide des activités. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Service des Maladies parasitaires. Ministère de la Santé. Maroc
- AOUN K, DIOUANI MF, BENIKHLEF R, BOURABTINE A, BEN HADJ ALI S, HARRAT Z, BELKAÏD M, KILANI M, BEN ISMAÏL R. 2003. *Leishmania infantum* MON-1 : seul zymodème isolé chez les chiens leishmaniens en Tunisie. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 96, 77-79.
- AOUN K, BEN ABDA I, BOUSSLIMI N, BETTAIEB J, SIALA E, BEN ABDELLAH R, BENMOUSLY R, BOURATBINE A. 2012. Caractérisation comparative des trois formes de leishmaniose cutanée endémiques en Tunisie. *Ann. Dermatol. Venereol.* 139, 452-458.
- APONTE JC, *et al.* 2009. A Multipronged Approach to the Study of Peruvian Ethnomedicinal Plants: A Legacy of the ICBG-Peru Project (big up tri, open). *J Nat Prod.* 72(3): p. 524-526.
- ARTEMIEV M.M., 1978. Sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) of Afghanistan..Kabul. Ministry of Public Health. 87 pp.
- ARANSAY AM, READY PD and MORILLAS-MARQUEZ F. (2003). Population differentiation of *Phlebotomus perniciosus* in Spain following postglacial dispersal. *Heredity* 90, 316–325. doi:10.1038/sj.hdy.6800246.
- ARROUB H, ALAOUI A, LEMRANI M & ABBARI K. 2012. Cutaneous Leishmaniasis in Foum Jamâa (Azilal, Morocco): Micro-environmental and Socio-Economical Risk Factors. *J. Agric. Soc. Sci.* 1, 10-16.
- ARTEMIEV M M, NERONOV VM. 1984. Distribution and ecology of sand flies of the world (genus *Phlebotomus*) Moscou. *Inst. Evol. Morph. Anim. Ecol.* MSSR 208 p.
- ARTEMIEV M. M., 1991. A classification of the subfamily Phlebotominae. In: Maroli, M. (Ed), Proceedings of the First International Symposium on Phlebotomine Sandflies. *Parassitologia* 33 (Suppl.1), 69-77.
- ASHFORD RW. 1974. Sandflies (Diptera, Phlebotominae) from Ethiopia: Taxonomic and biological notes. *J. Med. Ent.* 11, 605-616.
- ASHFORD RW, SCHNUR LF, CHANCE ML, SAMAAAN SA, AHMED HN, 1977. Cutaneous leishmaniasis in the Libyan Arab Republic: preliminary ecological findings. *Ann.Trop. Med. Parasitol.* 71, 265-271.
- ASHFORD RW. 1997. What it takes to be a reservoir host. *Belg J Zool* 127: 85-90.
- AYADI A, R BEN ISMAIL, AND MS BEN RACHID. 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. Inst. Pasteur Tunis* 68: 269-273.
- AZIZI K, RASSI Y, JAVADIAN E, MOTAZEDIAN MH, RAFIZADEH S, YAGHOUBI ERSHADI MR, MOHEBALI M.,2006. *Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri*: a probable vector of *Leishmania infantum* in Iran. *Ann.Trop. Med. Parasitol.* 100, No. 1, 63-68.

- BAILLY-CHAUMARA H, ABONNEC E. & PASTRE J. 1971. Contribution à l'étude des phlébotomes du Maroc (Diptera: Psychodidae). Données faunistiques et écologiques. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd. Parasitol.* IX, 4, 431-460.
- BACAËR N. & GUERNAOUI S. 2006. The epidemic threshold of a simple seasonal model of cutaneous leishmaniasis. *J. Math. Biosc.* 53 :421-436. DOI 10.1007/s00285-600-0015-0.
- BADARO R, JONES TC, LORENÇO R, CERF BJ, SAMPAIO D, CARVALHO EM, *et al.* Aprospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis* 1986;154:639-49.
- BANULS A. HIDE L. M., and Prugnolle F. 2007. "Leishmania and the leishmaniasis: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans." *Adv Parasitol* 64: 1-109.
- BASSET D, FARAUT F, MARTY P, DEREURE J, ROSENTHAL E, MARY C, *et al.* Visceral leishmaniasis in organ transplant recipients: 11 new cases and a review of the literature. *Microbes Infect* 2005;7:1370-5.
- BAUM M, DE CASTRO EA, PINTO MC, GOULART TM, BAURA W, KLISIEWICZ D DO R, *et al.* 2015. Molecular detection of the blood meal source of sand flies (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, Paraná State, Brazil. *Acta Trop. Elsevier B.V.*, 143 : 8-12.
- BASSELIN M, *et al.* Resistance to pentamidine in *Leishmania mexicana* involves exclusion of the drug from the mitochondrion. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002. 46 (12): p. 3731-8.
- BA Y, TROUILLET J, THONNON J, FONTENILLE D. 1998. Phlébotomes du Sénégal (Diptera: Psychodidae): peuplement et dynamique des populations de la région de Mont-Rolland. *Parasite*, 5,143-150.
- BENNIS I. 2018. Cutaneous leishmaniasis in Morocco: psychosocial burden and simplified diagnosis. <https://repository.uantwerpen.be/docman/irua/324029/151076>. pdf. DOI-10.13140/RG.2.2.14088.93445.
- BENNIS I, VERDONCK K, EL KHALFAOUI N, *et al.* 2018. Accuracy of a rapid diagnostic test based on antigen detection for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis in patients with suggestive skin lesions in Morocco. *Am J Trop Med Hyg*; 99:716-22.
- BELKAID Y, KAMHAWI S, MODI G, VALENZUELA J, NOBEN-TRAUTH N, ROWTON E, RIBEIRO J. AND SACKS D.L. 1998b. Development of a natural model of cutaneous leishmaniasis: powerful effects of vector saliva and saliva preexposure on the long-term outcome of *Leishmania major* infection in the mouse ear dermis. *The Journal of Experimental Medicine* , 188 , 1941-1953.
- BERCHI S. 1993. Les phlébotomes (Insecta, Diptera, Psychodidae), vecteurs de leishmanioses dans l'Est algérien. *Bull. Soc. Zool. Fr*, 118, 3, 341-349.
- BERCHI S, BOUNAMOUS A, LOUADI K, PESSON B. 2007. Differentiation morphologique de deux espèces sympatriques: *Phlebotomus perniciosus* Newstead 1911 et *P. longicuspis* Nitzulescu 1930 (Diptera: Psychodidae). *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 43, 201-203.
- BEN SALAH, A., BEN ISMAIL, R., AMRI, F., CHLIF, S., BEN RZIG, F., KHARRAT, H., HADHRI, H., HASSOUNA, M., DELLAGI, K., 2000. Investigation of the spread of human visceral leishmaniasis in central Tunisia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 94, 382-386.
- BELEZZOUG S, MAHZOUL D, ADDADI K & DEDET JP. 1982. *Sergentomyia minuta parroti* (Adler et Theodor, 1927) en Algérie (Diptera : Psychodidae). Systématique infraspécifique et répartition géographique. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 57, 621-630.

- BELAZZOUG S, AMMARY-KHODJA A, RIOX JA et PRATLONG F. 1986. Forme chronique de leishmaniose cutanée humaine à *leishmania major* Yakimoff et Schokhor. 1914. L'homme réservoir éventuel. In: *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Application éco-épidémiologiques. J.A. Rioux ed., Imeee, Montpellier pp: 459-461.
- BENZERROUG EH, BENHABYLLES N, IZRI MA, BELAHCENE EK. 1992. Indoor and outdoor nebulization of DDT in the campaign against cutaneous zoonotic leishmaniasis in Algeria. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.* 72 (1), 5-12.
- BELAZZOUG S., MAHZOUL D., ADDADI K., DEDET J.P., 1982. *Sergentomyia minuta* parroti (Adler et Theodor, 1927) en Algérie (Diptera: Psychodidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 57, 621-630.
- BELAZZOUG S, AMMARY-KHODJA A, RIOX JA et PRATLONG F. 1986. Forme chronique de leishmaniose cutanée humaine à *leishmania major* Yakimoff et Schokhor. 1914. L'homme réservoir éventuel. In: *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Application éco-épidémiologiques. J.A. Rioux ed., Imeee, Montpellier pp: 459-461.
- BELAZZOUG S. 1986. Les leishmanioses en Algérie. A propos de l'identification enzymatique de 32 souches d'origine humaine et animale. In: *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. (Coll.int.CNRS/INSERM, 1984). Ed by Rioux J.A. Montpellier: IMEEE, 1986, 397-400.
- BELAZZOUG S., 1986a. Découverte d'un *Meriones shawi* (Rongeur, Gerbillide) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar Chellala (Algérie). *Bull Soc Path Exot* 79 : 630-633.
- BELAZZOUG S., MAHZOUL D., 1986c. Notes sur les phlébotomes (Diptera: Psychodidae) du Hoggar. *Arch. Inst. Past. Alger*, 55, 113-116.
- BELAZZOUG S, MAHZOUL D, RIOUX JA. 1986d. Les phlébotomes (Diptera: Psychodidae) de M'sila et Bou-Saada. *Arch. Inst. Past. Alger*, 55, 117-124.
- BELAZZOUG S, NEAL RA. 1986. Failure of meglumine antimoniate to cure cutaneous lesions due to *Leishmania major* in Algeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 80:670-1.
- BELAZZOUG S., MAHZOUL D., RIOUX J-A., 1986. Les phlébotomes (Diptera-Psychodidae) de M'sila et Bou-Saada. *Arch. Inst. Pasteur Algérie*. 55, 117-124.
- BELAZZOUG S. 1991. The sandflies of Algeria. *Parasitologia* 33 (Suppl), 85- 87.
- BELAZZOUG S. 1992. Leishmaniasis in Mediterranean countries. *Vet. Parasitol.* 44, 15- 19.
- BENABDENNBI I, BOMBARD S, BRAVERMAN Y, PESSON B. 1996. Differentiation of Females in *Sergentomyia* sensu stricto (Diptera: Psychodidae) Using Scanning Electron Microscopy of Pharyngeal Armatures. *J. Med. Entomol.* 33, 265-268.
- BENABDENNBI I. 1998. Contribution à l'étude de la biodiversité chez les *Larroussius* (Diptera : Psychodidae) du bassin méditerranéen. Apports de l'analyse isoenzymatique. *Thèse Université Strasbourg I*, 152 p.
- BENABDENNBI, I. ET PESSON, B., 1998. A propos de la variabilité morphologique de *Phlebotomus perniciosus* (Diptera : Psychodidae). *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 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. *J. Med. Entomol.* 36, 116-120.
- 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. *J. Med. Ent.* 36, 116-120.

- BEN ISMAIL R, BEN RACHID MS., 1989. Epidémiologie des leishmanioses en Tunisie. *Mal Trop Trans*; 1:73-80.
- BERCHI S., 1993. Les phlébotomes (Insecta, Diptera, Psychodidae), vecteurs de leishmanioses dans l'Est algérien. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 118 (3), 341-349.
- BELAZZOUG S, AMMAR KHODJA A, BELAKAID M, TABET-DERRAZ O. 1985. La leishmaniose cutanée du nord de l'Algérie. *Bull Soc Pathol Exot* ; 78:615-22.
- BENABDENBI I, 1998. Contribution à l'étude de la biodiversité chez les *Larroussius* (Diptera: Psychodidae) du bassin méditerranéen. Apports de l'analyse isoenzymatique. *Thèse, Univ Strasbourg I*, 152 p.
- BEN ISMAIL R, GRAMICCIA M, GRADONI L, HELAL H. et BEN RACHID MS. 1987. Isolation of *Leishmania major* from *Phlebotomus papatasi* in Tunisia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81, 749p.
- BEN ABDA , AOUN K, BEN ALAYA N, BOUSSLIMI N, MOKNI M, BOURATBINE A. 2009. Données épidémiologiques, cliniques et parasitologiques actualisées de la leishmaniose cutanée en Tunisie. *Revue tunisienne d'infectiologie*.2, 31-36.
- BENIKHLEF R, HARRAT Z, TOUDJINE M, DJERBOUH A, BENDALI-BRAHAM S, BELKAID M. 2004. Présence de *Leishmania infantum* MON-24 chez le chien. *Med. Trop.* 64, 381-383.
- BETTAIEB J, TOUMI A, CHLIF S, CHELGHAF B, BOUKTHIR A, GHARBI A. and BEN SALAH A. 2014. "Prevalence and determinants of *Leishmania major* infection in emerging and old foci in Tunisia." *Parasit Vectors* 7: 386.
- BIOCCA E, COLUZZI A, COSTANTINI R. 1977. Osservazioni sulla attuale distribuzione dei flebotomi italiani e su alcuni caratteri morfologici differenziali tra le specie del sottogenere *Phlebotomus* (*Larroussius*). *Parassitologia* 19, 19-31.
- BIOINFO. 2019. <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr/identiciels/phlebotomes/html/taxa> consulté le 12 juillet 2019.
- BOUYAHYA A, ET-TOUYS A, BAKRI Y, TALBAUI A. 2017. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Microb. Pathog.*
- BORA D. 1999. Epidemiology of visceral leishmaniasis in India. *National Medical Journal of India*, 12, 62-68.
- BONGIORNO G, HABLUEZEL A, KHOURY C, MAROLI M. 2003. Host references of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Tropica* 88, 109–116.
- BOUNAMOUS A, BOUDABOUS R, JOUET D, AUGOT D, FERTE H, BABBA H, BERCHI S, DEPAQUIT J. 2008. Caractérisation moléculaire et morphologique de deux espèces affines de *Paraphlebotomus*: *phlebotomus chabaudi* Croset, Abonnenc & Rioux, 1970 et *P. riouxi* Depaqui, Killck-Kendrick & Leger, 1998 (Diptera, Psychodidae). *Parasite*, 15, 565-571
- BOUDABOUS R, AMOR S, KHAYECH F, MARZOUK M, BDIRA S, MEZHOUH H, AZAIEZ R, SFAR M, BABBA H. 2009. The phlebotomine fauna (Diptera psychodidae) of the Eastern Coast of Tunisia. *J. Med. Entomol.* 46 (1), 1-8.
- BOUSSAA S. 2003. Contribution à l'étude de la dynamique de vol de la faune phlébotomienne dans les zones arides et semi-arides : cas de Marrakech et ses marges. DES. Univ. Cadi Ayyad, Marrakech : 45pp.
- BOUSSAA S, GUERNAOUI S, PESSON B, BOUMEZZOUGH A. 2005. Seasonal fluctuations of phlebotomine sandfly populations (Diptera: Psychodidae) in the urban area of Marrakech, Morocco. *Acta tropica*, 95 :86-91.

- BOUSSAA S, PESSON B et BOUMEZZOUGH A. 2007. Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of Marrakech city, Morocco, *Annals of Tropical Medicine & Parasitol.* 101(8) pp: 715-724.
- BOUSSAA S. 2008. Epidémiologie des leishmanioses dans la région de Marrakech, Maroc. Effet de l'urbanisation sur la répartition spatio-temporelle des phlébotomes et caractérisation moléculaire de leurs populations. DES. fac. Sci. Semlalia Univ. Cadi Ayyad, Marrakech: 217pp.
- BOUSSAA S, PESSON B. and BOUMEZZOUGH A. 2009. Faunistic study of the sandflies (Diptera: Psychodidae) in an emerging focus of cutaneous leishmaniasis in Al Houz province, Morocco. *Annal of Tropical Medicine et parasitology*, Vol.103, No. 1 pp: 73-83.
- BOURATBINE A, AOUN K, GHARBI M, HAOUAS N, ZAROUJ J, HARRAT Z, BABA H, and DARGHOUTH MA. 2005. Epidemiological, clinical and parasitological data about canine leishmaniasis in Tunisia. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 98(5), 359-362.
- BOUDRISSA A, CHERIF K, KHERRACHI I, BENBETKA S, BOUIBA L, BOUBIDI S. *et al.* 2012. Spread of *Leishmania major* to the north of Algeria. *Bull Soc Pathol Exot*;105:30-5.
- BOUSSLIMI N, AOUN K, BEN ABDA I, BEN ALAYA BOUAFIF N, RAOUANE M, BOURATBINE A. 2010. Epidemiological and clinical features of cutaneous leishmaniasis in southeastern Tunisia. *Am J Trop Med Hyg*;83:1034-9.
- BÜTTIKER W, LEWIS DJ. 1983. Insect of Sudi Arabia some ecological aspects of Saudi Arabian Phlebotomie sandflies. *Saudi Arabia*, 5, 479-528.
- CAMPINO L, SANTOS-GOMES G. *et al.* 1994. The isolation of *Leishmania donovani* from an aids patient in Portugal : possible needle transmission. *Parasite*, 1:391-2.
- CARVALHO BM, RANGEL EF, READY PD, VALE MM. 2015. Ecological Niche Modelling Predicts Southward Expansion of *Lutzomyia* (Nyssomyia) *flaviscutellata* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), Vector of *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* in South America, under Climate Change. *PLoS ONE* 10(11): e0143282. doi:10.1371/journal.pone.0143282.
- CHAN-BACAB MJ, PEÑA-RODRÍGUEZ LM. 2001. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Nat Prod Rep* 18:674-688.
- CHAHED MK, BELLALI H, BEN JEMAA S, BELLAJ T. 2016. Psychological and Psychosocial Consequences of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis among Women in Tunisia: Preliminary Findings from an Exploratory Study. *PLoS Negl Trop Dis* 10:e0005090.
- CHELBI I, M DERBALI Z, AL-AHMADI B, ZAAFOURI A, EL FAHEM, ZHIOUA E. 2007. Phenology of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) relative to the seasonal prevalence of zoonotic cutaneous leishmaniasis in central Tunisia. *J. Med. Entomol*, 44, 385-388.
- CHAMKHI *et al.* 2006. Description de la femelle de *Phlebotomus* (*Larroussius*) *chadlii* Rioux, Juminer et Gibily, 1966 (Diptera: Psychodidae). D'après un exemplaire capture aux environs du Kef (Tunisie) : Description of the hitherto unknown female of *Phlebotomus* (*Larroussius*) *chadlii*, Rioux, Juminer & Gibily, 1966 (Diptera : Psychodidae). *Parasite*, 13 4, pp. 299-303.
- CHARREL RN, IZRI MA, TEMMAM S, LAMBALLERIE X, PAROLA P. 2006. Toscana Virus RNA in *Sergentomyia minuta* Flies. *Emerging Infectious Diseases*. [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid). 12, 8.
- CHRISTOPHERS SR, SHORT HE & BARRAUD PJ. 1925. The development of the parasite of Indian Kalaazar in the sandfly *Phlebotomus argentipes* Annandale & Bnmetti. *Ind. J. med. Res.* 12, 605-608.

- CHRISTOPHERS SR, SHORT HE & BARRAUD PJ. 1926. The anatomy of the sandfly *Phlebotomus argentipes* Ann. & Brun. (Diptera). 1. The head and mouth parts of the imago. *Ind. med. Res. Mem.* 4, 177-204.
- COLEMAN RE, BURKETT DA, PUTNAM JL, SHERWOOD V, CACI B, JENNINGS BT, HOCHBERG LP, SPRADLING SL, ROWTON ED, BLOUNT K, PLOCH J, HOPKINS G, RAYMOND JLW, OGUINN ML, LEE JS, WEINA PJ. 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. *J. Med. Entomol.* 43, 647- 662.
- COMER JA, TESH RB. 1991. Phlebotomine sandflies as vectors of vesiculovirus: a review. *Parassitologia.* 33, 143-150.
- COSTA M.A, MATHESON C, IACHETTA L, LLAGOSTERA A, APPENZELLER O. 2009. Ancient leishmaniasis in a highland desert of Northern Chile. *PLoS One*, 4(9): e6983.
- CRUZ I, NIETO J, MORENO J, CANAVATE C, DESJEUX P, ALVAR J. 2006. Leishmania/HIV coinfections in the second decade. *Indian Journal of Medical Research* 123 (3): 357-388.
- CRIADO-FORNELIO A, GUTTIEREZ-GARCIA L, RODRIGUEZ-CAABEIRO F, *et al.* 2000. A parasitological survey of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from the province of Guadalajara, Spain. *Vet Parasitol* ; 92 : 245-51.
- CROFT AM, LESTRINGANT GG, BAKER BC. 2006. Cutaneous leishmaniasis following military deployment to Iraq. *Med trop.* 62(2), 185-188.
- CROSET H. 1969. Ecologie et systématique des Phlebotomini (Diptera, Psychodidae) dans deux foyers, Français et tunisien de leishmaniose viscérale- Essai d'interprétation épidémiologique. Thèse science Montpellier, 516p.
- CROSET H, ABONNEC E, RIOUX J-A. 1970. *Phlebotomus Paraphlebotomus chabaudi* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 45, 863-873
- CROSET H, RIOUX JA, LEGER 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.
- CROSET H, RIOUX J-A, MAISTRE M, BAYAR N. 1978. Les phlébotomes de Tunisie (Diptera, Phlebotomidae), Mise au point systématique, chronologique et éthologique. *Annales de Parasitologie humaine et comparée* (Paris), t. 53, № 6. 711-749.
- CRUZ I, NIETO J, MORENO J, CANAVATE C, DESJEUX P, ALVAR J. 2006. *Leishmania*/HIV co-infections in the second decade. *Indian J Med Res* 123:357-88.
- DANTAS-TORRES F, LORUSSO V, TESTINI G, PAIVA-CAVALCANTI M, FIGUEREDO L A, STANNECK D, MENCKE N, BRANDAO-FILHO S, ALVES L C, OTRANTO D. 2010. Detection of *Leishmania infantum* in Rhipicephalus sanguineus ticks from Brazil and Italy. *Parasitol Res* 106 : 857-860.
- DAGET P. 1977. Le bioclimat méditerranéen : analyse des formes climatiques par le système d'Emberger. *Vegetatio*, 34, 87-103.
- DANCESCO P, ROMAIN IJ, CHADLI A. 1969. Notes sur les phlébotomes de la Tunisie. V. Observation sur les écotypes rencontrés à Tunis. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 46 : 379-396
- DAVIS RJ. 2000. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell* , 103 , 239-252.
- DANCESCO P, DEDET J-P, BEN OSMAN F, CHADLI A. 1970. Les phlebotomes captures dans des foyers de leishmaniose canine à Tunis. Role probable de *Phlebotomus*

- perniciosus* et *Phlebotomus perfiliewi* dans la transmission. *Arch. Inst. Past.* Tunis, 47, 65-88.
- DEPAQUIT J & LEGER N. 2017. Chapitre 12. Les phlébotomes (Diptera : Psychodidae : Phlebotominae). In Duvallet, G, Fontenille D, & Robert V. (Eds.), *Entomologie médicale et vétérinaire*. IRD Éditions. doi :10.4000/books.irdeditions.22046.
- DEPAQUIT J, LEGER N & KILLICK-KENDRICK R. 1998. Description de *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) *riouxi* n. sp. (Diptera: Psychodidae) d'Afrique de Nord. *Parasite* 5: 151-158.
- DELANOË P. 1916. Existence de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) à Mazagan. *Bull. Soc. Path. Exot.* 9, 762.
- DEDET JP. 2009. Leishmanies, leishmanioses: biologie, Clinique et thérapeutique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-506-A-10.
- DEDET JP, ADDADI K, BELAZZOUG S. 1984. Les phlébotomes (Diptera, Psychodidae) d'Algérie. Cahiers ORSTOM. Série Entomologie Médicale et Parasitologie 22 (2), 99-127.
- DEREURE J, RIOUX JP, GALLEGRO 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.
- DELM, 2010. Direction d'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Lutte contre les Leishmanioses : Guide des Activités. Ministère de la Santé-Maroc.
- DE VRIES HJC, REEDIJK SH, SCHALLIG HDFH. 2015. Cutaneous leishmaniasis: recent developments in diagnosis and management. *Am J Clin Dermatol* 16:99-109.
- DEDET JP, ADDADI K. 1974. Description of the female *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) *chabaudi* Croset, Abonnenc and Rioux, 1970 (Diptera, Psychodidae). *Bull Soc Pathol Exot Filiales.* 67(3):308-15.
- DEDET JP, ADDADI K, TABET-DERRAZ O. (1972-1973). Epidemiology of leishmaniasis in Algeria. I. Capture of phlebotomes (Diptera, Psychodidae) in Biskra. Presence of *Sergentomyia christophersi* (Sinton, 1927) in Algeria. *Arch Inst Pasteur Alger.*;50-51:183-94.
- DEDET JP, ADDADI K, TABET-DERRAZ O. 1973b. Epidemiologie des leishmanioses en Algerie 1-Captures de Phlebotomes (Diptera: Psychodidae) a Biskra. Presence de *Sergentomyia christophersi* (Sinton, 1927) en Algerie. *Arch. Inst. Past. Alger*, 51, 183-194.
- DEPAQUIT J. 1997. Revision du sous genre *Paraphlebotomus* (*Phlebotomus* : Phlebotominae: Diptera). Approches morphologique et moleculaire. Th: Univ.: Reims, Pharm. N° 211.
- DESJEUX P. 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immun Microbiol Infect Dis.* 27:305-18.
- DIRECTION D'ÉPIDÉMIOLOGIE ET DE LUTTE CONTRE LES MALADIES. 2000. Programme de Lutte contre les Leishmanioses. 78-9.
- DESJEUX P. 1999. Les leishmanioses. Aspect de sante publique et lutte. Edition Ellipses, 253p.
- DEPAQUIT J, LEGER N, FERTE H, RIOUX JA, GANTIER JC, MICHAELIDES A, ECONOMIDES P. 2001. Les Phlebotomes (Diptera: Psychodidae) de l'Ile de Chypre. III- Inventaire faunistique. *Parasite*, 8: 11-20.
- DEDET JP, PRATLONG F. 2000. Taxonomie des Leishmanioses et distribution géographique des Leishmanioses. *Ann Dermatol Venereol*, 127: 421-4.
- DEDET JP. 1999. Les leishmanioses. *Edition Ellipses* : 253 p.

- DEDET JP. 2001. Leishmanies, leishmanioses. Biologie, clinique et thérapeutique. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés)*, Maladies infectieuses, 8-506-A-10 : 11 p.
- DEPAQUIT J, LEGER N & KILLICK-KENDRICK R. 1998. Description de *Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi* n. sp (Diptera-Psychodidae) d'Afrique du Nord. *Parasite*. 5, 151-158.
- DEPAQUIT J, H FERTE et N. LEGER. 2000. Révision du sous-genre *Paraphlebotomus* (Phlebotomus-Phlebotominae-Psychodidae-Diptera). Approches morphologique et moléculaire. *Ann. Pharm. Fr.* 58: 333-340.
- DESJEUX P, et ALVAR J. 2003. *Leishmania*/HIV co-infections: epidemiology in Europe. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 97(Supp. 1) pp: 3-15.
- DEDET JP, ADDADI K & BELAZZOUG S. 1984. Les phlébotomes (Diptera: Psychodidae) d'Algérie. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Paradol.*, XXI-I, 2, 99-127.
- DEDET JP, ADDADI K & BELAZZOUG S. 1984. Les phlébotomes (Diptera: Psychodidae) d'Algérie. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Paradol.*, XXI-I, 2, 99-127.
- DEREURE J, RIOUX JP, GALLEGO M, PERIERES J, PRATLONG F, MAHJOUR J *et al.* 1991. *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85: 595p.
- DEDET JP, ADDADI K & BELAZZOUG S. 1984. Les phlébotomes (Diptera : Psychodidae) d'Algérie. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. Méd. Et Parasitol.*, vol. XXII, n° 2, 99-127.
- DEREURE J, PRATLONG F, LANOTTE G, RIOUX J-A (1986). La leishmaniose viscérale autochtone au Maroc méridional. In: *Leishmania. Taxonomie et phyllogénèse. Application éco-épidémiologiques.* Coll. Int CNRS/Inserm. 37-225.
- DEPAQUIT J, LIENARD E, VERZEAUX-GRIFFON A, FERTÉ H, BOUNAMOUS A, GANTIER JC *et al.* Molecular homogeneity in diverse geographical populations of *Phlebotomus papatasi* (Diptera, Psychodidae) inferred from ND4 and mtDNA and ITS2 rDNA: epidemiological consequences. *Infect Genet Evol* 2008; 8: 159-170.
- DEDET JP, ADDADI K & BELAZZOUG S. 1984. Les phlébotomes (Diptera: Psychodidae) d'Algérie. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Paradol.*, XXI-I, 2, 99-127.
- DEPAQUIT J, MULLER F, GANTIER JC, LEGER N, FERTE H, READY P & NIANG AA. 2005. Phlebotomine sand flies from Ouagadougou, Burkina Faso: first record of *Phlebotomus (Larroussius) longicuspis* south of the Sahara. *Med. Vet. Entomol.* 19, 322-325.
- DEPAQUIT J, LEGER N & KILLICK-KENDRICK R. 1998. Description de *Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi* n. sp (Diptera-Psychodidae) d'Afrique du Nord. *Parasite*. 5, 151-158.
- DEPAQUIT J, LEGER N, ROBERT V. 2008. Les phlébotomes de Madagascar (Diptera: Psychodidae). VI-Un sous-genre nouveau (*Vattieromyia*) avec trois espèces nouvelles: *Sergentomyia (V.) sclerosiphon*, *S. (V.) namo* et *S. (V.) anka*. *Parasite*, 15 : 15-26.
- DELANOË P. 1916. Existence de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) à Mazagan. *Bull. Soc. Path. Exot.* 9, 762.
- DEDET J P. 2001. Répartition géographique des leishmanioses. *Méd Mal Infect*; 31 Suppl2: 178-183.
- DEREURE J, PRATLONG F, LANOTTE G, RIOUX J-A. 1986. La leishmaniose viscérale autochtone au Maroc méridional. In: *Leishmania. Taxonomie et phyllogénèse. Application éco-épidémiologiques.* Coll. Int CNRS/Inserm:37;225.
- DEDET JP. ADDADI K & LANNUZEI B. 1977. Epidémiologie des leishmanioses en Algérie. La leishmaniose viscérale dans le foyer de Grande Kabylie. *Bull. Soc. Path. Exot.* 70, 250-265.

- DEPAQUIT J, LEGER N, FERTE H. 1999. Systematique moleculaire des Phlebotominae (Diptera: Psychodidae): corollaires biogeographiques. *Ann.Soc.Ent. Fr* (n.s), 35: 27-32.
- DIETLEIN DR. 1964. Leishmaniasis in the Sudan Republic. 16. Seasonal incidence of *Phlebotomus* spp. (Diptera: Psychodidae) in an Upper Nile province town and village. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 57: 243-246.
- DJERBOUH A, TOUDJINE M, DJOUDI M, BENIKHLEF R & HARRAT Z. 2005. La leishmaniose canine en Algérie : essai de traitement par l'allopurinol. *Ann Méd Vét*, 149: 132-134.
- DOLMATOVA AV, DEMINA NA. 1971. Les Phlebotomes (Phlebotominae) et les maladies qu'ils transmettent. *Cah. ORSTOM Documentation tech.* No. 55, p. 289.
- DUVALLET G. 2015. Changement climatique et écologie vectorielle. *Bulletin Académique Vétérinaire France.* Tome 168, n°2.
- ECHCHAKERY M, BOUSSAA S, KAHIME K, BOUMEZZOUGH A. 2015. Epidemiological role of a rodent in Morocco: Case of cutaneous leishmaniasis. *Asian Pacific J Trop Dis* 5:589-594.
- 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. *Parasit Vectors* 10:454.
- ELNAIM DA, ABOUD MA, EL MUBAREK SG.1999. Impact of pyrethroid-impregnated curtains on *phlebotomus papatasi* sand-flies indoors at Khatoun, Sudan. *Med Vet Entomol* 13(2):191-7.
- EL ALAMI S, AOUI S. 2015. [88 years of cutaneous leishmaniasis in Morocco]. *Med Sante Trop* 25:97-101.
- EL MIRI H, FARAJ C, HIMMI O, *et al.* 2016. Cutaneous leishmaniasis in Ouazzane and Sidi Kacem provinces, Morocco (1997-2012). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* doi:10.1007/s13149-016-0522-1.
- EL MIRI H, RHAJAOUI M, HIMMI O, OUAHABI S, BENHOUSA 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 (N.S.) : International Journal of Entomology* 49, p. 154-159.
- EL-MOUHDI K, CHAHLAOUI A, EL OUALI LALAMI A, BOUZID J, EL OMARI H, MOHAMED F. 2019. Situation Épidémiologique des Leishmanioses au Niveau de la Ville d'El Hajeb (Centre du Maroc) Durant la Période de 2013 à 2017. *European Scientific Journal ESJ.* 15. 10.19044/esj.2019.v15n3p155.
- EL SAWAF BM, SHOUKRY A, EL SAID S, LANE RP, KENAWY MA, BEIER JC, ABDEL SATTAR S. 1987. Sand fly species composition along an altitudinal transect in Southern Sinai: egypt. *Ann. Trop. Med. Parasitol. Hum. Comp.* 62, 467-473.
- ES-SETTE N, AJAOU 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. *Parasit Vectors* 7:305.
- ESSEGHIR S, READY PD, KILLICK-KENDRICK R, BEN-ISMAIL R. 1997. Mitochondrial haplotypes and geographical variance of *Phlebotomus* vectors of *Leishmania major*.
- ET-TOUYS A, FELLAH H, SEBTI F, MNIIOUIL M. 2016. In vitro antileishmanial activity of extracts from endemic Moroccan Medicinal Plant *Salvia verbenaca* (L.) Briq. ssp *verbenaca* Maire (S. clandestina Batt. non L). *European J. Med. Plants.*
- EUZEBY J. 1986. Protozoologie humaine et comparée. Tome 2, 212-296.

- FARAJ C, ADLAOUI E, OUAHABI S, EL KOHLI M, EL RHAZI M, LAKRAA L, AMEUR B. 2013. Distribution and bionomic of sand flies in five ecologically different cutaneous leishmaniasis foci in Morocco. ISRN Epidemiology, <http://dx.doi.org/10.5402/145031>.
- FARAJ C, HIMMI O. 2019. Liste actualisée des Phlebotominae (Diptera : Psychodidae) du Maroc. Bulletin de la société de pathologie exotique. DOI 10.3166/bspe-2020-0107.
- FARAJ C, HIMMI O. 2020. Clés morphologiques pour l'identification des phlébotomes du Maroc (Diptera : Psychodidae : Phlebotominae). Bulletin de la société de pathologie exotique. 113. 155-174. 10.3166/bspe-0137.
- FATHY FM, EL KASAH F, EL-AHWAL AM. 2009. Emerging cutaneous leishmaniasis in Sirte-Libya: epidemiology, recognition and management. J Egypt Soc Parasitol; 39:881-905.
- FATIMA ZAHRA TALBI, ABDELHAKIM EL OUALI LALAMI, ABDELLATIF JANATI IDRISSE, FAIZA SEBTI, CHAFIKA FARAJ. 2015. Leishmaniasis in Central Morocco: Seasonal Fluctuations of Phlebotomine Sand Fly in Aichoun Locality, from Séfrou Province. *Pathology Research International* 1-4.
- FAZAELI A, FOULADI B, SHARIFI I. 2009. Emergence of cutaneous leishmaniasis in a border area at south-east of iran: an epidemiological survey. J. Vector. Borne. Dis. 46, 36-42.
- FELLAH H, RHAJAOU M, OUAHABI S, BELGHITI D. LYAGOUBI M. 2007. Occurrence of Human Cutaneous Leishmaniasis in Zouagha My Yacoub Province (Morocco). Int. J. Agri. Biol. 1, 197-198.
- FERREIRA A P GM, FATTORI R K, SOUZA F, MARC V, LIMA F. 2009. Potential role for dog fleas in the cycle of Leishmania spp. Veterinary Parasitology 165 150-154.
- FOLEY H, VIALATTE C, ADDE R. 1914. Existence dans le sud marocain (Haut Guir) du bouton d'orient à l'état endémique. Bull. Soc. Path. Exot. 7, 114-115.
- FREITAS E, MELO M N, COSTA-VAL A P, MICHALICK MSM. 2006. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: Potential for infection and importance of clinical factors. Veterinary Parasitology 137 159-167.
- FRANÇA C. 1918. Note sur les especes portugaises du genre *Phlebotomus*. Bull. Soc. Path. Exot. 11, 730-733.
- FRAYAUFF D, HANNAFI H. 1995. Demonstration of hybridation between *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) and *Phlebotomus bergeroti* Parrot. *Parasitologia* 33 (Suppl.1) 237-243.
- GARCIA, SEGUI PUNTAS M. 1991. Estudi epidemiologic de la *leishmania* a l'illa de Menorca. Rev. Cien. (IEB), 9, 91-101.
- GAUD J. 1954. Phlébotomes du Maroc. Bull. Instit. Hyg. Maroc. 14 pp: 91-107.
- GAUD J. 1947. Phlébotomes du Maroc. Bull. Soc. Nat. Maroc. 27 pp: 207-212.
- GHAVY A. 2019. Influence de l'environnement sur le cycle de transmission de la leishmaniose cutanée en Guyane, à multi-échelle spatiale. Ecole doctorale n° 587 : Diversité, santé et développement en Amazonie. Université de Guyane.
- GBIF-Global Biodiversity Information Facility. 2019. <https://www.gbif.org/fr/species/search> consulté le 14 juillet 2019.
- GEBRE-MICHAEL T, BALKEW M, ALI A, LUDOVISI A, GRAMICCIA M. 2004. The isolation of *Leishmania tropica* and *L. aethiopia* from *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) species (Diptera: Psychodidae) in the Awash Valley, northeastern Ethiopia. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg*, 98, 64-70.
- GEEVARGHESE G, ARANKALLE VA, JADI R, KANOJIA PC, JOSHI MV, MISHRA AC. 2005. Detection of Chandipura virus from sand flies in the genus *Sergentomyia*

- (Diptera: Phlebotomidae) at Karimnagar District, Andhra Pradesh, India. *J. Med. Ent.* 42, 495-496.
- GENTILINI M. 2012. Médecine tropicale - 6e édition Book.
- GHRAB J, RHIM A, BACH-HAMBA D, CHAHEB MK, AOUN K, NOUIRA S & BOURATBINE A. 2006. Phlebotominae (Diptera, Phlebotomidae) of human leishmaniosis sites in Tunisia. *Parasite*. 13, 23-33.
- GRAMICCIA M & GRADONI L. 2005. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *Int. J. Parasitol.* 35, 1169-1180.
- GRAMICCIA M, GRADONI L & TROIANI M. 1992. HIV : *Leishmania* coinfection in Italy : isoenzym characterization of *leishmania* causing visceral leishmaniasis in HIV patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 86: 161-136.
- GREENBLATT CL. 1980. The present and future of vaccination for cutaneous leishmaniasis. *Progress in Clinical and Biological Research* , 47, 259-285.
- 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.
- GUERNAOUI S. 2000. Contribution à l'étude des phlébotomes vecteurs potentiels des leishmanioses dans la région de Marrakech. Mémoire de DESA, Université Cadi Ayyad, Marrakech. 40p.
- GUERNAOUI S, PESSON B, BOUMEZZOUGH A & PICHON G. 2005. Distribution of phlebotomine sandflies, of the subgenus *Larrousius*, in Morocco. *Medical and Veterinary Entomology* 19, p. 111-115.
- GUERNAOUI S, BOUMEZZOUGH A, PESSON B & PICHON G. 2005b. Entomological investigations in Chichaoua: an emerging epidemic focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of Medical Entomology* 42, p. 697-701.
- GUERNAOUI S, BOUSSAA S, PESSON B & BOUMEZZOUGH A. 2006. Nocturnal activity of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in Chichaoua, Morocco. *Parasitol. Res.* 98: 184-188.
- GUERNAOUI S, BOUMEZZOUGH A & LAAMRANI A. 2006b. Altitudinal structuring of sand flies (Diptera: Psychodidae) in the High-Atlas mountains (Morocco) and its relation to risk of leishmaniasis transmission. *Acta Tropica* 97, p. 346-351.
- 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.
- GUESSOUS-IDRISSI N. 1999. La leishmaniose cutanée à Taza. Recherche Nationale, les Cahiers du Médecin 19:37-40.
- GUERIN P, OLLIARO P, SUNDAR S, BOELEART M, CROFT S, DESJEUX P, WASUNNA M. & BRYCESON A. 2002. Visceral leishmaniasis: Current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *The Lancet Infectious Diseases*, 2(8): 494-501.
- GUILVARD E, RIOUX JP, GALLEGRO 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. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 66, 96-99.
- GUAN L R, XU YX, 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.
- HADDAD N. 1998. Les Phlébotomes du Liban. Inventaire et corollaire eco-epidemiologique. Thèse. Univ. Reims. N° 208-220p.

- HAILU A. 2002. The use of direct agglutination test (DAT) in serological diagnosis of Ethiopian cutaneous leishmaniasis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 42:251-256.
- HAKKOUR M, SEBTI F, EL MANSOURI B. 2016. Diagnostic microscopique de la leishmaniose cutanée et viscérale au Maroc: contrôle/confirmation et validation par PCR entre 2002 et 2014. Afrique.
- HALBIG P, MAZLOUMI-GAVGANI S, HODJATI MH, MOHITE H & DAVIES CR. 2000. Further evidence that deltamethrin-impregnated collars protect domestic dogs from sandfly bites. *Medical and Veterinary Entomology*, 14:223-226.
- HALL LR and TITUS RG. 1995. Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of *Leishmania major* and nitric oxide production. *Journal of Immunology*, 155, 3501-3506.
- HAMROUNI S. 2019. Peptides multi-épitopiques d'intérêt vaccinal appliqués aux leishmanioses humaines. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier; Université de Carthage (Tunisie). Français. ffnnt : 2019MONTT045ff. ffitel-02479499f.
- HANAFI A, HANAFI, DAVID J, FRYAUFF, GOVIND B, MODI, MOUSTAFA O, IBRAHIM, ANDREW J, MAIN. 2007. Bionomics of phlebotomine sandflies at a peacekeeping duty site in the north of Sinai, Egypt. *Acta Tropica*, Volume 101(2), 106-114.
- HANAFI H, FRYAUFF DJ, GOVIND BM, IBRAHIM MO, MAIN AJ. 2007. Bionomics of phlebotomine sandflies at a peacekeeping duty site in the north of Sinai, Egypt. *Acta Tropica* 101, 106-114.
- HANDMAN E, HOCKING RE, MITCHELL GF and SPITHILL TW. 1983. Isolation and characterization of infective and non-infective clones of *Leishmania tropica*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 7, 111-126.
- HANDMAN E. 2001. Leishmaniasis: Current status of vaccine development. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 14, 229 - +.
- HAOUAS N, CHARGUI N, CHAKER E, BEN SAID M, BABBA H, BELHADI S *et al.* Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Tunisia: presence of *Leishmania killicki* outside its original focus of Tataouine. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005;99: 499-501.
- HARRAT Z, IZEROUEL S, BELKAID M, Tabet-DERRRAZ O. 1993. Fluctuations saisonnières des phlébotomes de la région d'Alger et sa banlieue. *Arch. Inst. Past.Alger*, 59,245-255.
- HARRAT Z *et al.* 2006. Première description de *Leishmania killicki* en Algérie. Communication aux Premières Journées Algéro-Françaises de Parasitologie-Mycologie, Alger, 15-16 novembre.
- HARRAT Z & BELKAID M. 2003. Leishmaniasis in Algiers: epidemiologic data. *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 96, p. 212-214.
- HARRAT Z, BOUBIDI SC, PRATLONG F, BENIKHLEF R, SELT B, DEDET JP, RAVEL C, BELKAID M. 2009. Description of *Leishmania* close to *L. killicki* (Rioux, Lanotte & Pratlong, 1986) in Algérie; *Trans. R Soc Trop Med and Hug*, 103: 716-720.
- HARRAT Z, PRATLONG F, BELAZZOUG S, DEREURE J, DENIAU M, RIOUX JA *et al.* *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria 1996; 90:625-9.
- HARRAT Z, BOUBIDI S, PRATLONG F, BENIKHLEF R, DEDET JP, BELKAID M. 2008. Description of a dermatropic *Leishmania* close to *Leishmania killicki* Rioux, Lanotte & Pratlong, 1986 in Algeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* ;103:716-20.

- HASHIGUCHI Y, GOMEZ E. L, KATO H, MARTINI L. R, VELEZ L. N, and UEZATO H. 2016. "Diffuse and disseminated cutaneous leishmaniasis: clinical cases experienced in Ecuador and a brief review." *Trop Med Health* 44: 2.
- HAUT-COMMISSARIAT AU PLAN (HCP). 2014. Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH).
- HEISCH R, GUGGISBERG C, TEESDALE C. 1956. Studies In leishmaniasis in East Africa. II. The sandflies of Kitui Kala-Azar area in Kenya with description of six new species. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine And Hygiene* 50, 209-226.
- HELAL H, BEN-ISMAIL R, BACH-HAMDA D *et al.* 1987. Enquête entomologique dans le foyer de leishmaniose cutanée zoonotique (*Leishmania major*) de Sidi Bouzid (Tunisie) en 1985. *Bull. Soc. Path. Exot.* 80, 349-356.
- HERWALDT BL, ARANA BA, NAVIN TR. 1992. The natural history of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. *J Infect. Dis.*;165:518-27.
- HERAS-MOSTEIRO J, MONGE-MAILLO B, PINART M, LOPEZ PEREIRA P, GARCIA-CARRASCO E, CAMPUZANO CUADRADO P, ROYUELA A, MENDEZ ROMAN I, LÓPEZ-VÉLEZ R. 2017. Interventions for Old World cutaneous leishmaniasis. *Cochrane Database Syst Rev.* doi: 10.1002/14651858.CD005067.pub
- HMAMOUCHE A, AMARIR F, FELLAH H, KARZAZ M, BEKHTI K, RHAJAOUI M, SEBTI F. 2014. Coexistence of *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum* in Séfrou province, Morocco. *Acta Tropica*, 130, 94-99.
- HOFSTRAAT K, VAN BRAKEL WH. 2016. Social stigma towards neglected tropical diseases: a systematic review. *Int Health.* 8:i53-70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26940310>.
- HOMSI YMG. 2009. Leishmaniasis: a forgotten disease among neglected people. *Internet J Heal.* 11. Available from: <http://ispub.com/IJH/11/2/9151>.
- HOOGSTRAAL H, DIETLEIN DR, HEYNEMAN D. 1962. Leishmaniasis in the Sudan Republic. 4. Preliminary observations on man-biting sandflies (Psychodidae: *Phlebotomus*) in certain Upper Nile endemic Nile endemic areas. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 56:411-422.
- HO M, SIONGOK TK, LYERLY WH, SMITH DH. 1982. Prevalence and disease spectrum in a new focus of visceral leishmaniasis in Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg*;76:741-6.
- RAYAMA M, and NISHIMURA Y. 2016. "The present status and future prospects of peptide based cancer vaccines." *Int Immunol* 28(7): 319-328.
- IZRI MA, BELAZZOUG S, BOUDJEBLA Y, DEREURE J, PRATLONG F, DELALBRE-BELMONTE A, RIOUX JA. 1990. *Leishmania infantum* MON-1 isolé de *Phlebotomus perniciosus* en Kabylie (Algérie). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 65, 151-152.
- IZRI MA, MARTY P, RAHAL A, LELIEVRE A, OZON C, BALDELLI G, PRESIOZO J, HAAS P. & LE FICHOUX Y. 1992. *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 naturellement infesté par des promastigotes dans la région de Nice (France). *Bull. Soc. Path. Ex.* 85, 385-387.
- IZRI MA, BELAZZOUG S, PRATLONG F. & RIOUX JA. 1992. Isolement de *L. major* chez *Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786b) à Biskra (Algérie). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 67, p. 31-32.
- IZRI A, MARTY P, RAHAL A, *et al.* 1992. *Phlebotomus perniciosus* naturellement infesté par des promastigotes à Nice (France). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 85:385-7.
- IZRI MA, ROBINO M, PEPTITHORY JC, ROUSSET JJ. 1993. Leishmaniose viscérale diagnostic parasitologique par leuco concentration. *La Presse Médicale* 12 juin 93, 22, n°21, p1010.

- IZRI M-A, BELAZZOUG S. 1993. *Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi* naturally infected with dermatropic *Leishmania infantum* at Tenes. Algeria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 87, 399.
- IZRI MA, MARTY P, FAURAN P, LE FICHOUX Y, ROUSSET J, 1994. *Phlebotomus perfiliewi* Parrot, 1930 (Diptera: Psychodidae) dans le Sud-Est de la France. *Parasite* 1: 286.
- IZRI MA, MARTY P, FAURAN P, LE FICHOUX Y. & ROUSSET JJ. 1996. Presumed vectors of leishmaniasis in the Principality of Monaco. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene*, 90:114
- IZRI A, BELAZZOUG S, BENHABYLES N *et al* 1998. Le clou de Biskra (Algérie). Résultats d'une étude écoentomologique. *Bull Soc Fr Parasitol* ; 16:61-79.
- IZRI A, TEMMAM S, MOUREAU G, HAMRIOUI B, XAVIER DE LAMBALLERIE, CHARREL R N, 2008. Sandfly Fever Sicilian Virus, Algeria *Emerg. Infect. Dis.* 14 (5): 795-797.
- J**ANINI R, SALIBA E, KAMHAWI S. 1995. Species composition of sand flies and population dynamics of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the southern Jordan Valley, an endemic focus of cutaneous leishmaniasis. *J. Med. Entomol.* 32, 822–826.
- JANVIER F, MORILLON M, OLLIARO P. 2008. Leishmaniose viscérale : efficacité clinique et résistances aux différentes molécules. *Med. Trop.* 68, 89-101.
- JAVADIAN E, MESGHALI A, 1974. Studies on cutaneous leishmaniasis in Khuzestan, Iran. In: *Ecologie des leishmanioses. Coll. Int. CNRS Paris : CNRS*, 239, 203, 205.
- JAVADIAN E, MESGHALI A, NADIM A. 1977. Natural leishmanian infection of sandflies, with its occurrence In *P. Alexandri* in Khuzestan province, Iran. *Bull. Soc. Path. Exot.* 67, 513-516.
- JEBBOURI Y. 2013. Profile epidémio-clinique, thérapeutique et évolutif de la leishmaniose cutanée (A propos de 52 cas) Expérience du service de Dermatologie de l'hôpital militaire Moulay Ismail-Meknès. Thèse de Médecines University Sidi Mohammed ben Abdellah. Faculty de Médecines et de Pharmacie Fes.
- JONES J, BOWLING J, WATSON J, VEGA-LOPEZ F, WHITE J. and HIGGINS E. 2005. Old world cutaneous leishmaniasis infection in children: a case series. *Archives of Disease in Childhood*, 90, 530-531.
- K**AHIME K, SAMIA BOUSSAA, ABDERRAHMANE LAAMRANI-EL IDRISSE, HADDOU NHAMMI, ALI BOUMEZZOUGH BOUMEZZOUGH A. 2012. Epidemiological study on acute cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of Acute Disease* 5(1):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 (2): 342-354.
- KAMHAWI S, BELKAID Y, MODI G, ROWTON E. & SACKS D. 2000b. Protection against cutaneous Leishmaniasis resulting from bites of uninfected sand flies. *Science*. 290:13, 51-54.
- KAMHAWI S, MODI GB, PIMENTA PFP, ROWTON E. & SACKS DL. 2000a. The vectorial competence of *Phlebotomus sergenti* is specific for *Leishmania tropica* and is controlled by species-specific, lipophosphoglycan mediated midgut attachment. *Parasitology*. 121, 25-33.
- KATZ O, WAITUMBI JN, ZER R. & WARBURG A. 2000. Adenosine, AMP, and protein phosphatase activity in sandfly saliva. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* , 62, 145-150.

- KEILIN D. & TATE P. 1937- A comparative account of the larvae of *Trichomyia urbica* Curtiz, *Psychodes albipennis* Zett. and *Phlebotomus argentipes* Ann. et Brun. (Diptera, Psychodidae). *Parasitol.* 29, 347-358.
- KHALIL EA, ZIJLSTRA EE, KAGER PA, EL HASSAN AM. 2002. Epidemiology and clinical manifestations of *Leishmania donovani* infection in two villages in an endemic area in eastern Sudan. *TropMedIntHealth* 7: 35-44.
- KHAN KH. 2013. "DNA vaccines: roles against diseases." *Germs* 3(1): 26-35.
- KILLICK-KENDRICK R, RIOUX JA, BAILLY M, GUY MW, WILKES TJ, GUY FM, DAVIDSON I, KNECHTLI R, WARD RD, GUILVARD E, PERIERES J. & DUBOIS H. 1984. Ecology of leishmaniasis in the south of France. 20. Dispersal of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 as a factor in the spread of visceral leishmaniasis in the Cévennes. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 59, 555-572.
- KILLICK-KENDRICK R, LEANEY A, L PETERS, W RIOUX, JA, BRAY RS, 1985. Zoonotic cutaneous leishmaniasis in Saudi Arabia: The incrimination of *Phlebotomus papatasi* as the vector in the Al-Hassa oasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 79: 252-5.
- KILLICK-KENDRICK R. 1990. Phlebotomine vectors of leishmaniasis: a review. *Med. Vet. Entomol.* 4 pp: 1-24.
- KILLICK-KENDRICK R, KILLICK-KENDRICK M, TANG Y. 1995. Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Kaboul, Afganistan: the high susceptibility of *Phlebotomus sergenti* to *Leishmania tropica*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 89: 477p.
- KILLICK-KENDRICK R, KILLIK-KENDRICK M, FOCHEUX C, DEREURE J, PUECH MP, CADIERGUES MC. 1997. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltemethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med. Vet. Entomol.* 15, 358-363.
- KIRK R, LEWIS DJ. 1947. Studies in leishmaniasis in the anglo- Egyptian Sudan; IX. Further observations on the sandflies (*Phlebotomus*) of the Sudan. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 6, 869-888.
- KIRK R. & LEWIS DJ., 1954. Notes on the phlebotominae of the anglo-egyptian Sudan. *Ann. Trp. Med. Parasitol.* 48, 33-45.
- KRAVCHENKO V, WASSERBERG G, WARBURG A. 2004. Bionomics of phlebotomine sand flies in the Galilee focus of cutaneous leishmaniasis in northern Israel. *Med. Vet. Entomol.* 18, 418-428.
- KUBAR J, QUARANTA JF, MARTY P, LE FICHOUX Y, AUFEUVRE JP. 1997. Transmission of *Leishmania infantum* by blood donors. *Nat Med*; 3: 368.
- LAAMRANI-IDRISSI M. 2000. Programme de lutte contre les leishmanioses. Séminaire national sur la surveillance et la lutte contre les rongeurs. Marrakech, 07 et 08 juin.
- 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. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 7:1028-1036.
- LAKHDAR IDRISSI M, EL OUARDI M, ATMANI S, ELARQAM L, BOUHARROU A, HIDA M. 2007. La leishmaniose viscérale infantile : à propos de 209 cas. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 3, 136-141.
- LAKHOUIRATE M. 2019. Le profil épidémiologique de la leishmaniose cutanée dans la région Ouarzazate entre 2010 et 2018. Université Cadi Ayyad, Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech : 109pp.

- LAMBERT M, RIOUX JA, MAHJOUR J. & SADDIK A. 1994. Nouvelles stations de *Phlebotomus mariae* Rioux, Croset, Léger & Bailly Choumara, 1974 au Maroc. *Parasite*. 1: 93p.
- LANE RP. 1986. The sandflies of Egypt (Diptera: Psychodidae). *Bull. Brit. Museum (natural history). Entomol. Series.*, 52 (1) pp: 1-35.
- LANE RP. 1993. Sand flies. In: medical insects and arachnids (ed. by R. P. Lane & R. W. Crosskey). *Chapman and Hall, London*, pp : 78-119.
- LAY JC. 2004. Leishmaniasis among U.S. Armed Forces, January 2003. November 2004. *Medical Surveillance Monthly Report, U.S. Army Center for Health Promotion and Preventive Medicine*, vol 10, pp. 2-5.
- LE FICHOUX Y., MARTY P. & KUBAR J. (1999). Diagnostic des leishmanioses. In : Dedet J.P. Ed. Les leishmanioses. Paris : Ellipses ; 190-203.
- LE PONT F, ROBERT V, VATTIER-BERNARD G, RISPAIL P, JARRY D. 1993. notes sur les phlebotomes de l'Air (Niger). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 86, 286-289.
- LEGER N, RIOUX JA, 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. *Ann. Parasit.* t49, n° 5 pp: 577- 591.
- LEGER 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. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 58 pp: 611-623.
- LEGER N. & PESSON B. 1987. Taxonomy and geographic distribution of *Phlebotomus (Adlerius) chinensis s. l.* and *P. (Larroussius) major s. l.* (Psychodidae-Diptera). Status of species present in Greece. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 80(2), 252-60.
- LEGER N. & DEPAQUIT J. 1999. Les Phlébotomes. In *Dedet J-P., Les Leishmanioses, Ellipses Ed.*, Paris, 89-108.
- LEMIRANI M, HAMDY S, LAAMRANI A, HASSAR M 2009. PCR detection of *Leishmania* in skin biopsies. *J Infect Dev Ctries* 3:115-22.
- LENG YJ. 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*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 81. 311-317.
- LEVINE ND, CORLISS JO, COX FFG, DEROUX G, GRAIN J, HONIGBERG BM, LEEDALE GF, LOEBLICH AR, LOM J, LYNN D, MERINFELD EG, PAGE FC, POLJANSKY G, SPRAGUE V, VAVRA J. & WALLACE FG. 1980. A newly revised classification of the Protozoa. *J. Protozool.* 27. 37-58.
- LEWIS DJ, YOUNG DG, FAIRCHILD GB & MINTER DM. 1977. Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Syst. Ent.* 2, 319-332.
- LEWIS DJ. 1982. A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). *Bull. British Museum of Natural History (Entomology Series)*. 45, 121-209.
- LIMA HC & TITUS RG. 1996. Effects of sand fly vector saliva on development of cutaneous lesions and the immune response to *Leishmania braziliensis* in BALB/c mice. *Infect. Immun.* 64, 5442-45.
- LOUZIR H, AOUN K, SPÄTH G, LAOUINI D, PRINA E, VICTOIR K, BOURATBINE A. 2013. *Leishmania* epidemiology, diagnosis, chemotherapy and vaccination approaches in the international network of Pasteur Institutes, 29(12):1151-60.
- MAAZOUN R, PRATLONG F, LANOTTE G, & RIOUX JA 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*

- écoépidémiologiques. J.A. Rioux éd. (Coll. Int. CNRS/INSERM, 1984). IMEEE, Montpellier. 129-137.
- MADULO-LEBLOND. 1983. Les Phlebotomes (Diptera: Phlebotomidae) des Iles Ioniennes. Th. Doc. ES-Sc. Pharm. Univ. Reims. Fac. Pharm, 218P.
- MARC GENTILINI, ERIC GAUMES, MARTIN DANIS, DOMINIQUE RICHARD-LENOBLE, PIERRE BEGUE, JEAN-ETIENNE TOUSE, DOMINIQUE KEROUEDAN 2012. Médecine tropicale 6<sup>ème</sup> édition, Medecine Sciences Publications, Lavoisier Paris.
- MARCHAIS R., 1992. Speciation et vicariance chez les *Larroussius* du groupe *perniciosus* (Diptera, Psychodidae). Th. Sci. Pharm. Reims, 202p.
- MARLEEN BOELAERT, SUJIT BHATTACHARYA, FRANÇOIS CHAPPUIS, SAYDA H. EL SAFI, ASRAT HAILU, DINESH MONDAL, SUMAN RIJAL, SHYAM SUNDAR, MONIQUE WASUNNA AND ROSANNA W. PEELING. 2007. Evaluation of rapid diagnostic tests: visceral leishmaniasis. *Nature Reviews Microbiology*, 30-39, doi:10.1038/nrmicro1766.
- MAROLI M, BETTINI S. 1977. Leishmaniasis in Tuscany (Italy). I. An investigation on phlebotomine sandflies in Grosseto province. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 71, 315-321.
- MAROLI M, MIZZONI V, SIRAGUSA C, D'ORAZI A. & GRADONI L. 2001. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog-collars in southern Italy. *Medical and Veterinary Entomology*, 15, 358-363.
- MAROLI M, FELICIANGELI D, BICHAUD L, CHARREL R, GRADONI L. 2012. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical Vet Entomol J.* 27: 123-47.
- MARQUEZ F, RIOUX JA, SVOBODOVA M, VOLF P. 2002a. ITS 2 Sequences heterogeneity in *Phlebotomus sergenti* & *Phlebotomus Similis* (Diptera, Psychodidae): possible 170 consequences in their ability to transmit *Leishmania tropica*. *International Journal For Parasitology* 32, 1123-1131.
- MARTHY 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.
- MARTIN-SANCHEZ J, GRAMICCIA M, PESSON B, MORILLAS MARQUEZ F. 2000. Genetic polymorphism in sympatric species of the genus *Phlebotomus* with special reference to *Phlebotomus perniciosus* and *Phlebotomus longicuspis* (Diptera: Phlebotomidae). *Parasite* 7, 247-254.
- 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.* doi: 10.1016/0035-9203(89)90268-X.
- MARTY P, LE FICHOUX Y, GIORDANA D, BRUGNETTI A. 1992. Leishmanin reaction in the human population of a highly endemic focus of canine leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 86:249-50.
- MBOW ML, BLEYENBERG JA, HALL LR, TITUS RG. 1998. *Phlebotomus papatasi* sand fly salivary gland lysate down-regulates a Th1, but up-regulates a Th2, response in mice infected with *Leishmania major*. *J. Immunol.* 161, 571-77.
- MEIRA MT, FERREIRA TG. 1944. Espece de phlebotomes de Lisbonne et ses environs. *Anais. Do Instituto de Medecina Tropical.* 1, 269-288.
- MENDES CS, COELHO AB, FERES JG, SOUZA EC, CUNHA DA. 2016. The impact of climate change on leishmaniasis in Brazil. *Ciência & Saúde Coletiva.* 21(1).

- MENDONCA SCF, RUSSELL DG. & COUTINHO SG. 1991. Analysis of the human T cell responsiveness to purified antigens of *Leishmania* : lipophosphoglycan (LPG) and glycoprotein 63 (GP63). *Clinical and Experimental Immunology* , 83 , 472-478.
- MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (MS) 2001. Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Rabat, Maroc.
- MINISTERE DE LA SANTE (MS) 2010. Lutte contre les leishmanioses, Guide des activités. Rabat, 143 p.
- MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (MS) 2011. Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Rabat, Maroc.
- MODABBER F. 1995. vaccines against leishmaniasis. *annals in tropical and medical Parasitology*, 89, 83-88.
- MOHEBALI M, HAJJARAN H, HAMZAVI Y, MOBEDI I, ARSHI S, ZAREI Z, AKHOUNDI B, MANOUCHEHRI K, AVIZEH R, FAKHAR M. 2005. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Veterinary Parasitology*, 129, 243-251.
- MOIN-VAZIRI V, DEPAQUIT J, YAGHOABI-ERSHADI MR, OSHAGHI MA, FERTÉ H, DERAKHSHANDEF-PEYKAR P, KALTENBACH M, BARGUES, 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.
- MOIN-VAZIRI V, DEPAQUIT J, YAGHOABI-ERSHADI MR, OSHAGHI MA, DERAKHSHANDEH-PEYKAR P, FERTE H, KALTENBACH M, BARGUES MD, NADIM A, JAVADIAN E, RASSI Y, & JAFARI R. 2007. Geographical variation in populations of *Phlebotomus (Paraphlebotomus) caucasicus* (Diptera: Psychodidae) in Iran. *Bulletin de la société de Pathologie Exotique* 4: 291-295.
- MONTENEGRO J. 1926. Acutis reação na leishmaniose. *Ann Fac Med Sao Paulo* 1:323-30.
- MOREIRA R da CR, REBÊLO JMM, GAMA MEA, COSTA JML. 2002. Nível de conhecimentos sobre Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e uso de terapias alternativas por populações de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. *Cad Saude Publica* 18:187-195.
- MOREIRA OC, YADON ZE, CUPOLILLO E. 2017. The applicability of real-time PCR in the diagnostic of cutaneous leishmaniasis and parasite quantification for clinical management: Current status and perspectives. *Acta Trop.* doi:10.1016/j.actatropica.2017.09.020.
- MORILLAS MARQUEZ F, UBEDA-ONTIVEROS JM, GUEVARA-BENITEZ DC, GONZALEZ-CASTRO J. 1982. Confirmation de la presencia en Espana de *Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi* Croset, Abonnenc y Rioux, 1970(Diptera, Phlebotomidea). *Rev.Iber. Parasitol.* 2, 345-346.
- MORILLAS MARQUEZ F, SANCHIS MARIN MC, MARTIN SANCHEZ J, ACEDOSANCHEZ C. 1991. On *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911(Diptera: Phlebotomidae) in the province of Almeria in Southeastern Spain. *Parasitologia* 33 (Suppl 1): 437-444.
- MORILLAS MARQUEZ F, MARTIN SANCHEZ J, ACEDO J, SANCHIS MARIN MC, 1995. Importancia actual de las leishmaniosis en Espana. *Ars.Pharmaceutica.* 36, 19-40.
- MOUTTAKI T, MORALES-YUSTE M, MERINO-ESPINOSA G, CHIHEB S, FELLAH H, MARTIN-SANCHEZ J, RIYAD M. 2014. Molecular diagnosis of cutaneous

- leishmaniasis and identification of the causative *Leishmania* species in Morocco by using three PCR-based assays. *Parasit Vectors* 7:420.
- MOULAHM T, FENDRI A, HARRAT Z, BENMEZDAD A, AISSAOUI K, AHRAOU S. ADDADI K. 1998. Contribution a l'étude des phlebotomes de Constantine: especes capturees dans un appartement urbain. *Courte note N° 1952. Entomologie medicale.*
- MOULOUA A. 2014. Etude Eco-Epidémiologique de la leishmaniose canine en Kabylie. Thèse faculté des Sciences Biologiques et des Sciences agronomiques Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou: 182 pp.
- NAKKASH-CHMAISSE H, MAKKI R, NAHHAS G, KNIO K, NUWAYRI-SALTI N. 2011. Detection of *Leishmania* parasites in the blood of patients with isolated cutaneous leishmaniasis. *Int J Infect Dis* 15:e491-e494.
- NARDIN E. 2010. "The past decade in malaria synthetic peptide vaccine clinical trials." *Hum Vaccin* 6(1): 27-38.
- NEJJAR R, LEMRANI M, BOUCEDDA L, AMAROUC H. & BENSLIMANE A. 2000. Variation in antibody titres against *Leishmania infantum* in naturally infected dogs in northern Morocco. *Revue Méd. Vét.* 151, 8-9, 841-846
- NERONOV VM, STRELKOVA MV, SHURKHL AA, LUSCHEKINA AA, ARTEMYEV MM. 1987. Natural focality of zoonotic cutaneous leishmaniasis in the Mongolian Peopl's Republic. Results and objectives of integrated research. *Folia Parasitol.*, 34, 1-9.
- NEVEU-LEMAIRE M. 1938. Sous-famille : Phlebotominae. Traite d'entomologie medicale et veterinaire. *Edition Vigot- Freres, Editeurs, Paris.* 1050-1075.
- NEWSTEAD R. 1911. The pappataci flies (*Phlebotomus*) of Maltese Islands. *Bull. Ent. Res.*, 2, 47-78.
- NIEVES E, VILLARREAL N, RONDON M, SANCHEZ M, CARRERO J. 2008. Evaluación de conocimientos y prácticas sobre la leishmaniasis tegumentaria en un área endémica de Venezuela. *Biomédica* 28:347-356.
- NITZULESCU 1930. *Phlebotomus langeroni* n. sp. et *P. (L.) langeroni* var. *longicuspis* n. var. de Douar-Shott (Tunisie). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 8, 547-553.
- ODONNE G, BOURDY G, CASTILLO D, ESTEVEZ Y, LANCHI-TANGO A, ALBAN-CASTILLO J, DEHARO E, ROJAS R, STIEN D, SAUVAIN M. 2009. Tata, Huayani: Perception of leishmaniasis and evaluation of medicinal plants used by the Chayahuita in Peru. Part II. *J Ethnopharmacol* 126:149-158.
- OFFICE NATIONAL DE LA SECURITE NATIONAL DES PRODUITS SANITAIRES ALIMENTAIRES (ONSSA) 2010. Monographie de la Province de Sidi Kacem. Service vétérinaire de la Province de Sidi Kacem, Avril, 13 p.
- OFFICE NATIONAL DE LA SECURITE NATIONAL DES PRODUITS SANITAIRES ALIMENTAIRES (ONSSA) 2014.
- OKWA OO. 2007. Tropical parasitic diseases and women. *Ann Afr Med.* 6:157-63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18354939>.
- OKWOR I, MOU Z, LIU D. and UZONNA J. 2012. "Protective immunity and vaccination against cutaneous leishmaniasis." *Front Immunol* 3: 128.
- OKWOR I, UZONNA J. 2016. Social and economic burden of human leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 94:489-93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26787156>.
- OLLIARO P, VAILLANT M, ARANA B, GROGL M, MODABBER F, MAGILL A, LAPUJADE O, BUFFET P, ALVAR J. 2013. Methodology of clinical trials aimed at assessing interventions for cutaneous leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 7:e2130
- OLOBO JO, ANJILI CO, GICHERU MM, MBATI PA, KARIUKI TM, GITHURE JI, KOECH DK & MCMASTER WR. 1995. Vaccination of vervet monkeys against

- cutaneous leishmaniosis using recombinant *Leishmania major* surface glycoprotein (gp63). *Veterinary Parasitology*, 60, 199-212.
- OMS, 1984. Les leishmanioses. Series de rapports techniques N° 701. *Org. Mond. Sante, Geneve*, 154p.
- OMS, 2020. Aide-mémoire sur la leishmaniose. Genève, (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>, consulté en mai 2020).
- OMS. 1990. control of leishmaniasis. *technical report series 793. who, Geneva, Switzerland*, 1-158.
- OMS, 2000. <http://www.who.int/inf-fs/en/fact116.html>.
- OMS. 2010. Premier rapport sur les maladies tropicales négligées. Genève: OMS, 27 p. *Bulletin épidémiologique* 37:2-10.
- WHO. 2010. First WHO report on neglected tropical diseases. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases.
- WHO. 2010. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva. WHO technical report series, March 2010; 949: 22-26.
- OMS. 2015. Investir pour réduire l'impact mondial des Maladies Tropicales Négligées. Troisième rapport de l'OMS sur les maladies tropicales négligées, 118-126.
- OMS. 2019. Rapport annuel d'activités. Rabat, Morocco: Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies; 2019. [Google Scholar].
- OMS. 2020. Skin NTDs. Genève : (<https://www.who.int/neglected-diseases/skin-ntds/en/>, consulté en mai 2020).
- OMS. 2020. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals. A road map for neglected tropical diseases 2021-2030. Genève, (<https://www.who.int/neglected-diseases/resources/who-ucn-ntd-2020.01/en/>, consulté en juin 2020).
- OMS. 2020. Fiche details, Leishmaniose. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Consulté le 13 mars 2020.
- OMS. 2021. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/neglected-tropical-diseases>
- O'RYAN M, STODDARD J, TONEATTO D, WASSIL J. and DULL PM. 2014. "A multi-component meningococcal serogroup B vaccine (4CMenB): the clinical development program." *Drugs* 74(1): 15-30.
- OUELLETTE M, OLIVIER M, SATO S. & PAPADOPOULOU B. 2003. Le parasite *Leishmania* à l'ère de la post-génomique. Page 2. *Médecine/Sciences*, octobre, 2003; 19 (10) pp: 900-909. URI: <http://id.erudit.org/iderudit/007158ar>.
- P**ARROT L. 1917. Sur un nouveau Phlébotome algérien, *Phlebotomus sergenti* sp. n. *Bull. Soc. Path. exot.* 10, 564-567.
- PARROT L, DONATIEN A, LESTOQUARD F. 1930. Sur le développement du parasite de la leishmaniose canine, viscérale chez *P. major* var. *perniciosus*. Newstead. *Bull. Soc. Pathol. Exot*; 23: 724-6.
- PARROT L, DONATIEN A, LESTOQUARD F. 1933a. Notes et réflexions sur la biologie de *Phlebotomus perniciosus* Newstead en Algérie *Arch. Inst, Pasteur Algérie*, 11: 183-189.
- PARROT L, 1933b. Notes sur les Phlébotomes, VI. Sur une variété Nord-Africaine de *Phlebotomus squamipleuris* Newstead. *Arch. Inst. Past. Alger*, 11, 603-605.
- PARROT L. 1935. Notes sur les phlébotomes, XV, présence en périe de *perfiliewi* Parrot 1930. *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, 13: 246 -248.
- PARROT L. 1936a. Notes sur les phlébotomes XXI- Sur la valve copulatrice de *Phlebotomus perniciosus* Newstead. *Arch. Institut Pasteur d'Algérie*. 144-146.
- PARROT L. 1936b. Notes sur les phlébotomes XX. Sur *Phlebotomus langeroni* var *longicuspis* Nitzulescu, 1930. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, 14, 137-143.

- PARROT L, GANOACH J, 1937. Notes sur les phlébotomes XXVI. Présence de *Phlebotomus perniciosus* Newst, dans le Hogar (Sahara central). *Ach. Inst. Past. Alger*, 15, 633.
- PARROT L, MARTIN R, 1939. Notes sur les Phlébotomes XXX. Une variété nouvelle de *Phlebotomus sergenti*, d'Étiopie. *Arch. Inst. Past. Algerie*, 17, 484-489.
- PARROT L, PICHEYRE R. 1941a. Notes sur les Phlebotomes XXXVIII. Phlebotomes du Hogar . *Arch. Inst. Past. Algerie* XIX, 4, 441-442.
- PARROT L, DONATIEN A, PLANTUREUX E. 1941b. Sur l'infection naturelle des phlébotomes par la leishmaniose générale de l'homme et du chien en Algérie. *Arch. Inst Past Algerie*, 19, 209-217.
- PARROT L, CLASTRIER J. 1944. Notes sur les phlébotomes XIV-présence de *Phlebotomus perfiliewi* en Tunisie *Ach. Inst. Past. Alger*, 22, 60-62.
- PARROT L. & DURAND-DELACRE R. 1947. Notes sur les phlébotomes LVI. Phlébotomes de Beni Ounifde-Figuig. *Arch. Instit. Past. Algérie* 25, 77-86.
- PARROT L, DURAND-DELACRE R. 1948. Notes sur les Phlébotomes. Quelques remarques sur les phlébotomes des terriers de rongeurs du sud-Oranais. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algerie* 26, 402-405.
- PARROT L, DONATIEN A. 1952. Autres observations sur l'infection naturelle des Phlebotomes par la Leishmaniose générale de l'homme et du chien en Algérie. *Arch. Inst. Past. Alger*, 30, 146-152.
- PARROT L, CLASTRIER J. 1956. Notes sur les phlébotomes LXIX. Phlébotome de Biskra *Ach. Inst. Past. Alger*, 34, 513-517.
- PATZ JA, GRACZYK TK, GELLER N, & VITTOR AY. 2000. Effects of environmental changes on emerging parasitic diseases. *Int. J. Parasitol* 30:1395-1405.
- PEARSON R. D, and SOUSA A. Q. 1996. "Clinical spectrum of Leishmaniasis." *Clin Infect Dis* 22(1): 1-13.
- PERFILEV PP. 1968. Phlebotominae (sand flies). Translated by the Isreal Programme of Scientific Translations from 1966 original. Rehovoth, Israel.
- PERROTEY S, MAHAMDALLIE SS, PESSON B, RICHARDSON KJ, GALLEGRO M, READY PD. 2005. Postglacial dispersal of *Phlebotomus perniciosus* into France. *Parasite* 12: 283-291.
- PESSON B, LEGER N, MADULO-LEBLOND G, 1984. Les phlébotomes de Grèce: les îles Ioniennes et les îles de la Mer Égée. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 59, 277-296.
- PESSON B, READY JS, BENABDENBI I, MARTIN-SANCHEZ J, ESSEGHIR S, CADISOUSI M, MORILLAS-MARQUEZ F, READY PD. 2004. Sandflies of the *Phlebotomus perniciosus* complex: mitochondrial introgression and a new sibling species of *P. longicuspis* in the Moroccan Rif. *Med. Vet. Entomol.* 18, 25-37.
- PETERSON AT. & J. SHAW. 2003. *Lutzomyia* vectors of cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. *Int. J. Parasitol* 33:919-931.
- PETERS W, CHANCE ML, CHOWDHURY AB, GHOSHDASTIDAR B, NANDY A, KALRA JL, SANYAL RK, SHARMA MID, SRIVASTAVA L. & SCHNUR LF. 1981. The identity of some stocks of *Leishmania* isolated in India. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 75, 247-249.
- PETITDIDIER M, VOLLHARDT Y, DEDET JP, ALBERT JL, LANOTTE G, QUILICI M. 1969. Epidémiologie des leishmanioses dans le Sud de la France. Paris: Ed INSERM (Monographie INSERM. ; 37), 223p. *Parasitol. Hum. Comp.* 29, 297-323.
- PETRISCHEVA PA. 1971. The natural focality of Leishmaniasis in the URSS. *Bull. Wld. Hlth. Org*, 44, 567-576.

- PETTER F. 1988. Epidémiologie de la leishmaniose cutanée dans le sud du Maroc et dans le sud-est de l'Arabie. *Bull. Acad. Vét. Fr.* 61, 113-117.
- PIMENTA PF, TURCO SJ, MCCONVILLE MJ, LAWYER PG, PERKINS PV. & SACKS DL. 1992. Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to the sandfly midgut. *Science*, 256, 1812-1815.
- PIMENTA PF, SARAIVA EM, ROWTON E, MODI GB, GARRAWAY LA. & BEVERLEY SM. 1994. Evidence that the vectorial competence of phlebotomine sand flies for different species of *Leishmania* is controlled by structural polymorphisms in the surface lipophosphoglycan. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91 pp: 9155-6.
- Onte-Sucre A, Gamarro F, Dujardin J. C, Barrett M. P, Lopez-Velez R, Garcia-Hernandez R, Pountain A. W, Mwenechanya R and Papadopolou B. 2017. "Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge." *PLoS Negl Trop Dis* 11(12): e0006052.
- PRATLONG F, RIOUX JA, MARTY P, FARAUTGAMBARELLI F, DEREURE J. 2004. Isoenzymatic Analysis of 712 Strains of *L. infantum* in the south of France and relationship of enzymatic polymorphism to clinical and Epidemiological Features. *J. Clin. Microbiol.* 42, 4077-4082.
- QUATE LW. 1964. *Phlebotomus* sandflies of the paloich area in the Soudan (Diptera: Psychodidae). *J. Med. Ent.* 1,213-268.
- 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.
- RAPP C, IMBERT P, DARIE H, SIMON F, GROS P, DEBORD T, & ROUE R. 2003. Traitement par amphotéricine B liposomale d'une leishmaniose cutanée contractée à Djibouti et résistante à l'antimoniote de méglumine. *Bull Soc Pathol Exot*, 96, 3, 209-211.
- RAYNAL JH. 1954. Les phlébotomes de France et leur distribution régionale. *Ann.*
- READY PD, 2008. Leishmaniasis emergence and climate change. *Rev Sci Tech*, 2:399-412.
- READY P. D. 2014. "Epidemiology of visceral leishmaniasis." *Clin Epidemiol* 6: 147-154.
- REIS DC dos, GAZZINELLI A, SILVA CA de B, GAZZINELLI MF. 2006. Health education and social representation: an experience with the control of tegumentary leishmaniasis in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. *Cad Saude Publica* 22:2301-2310.
- REITHINGER R & DUJARDIN JC. 2007. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. *J. of clinical microbiol.* pp : 21-25.
- REITHINGER R, DUJARDIN JC, LOUZIR H, PRIMEZ C, ALEXANDER B, BROOKER S. 2007. cutaneous leishmaniasis. *Lancet. Infect. Dis.* 7(9):591-596. Doi: S1473-3099(07)70209-8 (pii):10.1016/s1473-3099(07)70209-8 (doi).
- RHAJAOUI M, FELLAH H, PRATLONG F, DEDET JP, & LYAGOUBI M. 2004. Leishmaniasis due to *Leishmania tropica* MON-102 in a new Moroccan focus. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 98, 299-301.
- RHAJAOUI M, NASEREDDIN A, FELLAH H, AZMI K, AMARIR F, AL-JAWABREH A, EREQAT S, PLANER J, ABDEEN Z. 2007. Molecular typing reveals emergence of a new clinic-epidemiologic profile of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Emerging Infectious Disease*, 3(9):1358-60.
- RHAJAOUI M. 2011. Les leishmanioses humaines au Maroc : une diversité nosogéographique. *Pathol. Biol.* 10, 226-229.
- RIOUX J A, JUMINER B, GIBILY H. 1966. *Phlebotomus (Phlebotomus) chadlii* n.sp. (Diptera: Psychodidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 41, 83-89.

- RIOUX JA, GOLV AN YJ, CROSET H, HOUIN R, JUMINER B. 1967. Ecologie des Leishmanioses dans le Sud de la France. *Annales de Parasitologie Humaine et comparée*, 42, 6.
- RIOUX JA, CROSET H, JUMINER B. 1969. Présence en Tunisie de *Phlebotomus alexandri* (Sinton, 1928) *Sergentomyia clydei* (Sinton, 1928) et *Sergentomyia dryfussi* (Parrot, 1933). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 44, 825-826.
- RIOUX JA, CROSET H, LEGER N. & BAILLY-CHOUMARA H. 1974. *Phlebotomus (Larroussius) mariae* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Ann. Parasitol.* 49 pp: 91-101.
- RIOUX JA, CROSET, LEGER N, BENMANSOUR N, CADI SOUSSI M. 1975a. Présence au Maroc de *Phlebotomus bergeroti*, *Phlebotomus chabaudi*, *Phlebotomus chadlii* et *Sergentomyia christophersi*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 50, 493 -506.
- RIOUX JA, CROSET H, LEGER N, BEN MANSOUR N, CADI SOUSSI M. & ROSIN G, 1975b. Ecologie des leishmanioses du sud marocain (Mission 1973). Travaux de la RCP 249. Etude de certains milieux du Maroc et de leur évolution récente. III : 179-230.
- RIOUX JA, PERIERES J, KILLICK-KENDRICK R, MAISTRE M. 1978. Confirmation de l'existence en Tunisie de *Sergentomyia antennata* (Newstead, 1912) [Diptera-Psychodidae]. *Ann Parasitol Hum Comp* 53:431-5 doi:10.1051/parasite/1978534431.
- RIOUX JA, KILLICK-KENDRICK R, LEANEY AJ, TURNER DP, BAILLY M, YOUNG CJ. 1979. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 12. Dispersion horizontale de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. Expériences préliminaires. *Ann. Parasitol.* 54, 675-682.
- RIOUX JA, LANOTTE G, MAAZOUN R, PERELLO R, PRATLONG F. 1980. *Leishmania infantum* agent du bouton d'orient autochtone. *C R Acad Sc* 291:701-3.
- 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. *C. r. Acad. Sc., Paris, sér. III*, 294, 515-517.
- RIOUX JA, RISPAIL P, LANOTTE G. & LEPART J. 1984. Relations phlébotomes-bioclimats en écologie des leishmanioses. Corollaires épidémiologiques. L'exemple du Maroc. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 131, 549-557.
- RIOUX JA, LANOTTE G, PETTER F, DEREURE J, AKALAY O, PRATLONG F, VELEZ I D, FIKRI N B, MAAZOUN R, DENIAL M, JARRY DM, ZAHAF A, ASHFORD RW, CADI-SOUSSI M, KILLICK-KENDRICK R, BENMANSOUR N, MORENO G, PERIERES J, GUILVARD E, ZRIBI M, KENNOU MF, RISPAIL P, KNECHTLI E. & 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.* (Coll. Int. CNRS/INSERM, 1984). IMEEE, Montpellier : 365-395. Jibily, 1966 *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 63:101-104.
- RIOUX JA, 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.* J. A. Rioux éd. (Coll. Int. CNRS/INSERM, 1984). IMEEE, Montpellier, 471-480.
- RIOUX JA, GUILVARD E, GALLEGRO J, MORENO G, PRATLONG F, PORTUS M, RISPAIL P, GALLEGRO M. & BASTIEN P. 1986c. *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. pp. 439-444.
- RIOUX J.A., VELEZ I.D., DENIAL M., DEREURE J., PERIERES J., LANOTTE G. & EL MELLOUKI W. 1986d. Presence in Morocco of *Phlebotomus (Paraphlebotomus) kazeruni* Theodor and Mesghali, 1964. *Ann Parasitol Hum Comp.* 61, 473-81.
- RIOUX JA, LANOTTE G, PRATLONG F, BASTIEN P, PERIERES J. 1990. Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Ann Parasitol Hum Comp.* 65:111-5.
- RIOUX JA, LANOTTE G. 1993. Apport de la cladistique à l'analyse de genre *Leishmania* Ross, 1903 [Kinetoplastida-Trypanosomatidae]. *Corollaires éco-épidémiologiques Biosystema*, 8:79-90.
- RIOUX JA, MAHGOUB J, GALLEGO M, DEREURE J, PERIERES 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 JA, AKALAY O, PERIERES J, DEREURE J, MAHJOUR J, LE HOUEROU HN, LEGER N, 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'. *Ecol. Mediterr.* 23 pp: 73-92.
- RIOUX JA. 1999. Eco-épidémiologie des leishmanioses au Maroc. Bilan de 30 ans de coopération. D.E.L.M.
- RIOUX J. A. 2001. Trente ans de coopération franco-marocaine sur les leishmanioses: dépistage et analyse des foyers. Facteurs de risque. Changements climatiques et dynamique nosogéographique. *Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur*, 168, 90-101.
- RISPAIL P, LÉGER N. 1998. a Numerical Taxonomy of Old World Phlebotominae (Diptera Psychodidae). Considerations of Morphological Characters in the Genus *Phlebotomus* Rondani & Berte 1840. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.Rio de Janeiro*, 93, 773-785.
- RISPAIL P, DEREURE J, JARRY D. 2002. Risk zones of hum an leishmaniasis in the western mediterranean bassin. Correlations between vector sand flies, bioclimatology and phytosociology. *Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro*; 97 (4): 477-83.
- RISTOCELLI A. 1939. Contribution à l'étude des phlébotomes du Maroc. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 17, 364-365.
- RISTORCELLI A. 1945. Sur les phlébotomes du Maroc (3e note). *Arch Inst Pasteur Maroc* 3:105-9
- RIVIER D, SHAH R, BOVAY P. & MAUEL J. 1993. Vaccine development against cutaneous leishmaniasis. Subcutaneous administration of radioat-tenuated parasites protects CBA mice against virulent *Leishmania major* challenge. *Parasite Immunology*, 15, 75-84.
- RIVIER D, BOVAY P, SHAH R, DIDISHEIM S. & MAUEL J. 1999. Vaccination against *Leishmania major* in a CBA mouse model of infection: role of adjuvants and mechanism of protection. *Parasite Immunology*, 21, 461-473.
- RIYAD M, CHIHEB S, BICHICHI M, KRIMECH A, GUESSOUS-IDRISSI N. 2006. Evolution de la leishmaniose cutanée à *Leishmania tropica* au Maroc: l'exemple du foyer de Taza. *Journal du Praticien* 15(2), 20-25.

- ROBERTS LS & JANOVY JJ. 2000. *Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology*. McGraw-Hill Higher Education, Boston.
- ROBINSON J, REZ R, AGUDELO S, MUSKUS C, ALZATE JF, BERBERICH C, BARKER D, DAR I, VELEZ O. 2000. Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis in Colombia: the Sampling Site within Lesions Influences the Sensitivity of Parasitologic Diagnosis. *J Clin Microbiol* 38:3768-3773.
- ROCHA LG, ALMEIDA JR, MACEDO RO, BARBOSA-FILHO JM. 2005. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine* 12: 514-535.
- ROSS R. 1903. Note on the bodies recently described by leishman and donovan. *Br Med J*. 14 nov; 2(2237):1261-1262.
- ROSSI E, BONGIORNO G, CIOLLI E. *et al.* 2008. Seasonal phenology, host-food feeding preferences and natural *Leishmania* infection of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera, Psychodidae) in a high-endemic focus of canine leishmaniasis in Rome province, Italy *Acta Tropica*, 2008, 105, 158-165
- RUOTI M, ODDONE R, LAMPERT N, *et al.* 2013. Mucocutaneous leishmaniasis: knowledge, attitudes, and practices among paraguayan communities, patients, and health professionals. *J Trop Med* 2013:538629.
- RUSSO J, RIOUX JA, LAMBERT M, RISPAL P, BELMONTE A, BERCHI S. 1991. Chorologie des phlébotomes de l'Est Algérien (Diptera: Psychodidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 66: 247-251.
- SACKS DL, MODI G, ROWTON E, SPATH G, EPSTEIN L, TURCO SJ & BEVERLEY SM. 2000. The role of phosphoglycans in *Leishmania* -sand fly interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 97, 406-411.
- SACKS DL. 2001. *Leishmania*-sand fly interactions controlling species-specific vector competence. *Cell. Microb.* 3, 1-9.
- SANYAL RK. 1985. Leishmaniasis in the Indian sub-continent. In: Chang KP, Bray RS, editors. *Leishmaniasis*. London: Elsevier; p. 443-67.
- SARKARI B, ASHRAFMANSOURI M, HATAM G, HABIBI P, ABDOLAH KHABISI S. 2014. Performance of an ELISA and indirect immunofluorescence assay in serological diagnosis of zoonotic cutaneous leishmaniasis in iran. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2014:505134.
- SCHLEIN Y, YUVAL B, JACOBSON RL. 1989. Leishmaniasis in the Jordan Valley. Differential attraction of dispersing and breeding site populations of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) to manure and water. *J. Med. Ent.*, 26, 411- 413.
- SCHLEIN Y, JACOBSON RL & SHLOMAI J. 1991. Chitinase secreted by *Leishmania* functions in the sandfly vector. *Proceedings of the Royal Society of London Ser. B.*, 245, 121-126.
- SCHONIAN G, NASEREDDIN A, DINSE N, SCHWEYNOCH C, SCHALLIG HD, PRESBER W, JAFFE CL. 2003. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 47, 349-358.
- SCHWENKENBECHER JM, WIRTH T, SCHNUR LF, JAFFE CL, SCHALLIG H, AL-JAWABREH A, *et al.* 2006. Microsatellite analysis reveals genetic structure of *Leishmania tropica*. *Int J Parasitol*; 36:237-46.
- SEAMAN J, MERCER AJ, SONDORP E. The epidemic of visceral leishmaniasis in northern Sudan during 1984-1996: course, impact, clinical outcome and costs. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 22.
- SEBTI F, MARYAM H, ASMAE H, ALEM E, MAHMOUD M, KHADIJA B, HAJIBA F, ABDERRAHIM S, KHALID H. 2016. Epidemiology status of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *J Infect Dis Ther.* doi: 10.4172/2332-0877.C1.012.

- SEN-GUPTA PC. 1968. Leishmaniasis in India. *J. Ind. Med. Ass.*, 50, 34-36.
- SERGEANT EDM, SERGEANT ET, PARROT L, DONATIEN A, BEGUET M. 1921. Transmission du Clou de Biskra par le phlébotome (*Phlebotomus papatasi* Scop.). C.R. Acad. Sci. Paris 173, 1030.
- SERIDI N, BELKAID M, QUISPE-TINTAYA W, ZIDANE C, DUJARDIN JC, 2008. Application of PCR–RFLP for the exploration of the molecular diversity of *Leishmania infantum* in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102, 556-563.
- SHORTT HE. 1932. The Indian Medical Research Memoir no. 25, August 1932. See Singh N, Roy S (2009), p. 84.
- SINDERMANN H and ENGEL J. 2006. "Development of miltefosine as an oral treatment for leishmaniasis." *Trans R Soc Trop Med Hyg* 100 Suppl 1: S17-20.
- SINTON JA. 1928. The synonymy of Asiatic species of *Phlebotomus*. *Indian.J. Med. Res*, 16, 297-324.
- SLAOUI W, CHIEB S, BENCHIKHI H. (2015). [Efficacy of pulsed-dye laser on residual red lesions of cutaneous leishmaniasis]. *Ann Dermatol Venereol* 142:17-20
- SOTO M, REQUENA JM, GARCIA M, GOMEZ LC, NAVARRETE I, ALONSO C. 1993. 'Genomic organization and expression of two independent gene arrays coding for two antigenic acidic ribosomal proteins of *Leishmania*' *J BIOL CHEM* vol. 268, pages 21835-43.
- SOUDANI S. 2019. Profil épidémiologique des leishmanioses dans la région de TATA. Université Cadi Ayyad, Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech : 138pp.
- STEVERDING D. 2017. "The history of leishmaniasis." *Parasit Vectors* 10(1) : 82.
- SVOBODOVA M, SADLOVA J, CHANG KP & VOLF P. 2003. Distribution and feeding preference of the sandflies *Phlebotomus sergenti* and *P. papatasi* in a cutaneous leishmaniasis focus in Sanliurfa, Turkey. *Am J Trop Med Hyg.* 68, 6-9.
- SVOBODOVA M, VOTYPKA J, PECKOVA J, DVORAK V, NASEREDDIN A, BANETH G, et al. 2006. Distinct transmission cycles of *Leishmania tropica* in 2 adjacent foci, Northern Israel. *Emerg Infect Dis.* 12:1860-8.
- THAKUR CP, OLLIARO P, GOTHOSKAR S, BHOWMICK S, CHOUWDHURY BK, PRASAD S, et al. 1992. Treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar) with aminosidine (= paromomycin)-antimonial combinations, a pilot study in Bihar, India. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 86:615-6.
- THAKUR CP, NARAYAN S. 2004. A comparative evaluation of amphotericin B and sodium antimony gluconate, as first-line drugs in the treatment of Indian visceral leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2004 ;98 :129-38. Erratum in. *Ann Trop Med Parasitol*; 98:659.
- THEODOR O. 1947. On some sandflies (*Phlebotomus*) of the *sergenti* group in Palestine. *Bull. Ent.Res.*, 38, 91-98.
- THEODOR O. 1948. Classification of the old World species of the subfamily *Phlebotominae* (Diptera: Psychodidae) *Bull. Ent.Res.*, 39, 85-115.
- THEODOR O. 1958. Psychodidae-Phlebotominae. In: Lindner, E. (Ed.), *Die Fliegen der Palaearktischen Region*, 9c. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, pp. 1-55.
- THEODOR O, MESGHALI A. 1964. On the Phlebotomine of Iran. *J. Med. Entomol.* 1, 285-300.
- THEODOS CM, RIBEIRO JM. & TITUS RG. 1991. Analysis of enhancing effect of sand fly saliva on *Leishmania* infection in mice. *Infection and Immunity*, 59, 1592-1598.

- THEODOS CM. & TITUS RG. 1993. Salivary gland material from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* has an inhibitory effect on macrophage function in vitro. *Parasite Immunology*, 15, 481-487.
- TITUS RG, GUEIROS-FILHO FJ, DE FREITAS LA & BEVERLEY SM. 1995. Development of a safe live *Leishmania* vaccine line by gene replacement. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 92, 10267-10271.
- TROUILLET J, FAYE. 1993. Phlébotomes du Senegal. Présence de *Phlebotomus (Phlebotomus) bergeroti* Parrot, 1934 (Diptera, Psychodidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp*, 68 n 2, 101-103.
- VERANI P, NICOLETTI L, CIUFOLINI MG, BADUCCI I. 1991. Viruses transmitted by sandflies in Italy. *Parassitologia*. 33, 513-518.
- VERANI P, CIUFOLINI MG, NICOLETTI L. 1995. Arbovirus surveillance in Italy. *Parasitologia*, 37, 105-108.
- VERMA S, KUMAR R, KATARA G. K, SINGH L. C, NEGI N. S, RAMESH V. and SALOTRA P. 2010. "Quantification of parasite load in clinical samples of leishmaniasis patients: IL-10 level correlates with parasite load in visceral leishmaniasis." *PLoS One* 5(4): e10107.
- VERONESI E, PILANI R, CARRIERI M, BELLINI R. 2007. Trapping sand flies (Diptera: Psychodidae) in the Emilia-Romagna region of northern Italy. *J Vector Ecol* 32:313-318.
- VOLF P, OZBEL Y, AKKAFA F, SVOBODOVA M, VOTYPKA J & CHANG KP. 2002. Sand Flies (Diptera: Phlebotominae) in Sanliurfa, Turkey: Relationship of *Phlebotomus sergenti* with the Epidemic of Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis. *J. Med. Entomol.* 39, 12-15.
- VYTHILINGAM I, ZAINAL AR & HAMIDAH T. 1999. Laboratory evaluation of lambda-cyhalothrin a microencapsulated formulation on mosquito nets for control of vector mosquitos. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* , 30 , 177-183.
- WALKER PS, SCHARTON-KERSTEN T, ROWTON ED, HENGGE U, BOULOC A, UDEY MC & VOGEL JC. 1998. Genetic immunization with glycoprotein 63 cDNA results in a helper T cell type 1 immune response and protection in a murine model of leishmaniasis. *Human Genetics Therapeutics*, 9, 1899-1907.
- WANG Y, WANG G, ZHANG D, YIN H. and WANG M. 2013. "Screening and identification of novel B cell epitopes of Toxoplasma gondii SAG1." *Parasit Vectors* 6: 125.
- WEIGEL MM, ARMIJOS RX, RACINES RJ, ZURITA C, IZURIETA R, HERRERA E, HINOJSA E. 1994. Cutaneous leishmaniasis in subtropical Ecuador: popular perceptions, knowledge, and treatment. *Bull Pan Am Health Organ* 28:142-55.
- WEISS MG. 2008. Stigma and the social burden of neglected tropical diseases. *PLoS Negl Trop Dis.* 2: e237.
- WIJERS DJ. 1963. Studies on the vector of kala-azar in Kenya. II. Epidemiological evidence. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 57: 7-18.
- WILSON AB, TAYLOR MA, KLEIN BA, SUGRUE MK, WHIPPLE EC, BROKAW JJ. 2016. Meta-analysis and review of learner performance and preference: Virtual versus optical microscopy. *Med Educ* 50:428-440
- YAGHOobi-ERSHADI MR, JAVADIAN E, TAHUILDAR-BIDRUNI GH. 1995. *Leishmania major* MON-26 isolated from naturally infected *Phlebotomus*.

- YAHIA H, READY PD, HAMDANI A, TESTA JM, GUESSOUS IDRISSE N. 2004. Regional genetic differentiation of *Phlebotomus sergenti* in three Moroccan foci of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica*. *Parasite*, 11:189-199.
- YANNICK E. 2009. Activité leishmanicide de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle Péruvienne et de molécules de synthèse; étude relation structure activité. Sciences pharmaceutiques. Université Paul Sabatier - Toulouse III. Français. fftel-00519174.
- ZAIT H, HAMRIOUI B. 2009. Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiques au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007 revues francophones des laboratoires-mai n°412.
- ZEOUK I, EL OUALI LALAMI A, EZZOUBI Y, DERRAZ K, BALOUIRI M. ET BEKHTI K. 2020. Cutaneous Leishmaniasis: Medicinal Plants Used in Sefrou City (Center of Morocco), a Focus of Leishmaniasis. *Phytothérapie*, 18 3-4, 187-194. DOI:10.3166/phyto-2018-0060
- ZHIOUA E, KAABI I, CHELBI. 2007. Entomological investigations following the spread of visceral leishmaniasis in Tunisia. *Journal of Vector Ecology*, Vol. 32, no. 2:1-4.
- ZIVKOVIK V. 1977. Recherches sur les phlebotomes (diptera, psychodidae) de serbie avec etude particuliere des regions à leishmaniose viscerale endemique. *In: Colloques Internationaux du CNRS. Paris/CNRS*, 239, 195-201.
- ZIVKOVIK V, MISCEVIC Z. 1979. Le cycle d'activte nocturne des phlebotomes (Diptera: Phlebotomidae a la lumiere artificielle dans les agglomerations. *Acta . Parasito. Iugos*, 10, 3-13.
- ZOUGAGHI L, AMINE M, BOUSKRAOUI M, AKHDARI N, BOUANANI M, SAID A. 2011. Leishmaniose cutanée à Chichaoua: un foyer rebelle! *Revue Française des Laboratoires-Février* 429, 35-39.
- ZOUIRECH M, BELGHYTI D, EL-KOHLI M. & FARAJ C. 2013. Entomological investigation of an emerging leishmaniasis focus in Azilal province, Morocco. *Pakistan Entomologist* 35, p. 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, 211-221.

# ANNEXES

# ANNEXE I

## CLE D'IDENTIFICATION DES PHLEBOTOMES DU MAROC

Ministère de la Santé Publique (MSP, 1997)  
(AVEC MODIFICATION).

### DETERMINATION DU GENRE

Cibarium inerme, soies des tergites abdominaux II à VI dressées ; chez le mâle, style porteur de 4 ou 5 épines insérées à des niveaux différents.....*Phlebotomus*

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

### DETERMINATION DES ESPECES DU GENRE *PHLEBOTOMUS* MALES

- 1- Style à 4 épines.....2
- Style à 5 épines.....5
- 2- Apex du pénis effilée en forme de dogue.....*P. chabaudi*
- Apex mousse en forme de bec de corbin.....3
- 3- Tubercule de la base des coxites aussi long que large, pourvu de soies (~25)... *P. alexandri*
- Tubercule aussi long que large, digitiforme et à soies peu nombreuses (~15) .....4
- 4- Style enflé, au plus de trois fois plus long que large.....*P. sergenti*
- Style élancé, plus de trois fois plus long que large..... *P. kazeruni*
- 5- Paramère trifide à appendice supérieur arciforme abondamment pourvu de soies, un petit tubercule porteur de soies à la base du coxite.....6
- Paramère simple, pas de tubercule sur le coxite.....7
- 6- Style élancé, 10 à 14 fois plus long que large, face interne du coxite pourvue dans sa partie supérieure d'un placard ayant en moyen 11 soies (7 à 14).....*P. papatasi*
- Style seulement 6 à 8 plus long que large, face interne du coxite pourvue d'un placard de 5 soies.....*P. bergeroti*
- 7- Valves bifurquées ou valves à pointe unique et courbée, nombre de soie sur la coxite est inférieur ou égal à 18 .....*P. perniciosus*
- Valves à point unique non courbée .....8
- 8- Extrémité du pénis denticulée sur son bord supérieur.....*P. perfiliewi*
- Extrémité du pénis dépourvue de denticulations.....9
- 9- Pénis effilé.....10
- Pénis à extrémité mousse.....11
- 10- Extrémité du pénis régulièrement rétrécie avec un nombre de soie sur la coxite supérieur ou égal 22.....*P. longicuspis sensu stricto*
- Extrémité du pénis régulièrement rétrécie avec un nombre de soie sur la coxite entre 19 et 21.....Espèce cryptique de *P. longicuspis* LCx
- Extrémité du pénis biseautée.....*P. langeroni*
- 11- Coxite pourvu d'une plage interne de 60 à 80 soies.....*P. chadlii*
- Coxite pourvu d'une plage interne de 20 à 40 soies.....12
- 12- Pénis en battant de cloche.....*P. ariasi*
- Pénis en baguette de tambour.....*P. mariae*

## **DETERMINATION DES ESPECES DU GENRE *PHLEBOTOMUS* FEMELLES**

- 1**- Tête de la spermathèque sessile.....**2**  
- Tête pédonculée.....**7**
- 2**- Réservoir ne comportant que 2 segments.....*P. kazeruni*  
- Réservoir ayant plus de trois segments.....**3**
- 3**- Dernier segment de la spermathèque en forme d'entonnoir, relié au précédent par un pédoncule long et grêle..... *P. chabaudi*  
- Dernier segment largement accolé au précédent.....**4**
- 4**- Ecailles de l'armature pharyngienne formant des cellules à paroi épaisse, les antérieures généralement fermées et s'ordonnant en réseau transversal.....*P. alexandri*  
- Ecailles de l'armature pharyngienne formant des cellules à paroi mince, les antérieures allongées d'avant en arrière et généralement ouvertes.....**5**
- 5**- Ecailles postero-médianes du pharynx denticulées.....*P. papatasi*  
- Toutes les écailles pharyngiennes dépourvues de denticulations.....**6**
- 6**- Ecailles pharyngiennes arrondies régulièrement réparties, dernier segment de la spermathèque réduit à une collerette latérale, tête large et subsphérique..... *P. bergeroti*  
- Ecaille pharyngienne polymorphes très irrégulièrement réparties, dernière segment de la spermathèque globuleux, tête étroite et subovale.....*P. sergenti*
- 7**- Conduit de la spermathèque présentant une dilatation progressive à son extrémité distale..**8**  
- Conduite de calibre uniforme, une ampoule terminale ou latérale à son extrémité distale.... **9**
- 8**- Conduit dilaté sur la moitié de sa longueur, col relativement court et épais par rapport au réservoir (moitié), tête de la spermathèque peu différenciée.....*P. ariasi*  
- Conduit dilaté sur le 1/3 de sa longueur, col long et mince par rapport au réservoir (2/3), tête de la spermathèque bien différenciée.....*P. langeroni*
- 9**- Un caecum à paroi très épaisse et à lumière droite, en dérivation à la base du conduit de la spermathèque, limite antérieure de l'armature pharyngienne imprécis.....*P. perniciosus*  
- Une dilatation irrégulière ou un caecum différent à la base du conduit, limite antérieure de l'armature pharyngienne nette, sub-rectiligne.....**10**
- 10**- Conduit de la spermathèque se terminant dans une poche asymétrique, aux parois fripées (ceci n'est pas bien visible que sur un exemplaire disséqué).....*P. perfiliewi*  
- Un caecum latéral bilobé, s'abouchant largement à la base du conduit (même remarque).....*P. longicuspis*

## DETERMINATION DES ESPECES DU GENRE *SERGENTOMYIA* MALES

- 1- Pompe génitale dépourvue de pavillon.....*S. lewisi*  
- Pompe génitale pourvue de pavillon.....2
- 2- Pénis à extrémité mousse.....3  
- Pénis à extrémité acérée.....7
- 3- Style 5 à 7 fois plus long que large..... *S. fallax*  
- Style 3 à 4 fois plus long que large .....4
- 4- Extrémité du pénis pourvue d'un renflement déjeté dorsalement.....5  
- Extrémité du pénis pourvue d'une telle protubérance..... 6
- 5- Pénis 8 à 9 fois plus long que large.....*S. antennata*  
- Pénis 4 à 6 fois plus long que large .....*S. schwetzi*
- 6- Soie non caduque insérée au voisinage immédiat de l'apex du style, fémur antérieur armé d'épine..... *S. dreyfussi*  
- Soie non caduque insérée à l'union du tiers moyen et du tiers distal, fémur antérieur dépourvu d'épines.....*S. minuta*
- 7- Longueur de la partie libre du pénis plus grande (1,5 à 2,5 fois) que celle de sa base d'insertion (racine supérieure).....*S. africana*  
- Longueur de la partie libre du pénis égale à celle de sa base d'insertion .....8
- 8- Longueur des filaments génitaux égale à 3 fois la longueur du coxite, 10 à 12 dents cibariales principales.....*S. clydei*  
- Longueur des filaments inférieur ou égale à 2 fois la longueur du coxite, 2 à 5 dents cibariales principales.....*S. christophersi*

## DETERMINATION DES ESPECES DU GENRE *SERGENTOMYIA* FEMELLES

- 1- Spermathèque tubulaire, sans conduit ni réservoir différenciés.....2  
- Spermathèque avec conduit et réservoir différenciés.....5
- 2- Dents cibariales au nombre de 60 à 85, formant une palissade rectiligne.....*S. minuta*  
- Dents cibariales entre 13 et 20, disposées sur une ligne courbe et formant un feston.....3
- 3- Armature pharyngienne peu différenciée, située dans la partie postérieure rétrécie du pharynx et formée d'écailles finement denticulées..... *S. schwetzi*  
- Armature pharyngienne puissante, située dans la partie postérieure renflée du pharynx et formée d'épines plus au moins puissantes .....4
- 4- Armature pharyngienne cordiforme, comportant deux types d'épines, les antérieures longues et acérées, les postérieures ponctiformes, tache cibariale ovale, sans prolongement antérieur.....*S. fallax*  
- Armature pharyngienne discrètement échancrée, comportant un seul type d'épine, longues et acérées, tache cibariale pourvue d'un prolongement antérieur.....*S. antennata*
- 5- Réservoir de la spermathèque annelé, armature cibariale constituée de deux types de dents, grandes et petites .....6  
- Réservoir non annelé, dents cibariales d'un seul type.....7
- 6- Grandes dents cibariales (12-13) jointes, tache cibariale avec un prolongement antérieur..... *S. clydei*  
- Grandes dents cibariales (4-5) indépendantes, tache cibariale ovale, sans prolongement.....*S. christophersi*
- 7- Réservoir de la spermathèque orné d'une bande équatoriale constituée de ponctuations, fémur antérieur armé d'épines.....*S. dreyfussi*  
- Réservoir dépourvu d'une bande équatoriale, fémur antérieur inerme..... 8
- 8- Réservoir de la spermathèque de forme ovale allongée, dents cibariales (40-50) insérées sur une ligne concave.....*S. africana*  
- Réservoir sub-sphérique, dents cibariales (15-20) implantées sur une ligne droite.....*S. lewis*

### Résumé

Les leishmanioses sont des infections parasitaires, transmis par la piqûre de phlébotomes femelles infectés. Sous sa forme cutanée, la leishmaniose constitue un problème majeur de santé publique au Maroc.

Le présent travail vise à connaître les espèces de phlébotomes dans les provinces de Sidi Kacem, Ouezzane, Taounate, Séfrou, Moulay Yaâkoub et Boulemane.

Dans ce travail, une synthèse bibliographique a permis de rappeler quelques données sur la systématique, la biodiversité, la bio-écologie, la répartition géographique, le rôle vecteur et les critères morphologiques d'identification des phlébotomes. De même, une revue bibliographique sur la leishmaniose et ses agents pathogènes a permis de donner des informations sur cette maladie.

L'inventaire commenté des phlébotomes retrouvés dans les six provinces d'étude, a montré la présence de deux vecteurs prouvés de leishmaniose cutanée: *Phlebotomus papatasi* vecteur de *L. major* et *Phlebotomus Paraphlebotomus sergenti* vecteur de *L. tropica*, en plus de la présence de 3 vecteurs probable de *L. infantum*, à savoir : *Phlebotomus Larrousius longicuspis*, *pirnisiosus* et *ariasi*. Une seule espèce du genre *Sergentomyia* a été collectée: *Sergentomyia minuta*.

L'analyse de la répartition des espèces de phlébotomes a montré que *P. sergenti* est l'espèce la plus abondante suivie respectivement par *P. longicuspis*, *P. papatasi*, *S. minuta*, *P. perniciosus* et *P. ariasi* au dernier rang.

Une recherche entomologique détaillée au niveau de cinq foyers de leishmaniose cutanée dans la province de Sidi Kacem a permis d'appréhender la diversité spécifique et de suivre les fluctuations saisonnières des phlébotomes dans les foyers étudiés. Cette étude a montré la présence de ces espèces de mai à novembre et a montré qu'ils ont une évolution biphasique avec un optimum de densité en septembre. De même, notre travail a confirmé la large distribution et la forte abondance de *P. sergenti* et *P. longicuspis* dans les zones semi-arides du Maroc.

L'étude épidémiologique des leishmanioses cutanées dans les provinces de Sidi Kacem et Ouezzane entre 1997 et 2012 a permis d'analyser l'incidence de la maladie, la répartition annuelle des cas de leishmanioses cutanées. Cette analyse a montré qu'il n'y a pas de répartition saisonnière car il n'y a pas de saison de prédilection et que la LC sévit toute l'année. La répartition par âge de la LC est significativement plus fréquente dans la tranche d'âge de moins de 9 ans et chez le sexe féminin, surtout en milieu rural. De même, une étude moléculaire a permis de différencier entre les trois espèces de *Leishmania* qui circulent au Maroc à savoir *L. tropica*, *L. infantum* et *L. major*.

**Mots-clefs (3) :** Leishmaniose, *Phlebotomes*, nord du Maroc.

### Abstract

Leishmaniasis is a parasitic infection, transmitted by the bite of infected female sandfly. In its skin form, leishmaniasis is a major public health problem in Morocco.

This work aims to know the sandfly species in the provinces of Sidi Kacem, Ouezzane, Taounate, Séfrou, Moulay Yaâkoub and Boulemane.

In this work, a bibliographic synthesis recalled some data on systematics, biodiversity, bioecology, geographical distribution, vector role and morphological criteria for identifying sandfly. Similarly, a bibliographical review of leishmaniasis and its pathogens provided information on the disease.

The commentary inventory of sandfly found in the six study provinces, showed the presence of two proven vectors of skin leishmaniasis: *Phlebotomus papatasi* vector of *L. major* and *Phlebotomus Paraphlebotomus sergenti* vector of *L. tropica*, in addition to the presence of 3 likely vectors of *L. infantum*, namely: *Phlebotomus Larrousius longicuspis*, *pirnisiosus* and *ariasi*. Only one species of the genus *Sergentomyia* has been collected: *Sergentomyia minuta*.

Analysis of the distribution of sandfly species showed that *P. sergenti* is the most abundant species followed by *P. longicuspis*, *P. papatasi*, *S. minuta*, *P. perniciosus* and *P. ariasi* in the last row, respectively.

Detailed entomological research at five outbreaks of skin leishmaniasis in Sidi Kacem province has identified specific diversity and tracked sandfly seasonal fluctuations in the outbreaks studied. This study showed the presence of these species from May to November and showed that they have a biphasic evolution with optimum density in September. Similarly, our work confirmed the wide distribution and high abundance of *P. sergenti* and *P. longicuspis* in the semi-arid areas of Morocco.

The epidemiological study of skin leishmaniasis in the provinces of Sidi Kacem and Ouezzane between 1997 and 2012 analysed the incidence of the disease, the annual distribution of cases of skin leishmaniasis. This analysis showed that there is no seasonal distribution because there is no preferred season and that LC is rife all year round. The age distribution of LC is significantly more common in the under-9 and female age groups, especially in rural areas. Similarly, a molecular study has differentiated between the three species of *Leishmania* circulating in Morocco: *L. tropica*, *L. infantum* and *L. major*.

**Keywords (3):** Leishmaniasis, sandfly, north Morocco.

Année Universitaire : 2020/2021