


## Azɔwa dó nǔ jǐ kpódó tito dó nǔ jǐ flebotomu lée tɔn kpó : alixlémewema e jí è dó gbè kpó dó é

Fano José Randrianambinintsoa<sup>1</sup>, Laure Augendre<sup>1</sup>, Jorian Prudhomme<sup>1</sup>, Jean-Philippe Martinet<sup>1</sup>, Mathieu Loyer<sup>1</sup>, Nalia Mekarnia<sup>1</sup>, Hocine Kerkoub<sup>1</sup>, Farzana Khan Perveen<sup>1</sup>, Antoine Huguenin<sup>1,2</sup>, Emilie Kariya<sup>1,2</sup>, Mohammad Akhoundi<sup>3</sup>, Andrey José de Andrade<sup>4</sup>, Eduardo Berriatua<sup>5</sup>, Gioia Bongiorno<sup>6</sup>, Sébastien Boyer<sup>7,8</sup>, Vasiliki Christodoulou<sup>9</sup>, Magda Clara Vieira Da Costa-Ribeiro<sup>10</sup>, Lucas Alexandre Farias de Souza<sup>10</sup>, Huicong Ding<sup>11</sup>, Blaise Dondji<sup>12</sup>, Vít Dvořák<sup>13</sup>, Ozge Erisoz Kasap<sup>14</sup>, Eunice Aparecida Bianchi Galati<sup>15</sup>, Montserrat Gállego<sup>16</sup>, Cristina Ballart<sup>16</sup>, Stavroula Gouzouli<sup>17</sup>, Nabil Haddad<sup>18</sup>, Rezki Sabrina Masse<sup>19</sup>, Asrat Hailu Mekuria<sup>20</sup>, Vladimir Ivovic<sup>21</sup>, Szymon Kaczmarek<sup>22</sup>, Mohd Khadri Shahar<sup>19</sup>, Oscar D. Kirstein<sup>23</sup>, Edwin Kniha<sup>24</sup>, Iva Kolářová<sup>13</sup>, Lincoln Timinao<sup>25</sup>, Cristian Lucanas<sup>26</sup>, Ognyan Mikov<sup>27</sup>, Kimsear Nov<sup>7</sup>, Yusuf Özbel<sup>28</sup>, Bernard Pesson<sup>29</sup>, Laura Cristina Posada Lopez<sup>30</sup>, Didot Budi Prasetyo<sup>1,7</sup>, Nil Rahola<sup>31</sup>, Eduardo A. Rebollar-Tellez<sup>32</sup>, Bruno Leite Rodrigues<sup>15</sup>, Lalita Roy<sup>33</sup>, Prasanta Saini<sup>34</sup>, Chizu Sanjoba<sup>35</sup>, Paloma Helena Fernandes Shimabukuro<sup>36</sup>, Padet Siriyasatien<sup>37</sup>, Agnieszka Soszyńska<sup>22</sup>, Tatiana Suleşco<sup>38</sup>, Massamba Sylla<sup>39</sup>, Majhalia Torno<sup>40</sup>, Petr Volf<sup>13</sup>, Khamsing Vongphayloth<sup>41</sup>, Vu Sinh Nam<sup>42</sup>, April Wardhana<sup>43</sup>, Eric Yessinou<sup>44</sup>, Sonia Zapata<sup>45</sup>, Jean-Charles Gantier<sup>1</sup>, and Jérôme Depaquit<sup>1,2,\*</sup> 

<sup>1</sup> Faculté de Pharmacie, Université de Reims Champagne Ardenne, UR ESCAPE-USC ANSES PETARD, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims Cedex, France

<sup>2</sup> Pôle de Biologie territoriale, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalo-Universitaire, 51092 Reims, France

<sup>3</sup> Parasitology-Mycology Department, Avicenne Hospital, AP-HP, Bobigny, Sorbonne Paris Nord University, France; Unité des Virus Émergents (UVE: Aix-Marseille Univ, Università di Corsica, IRD 190, Inserm 1207, IRBA), 13005 Marseille, France

<sup>4</sup> Parasitology Collection of Basic Pathology, Department of Basic Pathology, Federal University of Paraná, Curitiba 19031, Brazil

<sup>5</sup> Department of Animal Health, University of Murcia, Campus de Espinardo, 30100 Espinardo, Murcia, Spain

<sup>6</sup> Department of Infectious Diseases, Vector-borne Diseases Unit, Istituto Superiore di Sanità, 00166 Rome, Italy

<sup>7</sup> Medical and Veterinary Entomology Unit, Institut Pasteur du Cambodge, Phnom Penh 12201, Cambodia

<sup>8</sup> Ecology & Emergence of Arthropod-borne Pathogens Unit, Department of Global Health, Institut Pasteur, CNRS UMR2000, 75015 Paris, France

<sup>9</sup> Section Veterinary Services (1417), Laboratory for Animal Health Virology, Aglantzia, Nicosia 2109, Cyprus

<sup>10</sup> Insects Vectors and Parasites Laboratory, Department of Basic Pathology and Postgraduate program in Microbiology, Parasitology and Pathology, Federal University of Paraná, 81530-900 Curitiba, Brazil

<sup>11</sup> Department of Biological Sciences, National University of Singapore, 117558, Singapore

<sup>12</sup> Laboratory of the Leishmaniasis Research Project, Mokolo District Hospital, Mokolo, Cameroon; Laboratory of Cellular Immunology and Parasitology, Department of Biological Sciences, Central Washington University, 98926 Ellensburg, WA, USA

<sup>13</sup> Department of Parasitology, Faculty of Science, Charles University, 12800 Prague, Czechia

<sup>14</sup> VERG Laboratories, Department of Biology, Faculty of Science, Hacettepe University, Beytepe, Ankara 06800, Türkiye

<sup>15</sup> Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP), Pós-graduação em Saúde Pública, 01246-904 São Paulo, Brazil

<sup>16</sup> Secció de Parasitologia, Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona, & Institut de Salut Global de Barcelona (ISGlobal), Centro de Investigación Biomédica en Red, Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), 08028 Barcelona, Spain

<sup>17</sup> Laboratory of Infectious Diseases and Public Health, School of Medicine, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus & Department of Pediatrics, Archbishop Makarios III Hospital, Nicosia 2115, Cyprus

<sup>18</sup> Faculty of Health Sciences, American University of Beirut, 1107 2020 Beirut, Lebanon

<sup>19</sup> Medical Entomology Unit, Infectious Disease Research Centre, Institute for Medical Research (IMR), National Institutes of Health (NIH), Ministry of Health Malaysia, 40170 Shah Alam, Selangor, Malaysia

<sup>20</sup> School of Medicine, Addis Ababa University, 28017 - 1000 Addis Ababa, Ethiopia

<sup>21</sup> Faculty of Mathematics, Natural Sciences and Information Technologies, University of Primorska, 6000 Koper, Slovenia

Edited by Jean-Lou Justine

\*Corresponding author: [jerome.depaquit@univ-reims.fr](mailto:jerome.depaquit@univ-reims.fr)

- <sup>22</sup> University of Lodz, Faculty of Biology and Environmental Protection, Department of Invertebrate Zoology and Hydrobiology, Banacha 12/16, 90-237 Łódź, Poland
- <sup>23</sup> Laboratory of Entomology, Ministry of Health, 9134302 Jerusalem, Israel
- <sup>24</sup> Center for Pathophysiology, Infectiology and Immunology, Institute of Specific Prophylaxis and Tropical Medicine, Medical University Vienna, Kinderspitalgasse 15, 1090 Vienna, Austria
- <sup>25</sup> Papua New Guinea Institute of Medical Research (PNGIMR) Institute, PO Box 60, Headquarter, Homate Street, 441 Goroka, Eastern Highlands Province, Papua New Guinea
- <sup>26</sup> Museum of Natural History, University of the Philippines Los Baños, 4031 Laguna, Philippines
- <sup>27</sup> National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, 1504 Sofia, Bulgaria
- <sup>28</sup> Ege University, Faculty of Medicine, Department of Parasitology, 35040 Bornova/Izmir, Türkiye
- <sup>29</sup> Retired, Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg, Strasbourg, 67400 Illkirch-Graffenstaden, France
- <sup>30</sup> Program for the Study and Control of Tropical Diseases (PECET), Faculty of Medicine, University of Antioquia, 050010 Medellin, Colombia
- <sup>31</sup> MIVEGEC, Univ. Montpellier, CNRS, IRD, 34394 Montpellier, France & Medical Entomology Unit, Institut Pasteur de Madagascar, 101 Antananarivo, Madagascar
- <sup>32</sup> Laboratorio de Entomología Médica, Departamento de Zoología de Invertebrados, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, 66455, NL, México
- <sup>33</sup> Tropical and Infectious Disease Centre, BP Koirala Institute of Health Sciences, Dharan 56700, Nepal
- <sup>34</sup> ICMR-Vector Control Research Centre, Puducherry 605006, India
- <sup>35</sup> Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-8657, Japan
- <sup>36</sup> Grupo de estudos em Leishmanioses/Coleção de Flebotomíneos (COLFLEB/Fiocruz-MG), Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, 30190009, Brazil
- <sup>37</sup> Center of Excellence in Vector Biology and Vector-Borne Disease, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand
- <sup>38</sup> Department of Arbovirology, Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Bernhard Nocht Str. 74, 20359 Hamburg, Germany <sup>39</sup> Laboratory Vectors & Parasites, Department of Livestock Sciences and Techniques, Sine Saloum University El Hadji Ibrahima Niass (SSUEIN) Kaffrine Campus, C.P. 24600, Senegal.
- <sup>40</sup> Environmental Health Institute, National Environment Agency, Singapore 138667, Singapore & Department of Biological Sciences, National University of Singapore, 117558 Singapore
- <sup>41</sup> Institut Pasteur du Laos, Laboratory of Vector-Borne Diseases, Samsenhai Road, Ban Kao-Gnot, Sisattanak District, 3560 Vientiane, Lao PDR
- <sup>42</sup> National Institute of Hygiene and Epidemiology, 1 Yec-Xanh Street, Hai Ba Trung District, 100000 Hanoi, Vietnam
- <sup>43</sup> Indonesian Research Center for Veterinary Science, Indonesian Agency for Agricultural Research and Development, Ministry of Agriculture Republic Indonesia, Bogor 16114, Indonesia & Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Surabaya 60115, Indonesia
- <sup>44</sup> Laboratory of Research in Applied Biology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01 P.O. Box 2009, 00000 Cotonou, Benin
- <sup>45</sup> Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA), Universidad San Francisco de Quito (USFQ), 170901 Quito, Ecuador

Received 1 December 2025, Accepted 29 January 2026, Published online 3 April 2026

**Tinme** - Xota élo na alixlème ɖaxó ɖé dó lée è na w'azò gbòn bo na lé só kpódéwu flebotomu lée tóné ɖó nù jì gbòn é wu, bo afòɖiɖe éne ɖò taji tawun nú è na dó tunwun kanlin alokpa lée bo na lé tunwun nú e no don azon wá lée é, lobo na lé ɖè ye ɖó vo. É ɖó xó dó wlenwín tenme tenme e sogbe xá gle me kpódó nùgbéjéten kpó lée é jí. Alixlémewema ó hen nùkplóme lyengbe lyengbe lée jì dó lee e no cyán flebotomu lée gbòn é, lee è no w'azò dó ye jì gbòn é, lee è na só nù nú ye gbòn é, kpo lee è na hu ye gbòn é kpo wu (è no kplón me ɖó è ni hen ye dó te dó xúxú jì alò CO<sub>2</sub> é ní ma zan plodwí ó) gó nú wlenwín è na zán dó hen ye ɖ'ayi é, ɖi è ni hen ye ɖó fífi me, bo lé hen ye ɖó éthanol me. Nù só nú wujónú ɖé lée (avadoxwé, ta kpódó awa lée kpó) ɖò taji nú è na kpón ye ganji ɖò nùgbejenúme me, bo è tinme ɖò wema elo me. Xota ó lé xlé lee è no w'azò dó kpóndéwú lée wu gbòn é céɖécéɖé, ɖota jì ó lee é no wé ye gbòn kpódó hydroxydu potassium kpódó sin Marc-André ton kpán e. Wlenwín nú só ɖó nù jì tno no jlé fi vovo lée dó yedée wu, bo no tedé nùwukpikpé nukúnme ton yeton lée kpódó nùwukpikpé e ye ɖó bo na hen nú lée ɖó te é kpo jí. Hoyer sín sin (è no lé ylo ɖó gòmu chloralu) we è no kplón me ɖó è ni yawu zan dó kpón nú, ɖò taji ɔ, nú spermatéku, ɖó é no kón wutu, so lee è na hen nú hwenu gegè ä. Nù ɖevo e jí è ɖó xó dó lée é we nyí ahan syensyen polyvinyl ton, Euparal® (ɖó sin gege nó yi jì ä), kpodo balsamu Canada ton kpo (noten e no gba ɖó hydrocarbur me lée), bo we gudo ton ene lée no na nùwukpikpé bo è na hen nú lée ɖó te nú hwenu gegè. È lé ɖó xó dó wlenwín yoyó è è no zán dó kplón nú dó nù e nùdogbe



gbon Sanger sín wlenwín ó gblame, gó nú dide d'ayi e bo d'ewu é (sequencing-NGS). Égbé ó, è nò só gó nú wlenwín kédide nùvínúví lée tòn gbon wlenwín proteomiku lée di MALDI-ToF gblame. É dò mǎ có, è sixu bló bò è na mǎ nù je nù e nò dòn azon wá lée é wu gbon PCR (Leishmania, Trypanosoma, Bartonella, kpo Phlebovirus kpo) gblame, dò è sixu mǎ ye bǐ gbon PCR e nò wá vivonu é kpódó ee nò nyí hwenu jò hwenu é kpó gblame, bo nò byò dǎ è ni jla nù e è só d'ayi lée é dǎ [3]. Gó nú nu agbaza tòn e è nò zán dǎ aca me bo nò dè kanlin lée dǎ vo é ó, è sixu lé zán wlenwín agbaza tòn devo lée (é we nyí dǎ, wing geomorphométrie). É dò mǎ có, è dǎ na hen nù e me e wlan wema ó lée é mǎ kpón dǎ ayi me, bǎ nù e gbé nya we è dè é we nyí dǎ è ni na alixléme e sǎgbe lée é dǎ lee è na só flebotomu mexomǎ e nò nyí flebotomu lée é dǎ bo na lé wá nù xá ye gbon é wu, bo na dǎ sixu gbéjé nù lée kpón ganji.

Hudo e è dǎ bo na gbéjé nù dǎ lée kpón é (kpóndéwú ó, núnnywe xwitixwiti sín nù lée alǎ MALDI-ToF) byò dǎ è ni hen flebotomu ó sín akpáxwé dǎ d'ayi, bǎ é ma dǎ dandan nù è na tuùn lee é cí é á, bo nò tǎdǎ hudo e è dǎ bo na só tuto dǎ lée é jí.

Dò xota elo me ó, mǐ só ayi dǎ wlenwín e è nò zán dǎ dǎ anesthésie kpódó nuúfinfén kpó nú flebotomu e è wǐ dǎ gbè

**Tablo 1.** Xókwín e se sin xwe na lée.

lée é jí, lee è nò hen ye dǎ é kpódó lee è nò só ye dǎ nù jí gbon é kpó jí, bo na dǎ yawu tunwùn ye alǎ hen ye dǎ te nù hwenu gegè bǎ ene na zón bǎ è na kplón nù dǎ nukǎnme.

Nùjenukǎn tòn: Nù e è na gbéjé kpón dǎ ayijayí kpo sén lée kpo wu lée é dǎ na sǎgbe xá wema e kúnkplá ayijayí lée é (SDS).

È dǎ na zán plodwi e dǎ alixléme wena elo me lée é bǐ dǎ ninǎme ayijayí tòn syensyen lée gló. Wǎdǎgbé lanme na nò ganji kpódó ayijayí kpó tòn e dǎ dobanúnúten lée é dǎ gbesisǎme bo na na we nù e kúnkplá awovínú e nù ene lée nò dòn wá lée é kǎdǎ á, loó, ye na lé na we lee è na kpé nukún dǎ ye wu gbon é kpódó lee è na bǎ nù kwíkwíjí lée gbon é kpó. Amǎ, é dǎ dandan dǎ è ni xwedó wlenxi e kúnkplá lee è na zán ye gbon é kpódó lee è na bǎ ye nyí gbǎ gbon é kpó é. É dǎ taji nù wemaózantǎ dǎkpó dǎkpó dǎ è ni xwedó walo dǎgbe nùgbeje kpón tòn lée dǎ lée bǐ bo lé xwedó sén kpódó tuto e dǎ tò yetǎn alǎ tutoblonunu dobanúnú tòn me lée é kpo. Devo ó, è nò kpé nukún dǎ nù e nò hen nù gblé dǎ me wu lée (plodwi) é dǎ lée, alǎ nù e dǎ ye me lée é wu (é we nyí dǎ, chloral hydrate) dǎ tò dǎ lée me. È só xókwín e se sin xwe na lée dǎ alǎnuwema elo me lée é sín wǎma dǎ dǎ Tablo 1 me.

BME	Hǎnsuhǎnsu basal kpevi
CDC	Ten e me è nò kpé nukún dǎ azon lée wu dǎ é kpódó ee nò só nù d'ayi nù azon lée é kpó
CMCP	Kanfólu monoklorofenólu
CMR	Nù e nò dòn kanséezǎn wá é, nù e nò dǎ nù é, nù e nò vó nù gblé dǎ me wu é
COI	Wenhennú akpáxwé kpevi nukǎn tòn protéine c tòn e nò gba e
CytB	Wenhennú protéine b tòn
DNA	Nù e nò hen nù gblé dǎ wu nù me déoxyribonucléiques tòn
ELISA	Nù e nò dǎ xwi xá azon é ténkpón e cá kǎn xá enzyme é
EtOH	Etanólu
M199	199 dǎ tentin
MALDI-ToF MS	Laser e nò hen nù gblé dǎ me wu é/ionization hwenu e è nò j'ayi é sín spectrométrie
MEM	Xójlawema taji kpevi bǐ ó
NGS	Jijime yǎyǎ e bǎ d'ewu é sín tutome
NNN	Novi-MacNeal-Nicolle sín tenme
PCR	Nùwiwa polymérase tòn
Lao PDR	Togun to we nò só gan to we nò dǎ gan tòn kpàa Lao tòn
PNOC	Wenhennú peptide taglome tòn
qPCR	PCR dǎxó (PCR hwenu jò hwenu)
RAPD	ADN e dǎ alǎkpa gègè é e è jladǎ dǎ jlǎ jí é
RFLP	E dǎ alǎkpa gègè é gaga fénnú dǎ tòn
RI	Xókwín kpevi kpevi le sín wǎma
RNA	Asidu ribonucléiques
RNases	Ribonukleaz
RNASS	Nù e nò zón bǎ ARN nò nǎte é
RT-PCR	PCR e nò wlan nù dǎ wema jí é
TFA	Asidu trifluoroacétiqes

## 1. Flebotomu lée wliwli

È sixu wli flebotomu mexomɔ lée kplé gbede gbede alɔ kúkú tɔn gbɔn wlenwín vovo lée gblame ɔi CDC sín mɔ e nɔ hen weziza lée é, mɔ e nɔ té nù lée é, kpódó nùgbɔnnu lée e nɔ zán mɔ Shannon tɔn lée, alɔ gbɔjeten ye tɔn e ɔ dɔ ayikúngban ó jí lée é me (kpóndéwú ó, kanlin lée sín kpó me). Wlenwín ene lée we nyí ɔɔ è ni só mɔ lée ɔɔ fí e jexa lée é, bo dɔn flebotomu lée kpódó weziza alɔ nù ɔɔve e nɔ dɔn me lée é kpó (CO2 alɔ nù e nɔ dɔn me lée é), lobo xò ye kplé bo na dó gbéjé ye kpón d'èji, lee è tinme gbɔn ɔɔ wema gègè me é [2, 3, 32, 36, 49].

Enyi è wliwli flebotomu gbede lée nɔ zón bo è nɔ zán nù e ɔɔ dɔ lée é bɔ, loó e kú lée é kplékplé nɔ zón bo è nɔ sixú ɔɔ Leishmania alɔ azɔnkwín sín atínkwín lée ɔɔ vo á. Wlenwín e è nɔ zán dó wli nù lée é ɔɔ lée, ɔi wema e è nɔ té dó nù wu lée é nɔ zón bo è nɔ hen nù wujónú ɔɔ lée bú (zovi, bɛ, awa, alɔ afo) hwehwe. Gó na ó, wema e è só ami dó bló na lée é nɔ té dó flebotomu lée wu, bo è ɔɔ na ɔɔ ye sín ɔɔ azɔ ó sín bíbɛme, bo hwehwe ó, è nɔ zán ceju 15 sín dó kló ɔɔ éthanol kpódó éther diéthyl kpó e è xò kplé é me ɔɔ akpáxwé ɔɔkpó ó lée me.

## 2. é nɔ zón bo kpóndéwú le nɔ kú

Enyi è xò flebotomu e ɔɔ gbè lée é kplé gudo ó, è ɔɔ na hu ye. Kpódó wlenwín nùxixa tɔn ɔɔ lée kpó (kpóndéwú ó, wema e nɔ té lée é, CDC sín mɔ wezizano e me è só gannu e me nùsísó sín nù alɔ éthanol ɔɔ é ɔɔ dó é) flebotomu lée nɔ kú azɔn ɔɔkpó hwenu e è xò ye kplé é. È sixu zán nùnywe xwitixwiti sín nù lée dó me ɔɔ ɔɔ è xò kplé tɔlɔ dó éthanol me lée é jí, bo lé zán ye dó me ɔɔve lée jí, enyi è hen ye dó éthanol me b'è na yá lee é nyó bló gbɔn é ó ne. Amɔ, wlenwín mehuhu tɔn ene lée ɔɔ nɔ na gbè bo è nɔ zán MALDI-ToF dó wà nù dó nùvínúví lée wu á. Gó na ó, wlenwín mehuhu tɔn ɔɔ lée sixu zinzin dó bo ninɔme agbaza tɔn ɔɔ lée ji. Ene wu ó, é ɔɔ taji ɔɔ è ni zán nù e nɔ hu me é ɔɔ bo na dó tunwun í ganji alɔ e hen ɔɔ fí ɔɔ nù hwenu gegè ɔi kpóndéwú taji tɔn lée ɔɔhun (é we nyí ɔɔ, kpóndéwú e è hen ɔi ayí bo na dó sixu kpón alɔ jlé ye dó yedé wu ɔɔ sɔgudo lée é). Nù e nɔ hen nù gblé dó me wu lée (plodwi) é ɔi éthyl acétate, éther éthyl, tétrachloroéthane kpódó chloroforme kpó sixu byɔ avokanfún me, bo na só dó nù e me è nɔ yí flebotomu lée ɔɔ é ɔɔ me, bo na dó hu ye. È ɔɔ na kpé nukún dó nù e nɔ hu me lée é wu ganji, bo na xwedó aliɔnúme e me e bló ye é ɔɔ aɔi e ye nɔ hen wu. Amɔ, mí nɔ kplón me ɔɔ è ni zán klorofomu dó hu flebotomu lée á, ɔɔ ɔɔ nù e mí mɔ kpón lée é me ó, é nɔ sɔgbe xá nùkplónme nùɔgbe lée tɔn e nɔ nyí molekwilu é ganji á. Dó nù ene lée bí nɔ hen nù gblé dó me wu, bo è nɔ lé xò nù kpón dó lee ye sɔgbe gbɔn bo na gbéjé nù e ɔɔ mɔ ó me lée é kpón é wu ó, è nɔ gbé ɔɔ è ni ma zán nù ene lée ó. Wlenwín e è nɔ zán hugán, bo nɔ hen ɔi ɔɔ, ADN alɔ proteine lée ɔɔ te é we nyí ɔɔ è nɔ hen nù lée ɔɔ te xúxú tɔn. È ɔɔ na hen nù e è kpón lée é ɔɔ fifa nù hwenu gegè cobo è na bló bo ye na kú atli bí

mlémlé á, amɔ, é ɔɔ na nyí mɔ kaka bo ye na (i) xú, alɔ (ii) na hen nù gblé dó lee *Leishmania* sixu nɔ gbè gbɔn é wu á, enyi linlin ó we nyí ɔɔ è ni ɔɔ ye ɔɔ vo gbede sín adɔgbo flebotomu tɔn lée me ó ne. Ene wu ó, mí byɔ ɔɔ è ni bló bo ye na nɔ nùfanú me nù ceju 15 je 20 ɔɔ -20°C, bo na nɔ kpón ye hwehwe bo na dó tunwun ɔɔ ye kú tó kpowun, bo ma ka na hu nùvínúví *Leishmania* tɔn lée á.

Enyi è ma ɔɔ nùfanú ɔɔ á ó, è sixu hu nùvínúví lée gbɔn CO2 gblame. Dò ninɔme gle tɔn e me è ma sixu zán CO2 sín kófu lée ɔɔ á lée é me ó, è hen ó e na hu kpóndéwú lée gbɔn CO2 sín kófu ajówiwa tɔn kpeví kpeví e è nɔ zán ɔɔ 'Soda siphons' (ahan syensyen lée) me é gblame, amɔ, è sixu ɔɔ gbé hinhen ye gbɔn jɔhɔnme. Nù gudogudo tɔn e è sixu wà é we nyí ɔɔ è sixu hu nùvínúví lée gbɔn azɔ glaglá me ninɔ gblame. È nɔ wli flebotomu lée gbede gbede ɔɔ mɔ CDC tɔn ɔɔ me, bo nɔ xò ye kplé kpódó nùgbɔnnu kpó, bo nɔ hen ye dó kófu ó me, lobo nɔ só ye ɔɔ azɔ glaglá e nɔ hu ye ɔɔ ceju klewun ɔɔ me é me. Wlenwín ene nyó zán ɔɔ ninɔme gle tɔn lée bí me, é na bo tle nyí ɔɔ ninɔme e vewú bo è na ɔɔ me ɔɔ vo lée é me ó ne. Amɔ, ɔɔ azɔ glaglá nɔ gó kófu ó me wutu ó, è sixu zán dó xò flebotomu e ɔɔ gbè lée é kplé bo lé kpé nukún dó ye wu ɔɔ nukonme á, e nyí è ma kló ye ganji á ó ne. È ɔɔ mɔ cò, è sixu kpó ɔɔ nùgbɔnnu ɔɔkpó ó e è ma ko slá wú na á é zán we bo na dó hu flebotomu e ɔɔ mɔ ɔɔve lée me lée é, bo na dó hen nù lée ɔɔ te. È lé ɔɔ dandan ɔɔ è ni kpón ɔɔ è ko ɔɔ nù e è kpón lée é bí sín nùgbɔnnu ó me á jí. Wlenwín ene lée sɔgbe xá lee è nɔ ɔɔ Leishmania ɔɔ vo gbɔn xome ɔi ɔɔ tɔn gblame é.

## 3. Hinhen kpóndéwú lée ɔɔ te cobo wà azɔ ɔɔ ye ji

Wlenwín taji ene we è nɔ zán dó hen nù lée ɔɔ te cobo è nɔ wà dó ye ji :

### 3.1. Hinhen dó fifáme

Wlenwín ene nyó hugán bo è na zán ɔɔ -20°C abí e jló me ó ɔɔ -80°C. È nɔ zán wlenwín nùhinhénten tɔn ene lée ɔɔ din hú lee è nɔ hen nù dó azote sin men gbɔn. Dò ninɔme lée bí me ó, è ɔɔ na yawu bló nù e è nɔ ylo ɔɔ cryopreservation é hwenu e è ko blo bo kpóndéwú lée ko kú atli e. Nù hen dó nùfanúme ó nɔ wa ɔi ɔɔ bo nɔ hen nùvínúví lée glebu, gó nù ARN, ADN kpódó proteine lée kpó ɔɔ mimé jí bí mlémlé ɔɔ hwenu e è na hen nù ó ɔɔ é bí me é. Loó, azotu sín sixu hen awa lée, afo lée, alóví lée kpo húnví lée kpo gblé, bo hwehwe ó, é nɔ sen ye, bo nɔ lé ɔɔ nù taji e ɔɔ agbaza ó wu lée é sín hweɔelenu. Nù e è nɔ hen ɔɔ nùfanu xúxú me é nɔ dóya nù nùvínúví lée sɔmá á, amɔ, é nyó bo nù e na dó hen agbaza yetɔn sín wujónú e ma syen sɔmá á lée é ɔɔ te á. Nù taji ó we nyí ɔɔ hwenu e è na ɔɔ xúxú we é ó, awa lée, zovi lée, alóví lé, alɔ afo lée sixu té dó gannu lée wu bo é wá fén. Amɔ, è sixu hen nù lée ɔɔ fifá me hwebínu ɔɔ gle lée me á,

dó é nó byo dọ è ni dọ nuúfánú dẹ alò nù e me è nọ bé azotu sín sín dó é dẹ. Nù hen dọ fifáme ó sogbe bí mlémé xá nù e nọ don azon wá lée é dide gbón wlenwi núvídogbe ton gblame, é dọ mǎ có, è nọ hen nù e nọ hen nù gblé dó me wu lée é dọ kpó bo nọ lé dẹ ye dọ vo, é dọ mǎ có, nuúdíde kpódó nùde dó vovo kpó azonkwí ARN lée ton nọ byó nù hen dó fifá ji dọ -80°C alò dọ azotu sinno me, nú hen dó te nú hwenu gegě. Mǎ dọkpó ó, kpóndéwú lée dó fifáme é nọ zón bo è nọ dẹ Leishmania dọ vo gbón xomenú dide gblame á, afi nú è nyló flebotomu lée dó azizonú ó me je nukon, bo wá nyló ye dó azotu sinno ó me (dọ gannu e è só dó kófu me lée é me), bo nọ jlé lee è nọ hen Leishmania dọ te do johonú me gbón é.

**3.2. Nù hen d'ayi dó ahan me (éthanol alò ahan isopropyl)**

E we nyí wlenwín e è nọ zán hugán bo nọ hen flebotmu lée d'ayi e. É bawú bo è na zán dọ gle me, é na bo tle nyí dọ ninome vewú lée me bo è ma dọ nùgbéjéten dẹ á ó ne. Nù hen dó ahan me nyó tawun nú nùkplónme dó agbaza sín wujónú lée (awa lée, afó lée, zovi lée, alò alóví lée) nọ kpó dọ mǎ, enyi johon e nọ tón sín nù ó me é dẹ ma dọ nù e è nọ hen d'ayi é me á ó ne. Ene wu ó, e byo dọ è ni só avokanfún kpeví dẹ dó sú tuto ó na, bo na dó dẹ johon e dọ jí ton é bí sìn, lobo na lé só wuntun dẹ dọ avokanfún ó jí (dide 1gó ó). Ahan syensyen ó kpó dọ nù dindon nyí we. Dò kpaá me ó, è nọ kplón me dọ è ni ma hen nù e dọ 70% me ó [45, 66]. E syen lée é nọ hen ADN dọ te ganji bo nọ lé nọ ayí nú hwenu gegě, amó, é nọ zón bo nù e è kpón lée é nọ fén bo nọ lé zón nú nùkplónkplón dó lee ye cí é wu. Éthanol 96% (azeotrope mixture) zinzan nọ zón bo è nọ hen nù lée dọ te dọ hwenu gege, dọ taji ó, dọ fí e johon nọ ja dẹ lée é dọ tó e me johon nọ ja dẹ lée é, é dọ mǎ có, é nọ bókun hwehwe bo è na mǎ éthanol 95% á. É na bo nyí nù dẹbú we é na bo nyí ó, ADN nọ hen ganji dọ éthanol me (é dọ mǎ có, é nọ w'azó ganji hú wlenwín nufifá ton lée, dọ taji ó, nú wlenwín molekwilu NGS-type ton lée). Plotéinu lée nọ syen somó á, dọ taji ó, nú ploteomiques, dọ MALDI-ToF sín núwiwa lée dọhun. È sixu kpó dọ flebotomu e è hen dọ ahan me nú sun yoywe dẹ lée é tunwún we dọ lee ye cí é linu, amó, è sixu bló bo è na mǎ nù je nù e è nọ ylo dọ ploteinu é wu dọ nù ene lée me á. È sixu hen nù e è kpón é dọ ahan alò fí e xú dẹ é ganji, enyi è lé hen nù e è kpón é dọ -20°C jí ó ne. Fífá dọ -20 °C nọ zón bo è nọ hen nù lée dọ te (kpóndéwú ó, acide nucléique) bo nọ hen nù gblé é didekpo gblame, bo nọ lé na lè devo dẹ me e nọ hen nù lée dọ te é gbón nù e nọ hen nù gblé dó me wu lée é didekpo gblame dọ hwenu e dọ yiye we é me, é na bo tle nyí dọ nù e é nọ wá dó nù lée wu é hwe hú nù e é nọ wá dó nù lée wu é. È sixu lé zán nù e è hen dọ éthanol me é dó tunwún azonkwín ADN kpo ARN kpo ton hwenu e è dọ éthanol zán we dọ 70% mǎ me nú hwenu, bo é ma nọ bló sun yoywe dẹ á é. Gó na ó, ahan isopropyl sixu bókun bo è na mǎ dọ tó dẹ lée me, bo na lé hen ADN dọ te, amó, é nọ zón bo nù e è kpón lée é nọ syen. É nọ fyó éthanol dọhun á, ene wu ó, è sixu hen yí fí devo bo é na bowú. Enyi é byo mǎ ó, è sixu só flebotomu

e è hen dọ azotu sín me alò e xú lée é dó ahan me, bo mǎ me ó, è na xò nù nyanya e dọ wlenwín wè lée me é kplé.



**Dide 1gó ó.** flebotomu e è hen dọ éthanol me lée é.

**3.3. Nùhen dọ te dọ ARN sín sín me é (RNASS)**

È nọ ene e nọ dó nù ji é dọ fí gegě, é nọ hen nù gblé dó me wu á, bo è bló b'è nọ hen ARN dọ te bo nọ lé cyon aló wujónu yóyo lée. É nọ yawu byó kpódéwú lée me gbón ace hu nu RNases (enzymu e nọ hen ARN gblé lée é), bo mǎ me ó, é nọ bló bo ARN nọ gblé á, bo è só nọ dọ hudo hinhebé dó fifá me á. Nù e è nọ hen dọ RNASS me é nọ w'azó ganji dó hen wujónú léelée ye dẹ gbón e, bo na dó gbéjé lée ye dẹ gbón d'ayi e kpón. Hwenu e è bló bo RNASS nyó hugán nú ARN sín hlónhlón hú dọ è ni hen dọ te é ó, nù e è nọ hen dọ hwenu klewun dẹ je hwenu klewun dẹ me é nọ hen búniño e dọ tutoblonunu ó me é dọ te ganji. RNASS nọ zón bo è nọ hen nù e è kpón lée é dọ xome sín fifá jí kaka nú azán 7, dọ 4°C jí nú aklunozán gblame gegě, alò dọ -20°C/-80°C jí bo na dó sixu hen ye dọ te nú hwenu gegě. Wlenwín ene xó akwe tawun dọ azó e è nọ wá dọ gle me lée é alò dọ dotóoxwé lée me fí e è fifá ma dẹ á é. Hwéhwe ó, cobonu è na dẹ ARN tón ó, é nọ byo dọ è ni dẹ nù e è kpón lée é sín nù e è nọ zán dó gbéjé nù kpón é me, bo wá nù xá ye sogbe xá tuto e è só d'ayi lée é.

**3.4. Nùhen dọ te dọ johon nu yaya dó xúxú ji.**

Wlenwín xóxó dẹ we nyí ene, bo enyi è zán dó nù e è só dọ nù jí é dẹ jí ó, é dọ nù nyanya dọxó dọ wujónú e ma syen somó á lée hinhen dó te me, afó lée, hún lée kpo alóví lée kpo. É dọ mǎ có, nùkplónme proteominu ton e è zán MALDI-ToF dó bló lée é kpó dọ nù wá we, enyi è bló bo è dẹ sín sín agbaza me hwenu e è só nù e nọ xú nù é dẹ dọ te

é ó ne. Dò vogbingbòn me ó, nù gbéjé kpón molekwilu e no só ayi dọ ADN jí lée é kpó dọ vewù we bo è na wà dọ kpóndéwú ene lée jí, dọ hwéhwe ó, ADN ó kpó dọ finfén we bo lée dọ didekpo we, ene we nyí dọ nù gbéjé kpón kpó dọ wùve we hú kpóndéwú yoyó lée aló ee è hen dó fifá jí lée é, dọ taji ó, nú genomes nucléaire lée. É dọ mǎ có, è sixu zán wlenwín yoyó lée dọ museomics dó kpóndéwú alokpa ene jí [34]. Ene wu ó, è no kplón me dọ è ni zán wlenwín nùhénten tòn ene á, afi nú è ma mǎ wlenwín dọvo á ó ne. È sixu xò kplé xá nù e è no hen dọ fifá me é gbòn tuto lée dídó dó fifá dẹ me dọ -20°C aló -80°C jí gblame. Tagba taji ó we nyí dọ è ni kpéwú bo só nù e è kpón lée é aló agbaza sín wùjónú e dọ dandan bo è na tunwun ye lée é dọ ten e jexa é me. Bo na dó kpé ene wu ó, é dọ taji dọ è ni vó sín na ye. E byó dọ e ni zan Triton X-100 sín. Ganxixo e è no vó sín na me é no gbòn vo sín ganxixo klewun dẹ yi jí je azán gegě jí, bo è no dọ nukún kpé dó wù tòn we ganji hwéhwe. Enyi è vó sín ná nù e è kpón lée é bí mlémlé gudo ó, è dọ na kló ye dọ sin vovo atòn me.

### 3.5. Nùhen dọ te dọ wema e jí è no xò nù dó é jí é

Nù taji e dọ wema e jí è no xò nù dó é jí tòn lée me é we nyí dọ ADN génomique ó no no ayi nú hwenu gegě dọ agbaza ó bí sín kpóndewu e ma ko syen á, (agbazam blebu abí hun) e è hen dọ fifá jí lée é me. Wema e jí è no xò nù dó é bo dọ ninǎme kati kpeví tòn, bo ene no zón bo è no hen nùjledonùwu gege dọ gnavisín fifá me. È no só nù e no hen nù gblé lée é dó wema fitlu tòn ó me, bo mǎ me ó, è só no kpón kpóndéwú lée dó mǎ nù e no hen nù gblé dó me wu é dẹ á. Ene no zón bo è no hen nù e è kpón lée é bo no lé hen yí fí dọvo lée, bo no lé hen nù e è kpón lée é dọ mimě jí á [68].

## 4. Dide wujónú Kpóndewu ó tòn lée

Gbòn vo nú nùvínúví gegě dọvo lée è no tunwùn gbòn nù e dọ agbaza ye tòn tu bo è sixu mǎ dọ nùvínúví dọkpo dọkpo e è té dó tuto jí lée é gblame ó, flebotomu lée no byó dọ è ni dẹ wujónú ye tòn lée ye bo lé só ye dọ nù jí bo na dó kplón

nù dó agbaza yetòn wu, bo na dó tunwun nùvínúví alokpa ye nyí e ganji. Wlenwín dẹbù é só bo na dó sǎnù na abí bo lé ye só dọ lamu jí é ó, è no zán wlenwín wunjónú dide tòn dọkpó ó (dide 2 & 3)

(<https://zenodo.org/records/18198006>).

Triton X100 zinzan: sín e ma nyí ioniki á é

Dò ayi wu dọ nù dọ só dó nù jí ó kúnkplá kpóndewu è wlí yoyó lée é aló e è hen d'ayi ganji lée é. Me e no xò nù kplé lée é gegě no hen nùvínúví lée sín kpóndéwú lée dọ te bo ye no xú (bo na dó zán MALDI-ToF) aló no hen ye dọ ahan me nú xwè mǎkpan. É blawu dọ è kún sixú hen nù dó ahan me ganji nú xwè gegě ó, bo nù e è hen d'ayi gbòn mǎ lée no vewù tawun bo è na sǎnù nú ye bonu è na gbéjé ye kpón dọ nùgbejekpón sín lée me. Nù e no je hwéhwe é we nyí dọ alá e me è só kpóndéwú lée dó é no gblé, bo ene gudo ó, ahan ó no xú. Dò ninǎme wè lée bí me ó, mí dọ nù dẹbù bo na wà á, dọ kpóndéwú lée nó no ahan me nú hwenu gegě aló nó xú. Ene wu ó, linlin ó wá tón dọ è ni zán nù e nó hen nù xú lée é, bo ye ma nyí nù e no hen nù syensyen lée é á. Triton X100 dí sín e ma nyí ioniki á é dẹ (4-(1,1,3,3-tetraméthylbutyl) fenil-poliéthylène glycol linfín, aló t-oktilfenoksipolyetoxyéthanol, poliéthylène glikol tert-oktilfenyle birgent éther me ó, è no zán dọ fí gegě. É no zón bo è no bló bo nù e no do kló nuù na lée é kpó no gbòn me.

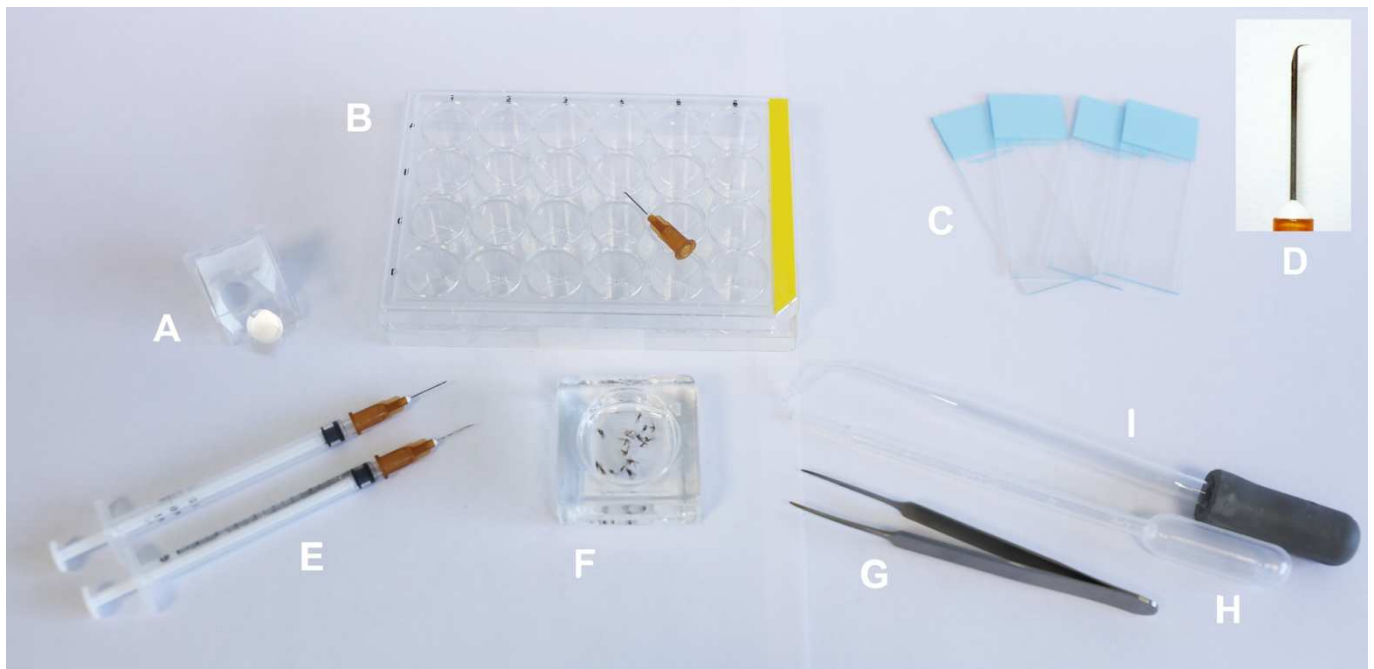
Dò dò ó, è no zán Triton X100 e ma nyí ioniki á é dọ sín 0,5% me:

- Mí kǎn ahan akú dó kpóndéwú xúxú ó jí.

- Mí kǎn é dó Triton X100 sín sín me dọ 0,5% e jexá e de jí bonu kpóndéwú ó bí na sixú fá,.

- Mí jo nu ó do bónú e no ayi nu ceju 5 mǎ nú azan gege, bo na no có e hwéhwe. Afó lée bí dọ na jevovo dọ sín ó me.

- Mí dẹ Triton X100 sín sín ó sín bo só sín hydroxyde potassiumu tòn do dọvo na.



**Diẹ 2g3 3.** Nũ e è na zán dó só flebotomu lée dọ nũ jí lée é: A: lamu e só go e sin toboo dó bló ná e (10 alò 12 mm dọ gblò mē); B: 24- pláki kpódó yenvi e xá dọ nu e kpó (enyi a zán amì atínken gba dọta tòn alò sensin Euparal® tòn dó w'azò dó flebotomu lée jí 3, ma zán plaki acrylique tòn lée ó dọ nũ e nò hen nũ gblé dó mē wu é dẹ na je bọ nũ e è kpón lée é na gblé); C: lamu go tòn e jexa bọ è na wlan nũ dó jí lée é; D: nütínme dó yenvi 3 sín nu ji. E: yěnyi e só dó yědónú nú e; F: kófú e mē è nò kpón gan dẹ é alò gannú é hen flebotomu e è na só dọ nũ jí lée é; G: Dumont sín nùhen nú; H: pipeti ala tòn; I: pipeti go tòn e fló zo do na dó dun sin do zen lée mē.



**Diẹ 3g3 3.** Plaki e mē dotó 24 dẹ é dẹ, bọ flebotomu lée sín ta kpódó adọgo yetòn sín nuvínu kpó dọ dọkpọ dọkpọ mē.

#### 4.1. Ta

È hen 3 e na dẹ wujónú lée kpódó yěnyi e wíní tawu kpó dọ stereomicroscopu gló (diẹ 2 & 3). Yěnví hugán lée é dẹ: 26G x 1/2" (0,45 x 13 mm), 30G x 1/2" (0,3 x 13 mm), alò 25G x 5/8" (0,5 x 16 mm). Nú e ná sónũ nú kpóndéwú 3 e dọ ná dẹ ta 3 sín adọgo 3 wu hwe bó ná só dó nũ jí agbónnusúxwedo kpanta aga cóbó síxú kpón cibarumu kpódó pharynx kpó, bọ akón kpódó adọgo kpó nò dọ akpáxwé lée jí dọ diẹ lée gudo. Enyi è só ta 3 dọ ten e mē è

nò bló ventro-dorsal dẹ é 3, é nò zón bọ è nò mọ dọ occipital foramen 3 dọ jí, ene wu 3, è sixu kpón cibariumu 3 tlolo. Enyi è só ta 3 dó vo 3, é nò bọwũ bọ è na mọ nũ je wujónu agbaza tòn lée wu.

#### 4.2. Awa lée kpódó akón kpó

Awa lée dọ na dọ tité. È sixu dẹ awa dọkpó dọkpó sín dò tòn nu bo só dọ nũ jí é dọkpón, alò è sixu só dọkpó dọ nũ jí , bo jó wego 3 dó akón wu. Enyi è dọ tuto bló wē bo na gbéjé nũ e dọ nũ jí lée é kpón 3, é dọ taji dọ è ni tunwun awa dísíxwé tòn kpódó amyaxwé tòn kpó ganji bo lé dọ wuntun ye jí cobo só nũ jí. È má akónnú 3 dọ akpáxwé gègè jí, bọ nũ wen e kúnklá nũ e è nò ylo dọ taxonomii é dọ dọkpọ dọkpọ mē [20, 64]. Dò kpaa mē 3, è nò só ε dó aja jí dọ nũ jí, bo na dó sixu gbéjé chetotaxie kpódó lee è nò má sinme lée gbón é kpó kpón.

Wuntun xá tòn dọ adọgo3 sín akpáxwé dẹ léen 3 zón bọ e nò tunwun jexlí alókpa dẹ lée dẹ *Brumptomyia* lée. È sixu zán sinme e è má é dó klán flebotomu Neotropicalu tòn lée dọ vo dọ hěnnu lée sín tinnme (kpóndéwú 3, *Bichromomyia*), hěnnu alókpa lée (kpóndéwú 3, *Pintomyia*), alò hěnnu dọkpọ 3 tòn lée (kpóndéwú 3, *Micropygomyia*, *Nyssomyia*, *Psathyromyia*, kpódó *Psychodogupy* kpó]. Ene wu 3, enyi è ma zán akónnú 3 dó gbéjé nũ kpón 3 3, è dọ na só dọ nũ jí kpódó yeyi kpó bo ma hen gblé 3. Nũ taji 3 wē nyí dọ è ni tunwun dọ é kún nyí lee sinme lée syen só é wē dọ taji 3, loó,

lee ye gbakpé gbɔn dɔ akɔn me é we dɔ taji. Ene wu ó, lee è na bló bo nú lée na dɔ wen gbɔn é na dɔ nú e dɔ jí tɔn é alɔ lee é cí é sɪn ǎ.

### 4.3. Avadonú lée

È dɔ na có medée tawun hwenu e è dɔ avadonú asú lée kpódó así lée kpó tɔn só dɔ nú jí we é, dɔ ye dɔ taji tawun bo na dó tunwùn hɛnnu lée, hɛnnu kpeví lée kpo kanlin alɔkpa lée kpo. Dò asú lée kpódó asi lée kpó me ó, avadonú lée nɔ dɔ kpó.

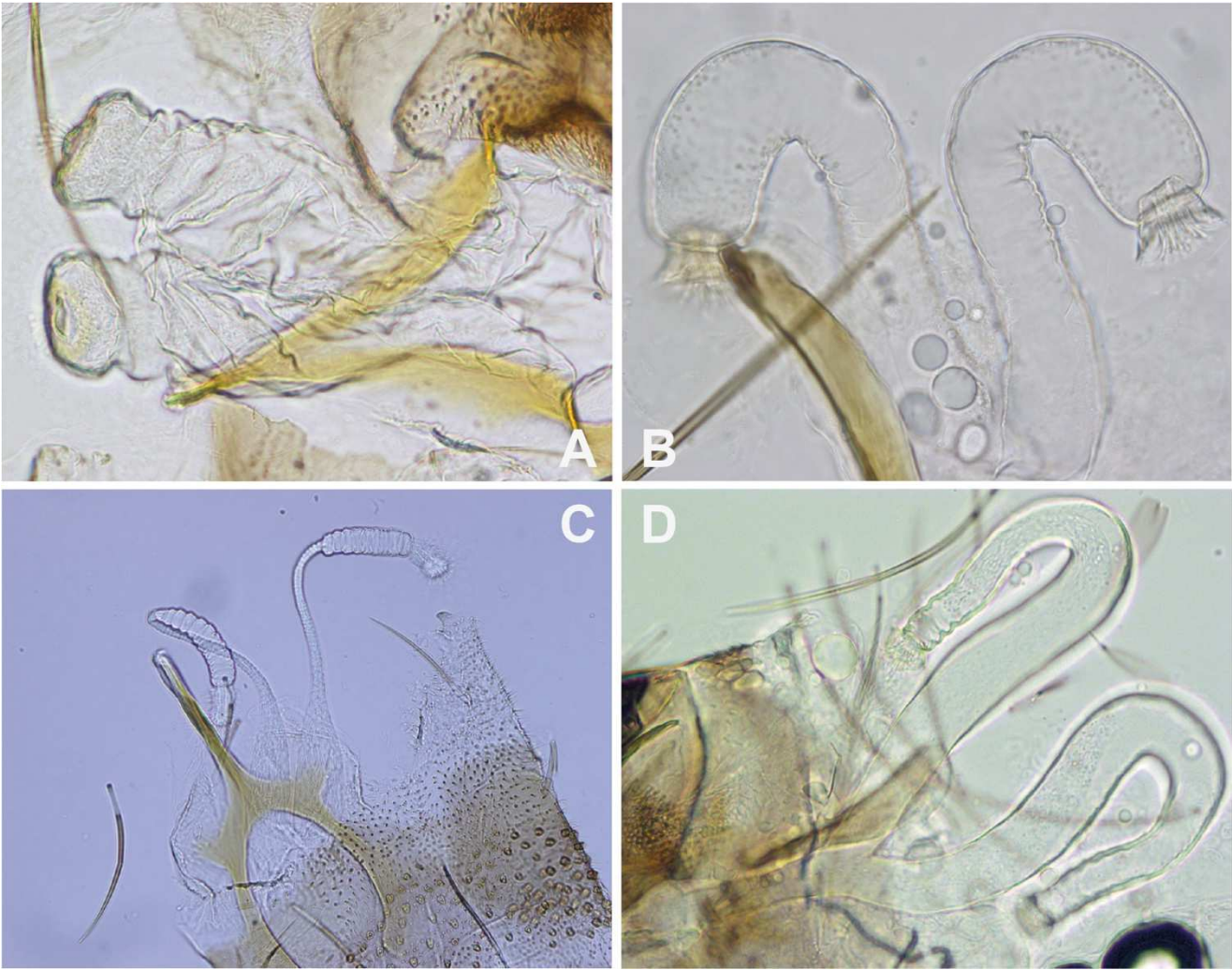
#### 4.3.1. Asú lée

Avadonú lée wexo bo dɔkpó dɔkpó nɔ dɔ gofléme gonocoxite-gonostyle dɔ nengbe, bo epandrial dɔ akɔn tɔn me. Gonostyle ó nɔ dɔ xú kpódó kpó hwedelenu, bo è dɔ na xà ye, bo fí e è nɔ só ye dó lée é dɔ na dɔ wexo ganji. È dɔ taji dɔ è ni kpón gonocoxite ó sɪn xome ganji, dɔ é sixu hen xú e nɔ nɔ ayí é dɔ alɔ dɔdɔ lobu (= tubercule) dɔ nɔ hen lée é [22]. Azɔgbé e ma ko dɔ jɔdómewu gege dɔ wujónú dɔdɔ me ǎ lée sixu bló nú e è nɔ só do aja jí é mɔ kpowu ǎ, ma dɔ avadonú lée sɪn adɔgo ó me (<https://zenodo.org/records/18311158>). Dò ninome ene me ó, akpáxwé avadonú asi lée tɔn wè lée e è só dɔ kpó é sixu zón bo é vewũ bo è na xà hũn e dɔ gonocoxitu ó me lée é, amɔ, ene nɔ zón bo è nɔ nyí alɔ nú nú e è nɔ ylɔ dɔ gonocoxitu é sɪn nú gblégbélé gbɔn wujónú dɔdɔ e è ma kpéwú bo dɔ ǎ é gblame. Azɔgbé e dɔ jɔdómewu gege lée é sixu tenkpɔn bo na ze avadonú lée dɔ wè, bo na má ye. Bo na dó kpé ene wu ó, è dɔ na só akpáxwé yɛnvi tɔn dɔkpó de me (nú e nɔ hen nú gblé dó me wu dɔ agbaza me é sɪn alɔkpa), bo ma na dɔ avadonú ma sɛn ye bí mlémlé, bo na

dó klán kpléklé gonocositu-gonostyle tɔn lée (<https://zenodo.org/records/18311158>). Mɔ me ó, nukúnme yetɔn e dɔ xome lée é kpinkpɔn na bɔwũ. Kpléklé ene nɔ lé zón bo è nɔ kpón paramée lée akpáxwé lée dɔ je dɔ gudó. Nú è na só nú lée dɔ akpáxwé, ee nɔ zón bo è nɔ só agbaza sɪn wujónú lée dɔ kpó é ó, è dɔ na dɔ kpɔndewu e è kpón lée é sɪn ganji.

#### 4.3.2. Avadonú asi lée

Avadonú ó dɔ xome, bo spermathecae we nɔ bló. Enyi è ma na dɔ wujónú lée ǎ ó, è dɔ na kpón ye gbɔn xú lée jí bo na lé só adɔgo ó dɔ nú jí dɔ aja jí. Nú dɔbũ e è na só dó nú jí é ó, è sixu kpón spermathecae ó dɔsu ganji dɔ kpa me, dɔ taji ó, enyi é ma cí mũ bo lé mé ǎ ó ne. Amɔ, enyi è kpón spermathecae e dɔ mũ bo fédé ó, é sixu nyí tagba dɔ nú e ma nɔ hen nú gblé ganji ǎ lée é me. Gó na ó, è dɔ na kpón dò e me spermateku lée nɔ tɔn sɪn é dɔ taji bo na dó tunwun kanlin alɔkpa lée, dɔ dɔ subenus Larrousius [35, 37, 38] me, ee nyí nú taji e nɔ hen Leishmania infantum wá dɔ gbè xóxó ó me é. Enyi è ma kpón nú ene ǎ ó, è sixu tunwun spermateku lée ǎ. Bo na dó dɔ nú kpínkpón sɪn tagba ene lée jí ó, è dɔ na dɔ fɛn e nɔ hen xú metɔn dɔ te é sɪn adɔgo me (<https://zenodo.org/records/18311106>). Hwéhwe ó, é nɔ vewũ bo è na mɔ spermathecae lée hwenu e è dɔ nú wujónú lée dɔ we é, amɔ, é bɔwũ tawun bo è na mɔ fí e è nɔ mɔ avadonú furca tɔn dɔ é. Dò spermatkue lée nɔ hun bo nɔ byɔ avadonú furca tɔn me wutu ó, furca éne e è dɔ dɔ vo é nɔ zón bo è nɔ dɔ spermathecae lée dɔ vo. Enyi è gbò spermathecae lée dɔ núwiwa ó hwenu dɔ manywe me ó, ye nɔ bú ǎ, bo è sixu kpó dɔ ye mɔ we dɔ adɔgo ó sɪn xú lée me (Dɔdɔ 4gó ó).



**Ɖiɔe 4g3 5.** È ɔe spermathecae bo só ɔó sín Marc-André tòn sín nũ yoy3 e è kp3n l3e é m3. A : *Idiophlebotomus longiforceps* (Togun to we n3 só gan to we n3 ɔu gan t3n kp3a Lao t3n) ; B : *Sergentomyia minuta* (France) ; C : *Phlebotomus ariasi* (France) ; D : *Sergentomyia anodontis* (Togun to we n3 só gan to we n3 ɔu gan t3n kp3a Lao t3n).

**4.4. È ze ad3vi kpevi bo na d3 ɔe Leishmania ɔ3 vo**

É ɔ3 taji ɔ3 è ni ɔe ad3vi l3e bo na d3 tunw3n Leishmania ɔ3 flebotomu asi l3e m3 bo lé ɔe è ɔ3 vo. É ɔ3 m3 c3, è sixu bl3 tuto 3 ɔ3 gle m3 kpo doban3n3t3n kpo m3, bo na d3 gb3j3 n3wukpikp3 n3henn3 t3n kp3n. È n3 kpl3n m3 ɔ3 è ni w'az3 d3 asi e è hu ɔ3 yoy3 l3e é jí. Kl3 asi l3e kp3d3 sin al3 j3 e m3 nũ e n3 kl3 nũ é ɔe ɔe é kp3 bo na d3 ɔe f3n e g3ng3n l3e é s3n. Af3 ene n3 d' al3 b3 è n3 hen nin3me ɔagbe l3e ɔ3 te nũ Leishmania sín, bo n3 lé hen nũ e ɔ3 agbaza m3 b3 è ɔ3 hudo t3n bo na d3 tunw3n 3 l3e é ɔ3 te. Bo na d3 m3 Leishmania bo ɔe é ɔ3 vo 3, è ɔ3 na ɔe ad3vi 3 sín xome ganji bo só d3 j3 e m3 è ma n3 m3 nũ je nũ m3 ɔe 3 é ɔkp3

m3 (0,9% NaCl). Enyi a kp3n n3v3n3v3 e n3 s3 ten l3e é ɔ3 n3gbeje m3 m3 gudo 3 (è kpl3n ɔ3 è ni bl3 b3 ye na nyi ɔax3 : ~200x), z3n insulinu sín j3 al3 pip3ti kpevi kpevi d3 só ye d3 nũ e m3 è n3 d3 n3k3n ɔe é m3 (nũ a na m3 tinm3 ɔevo l3e h3n, kp3n Wemata 4.4.3). S3 ta 3 kp3d3 avadon3 3 kp3 tl3l3 d3 sín Marc-André t3n m3 bo na d3 ɔe ye sín. Nu taji 3 : ma l3n gb3ɔe ɔ3 sin Marc-André t3n ni je Leishmania wu 3 – tl3l3 al3 ma nyi tl3l3 gb3n az3wan3 l3e al3 nũ l3e gblame 3 – ɔ3 é n3 hu n3v3n3v3 l3e.

È sixu ɔe flebotomu asi l3e d3 w3 jí ; linlin w3 l3e b3 w3 ɔ3 ɔagbe kp3d3 nyannya ye t3n kp3 (Ɖiɔe 5g3 3; <https://zenodo.org/records/18311154>).

Nũ e è nò zán dó wli Flebotomu le é (CDC)

Nuhuhu

**Afɔ 1gɔ ɔ**  
È fén dò jě e ma dó ví ă é mɛ



**Afɔ 2gɔ ɔ**  
È dè xomɛ ɔ dó vo dò jě e ma dó ví ă é mɛ



**Afɔ 3gɔ ɔ**  
È nò só xomɛ ɔ dó jě e ma nò hɛn nũ gblé dó mɛ wu ă é sín tò yoyɔ dè mɛ dò nũ e nò cyɔn nũ dó nũ jí é dè gló, bɔ é dó 22 x 22 mm



**Afɔ 4gɔ ɔ**  
Ta ɔ dídó dò ventro-dorsal kpo gɔflɛmɛ nyɔnu tɔn le kpo mɛ dó Marc-André sín tò dè mɛ dó 12 mm sín nũ e nò cyɔn nũ dó nũ jí é dè gló

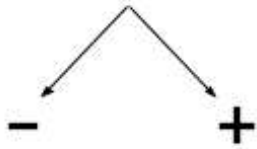


Dobanú *Leishmania*

Nũdɔgbɛ le sín mɔlekile

Dobibanúnũ

→ È sixu yawu vó só dó nũ e ma nò nò ayí kaka soyi ă é jí



- 1) Só dó jĩ/Sín dide
- 2) nũvinũvi dido

**Dide 5gɔ ɔ.** Wlɛnwín e è nò zán dó dè *Leishmania* dó vo é.

#### 4.4.1. Wlenwín ḍiđe wè t̄n

Nũ nuk̄ont̄n e è sixu wà é we nyí d̄o è ni w'az̄ d̄o lamu vovo wè jí : lamu nuk̄on t̄n ó seum physiologique bo ná d̄o d̄e ad̄ovi k̄pevi lée, b̄o wego ɔ na do só ta ó k̄pó spermathecae lée k̄pó d̄o s̄in Marc-André t̄n me. Am̄, d̄o nin̄ome gle t̄n lée me ó, é n̄o b̄owũ b̄o me wè al̄o me at̄on na x̄o flebotomu lée k̄plé bo na só nũ e ye x̄o lée é jó nú dobanún̄t̄o d̄okpo géé e n̄o k̄pé nuk̄ún d̄o n̄úkún-yiya s̄in nũ lée wu é k̄po lee è n̄o gbéjé Leishmania s̄in az̄on ó k̄p̄n gb̄on d̄o xome é k̄po. É d̄o m̄ co, Lamu we zinzin na vewũ b̄o è na d̄o tunw̄un k̄pódó j̄iđe k̄pó k̄p̄ndewu d̄okpo d̄okpó e me az̄on ó d̄e é, enyi è m̄o d̄o è hen xome d̄agbe d̄é wá ó ne (<https://zenodo.org/records/18311154>).

#### 4.4.2. Wlenwín lamu d̄okpo t̄n

Lamu d̄okpo zinzan n̄o z̄n b̄o è n̄o tunw̄un nũ e è m̄o lée é ganji. Am̄, è d̄o na có med̄ée d̄o nũ gègè me. Bo na d̄o sixu hu ad̄inú nũ lée ó, az̄owát̄o lée d̄o na n̄o kl̄o al̄o yet̄on lée hw̄ehwe k̄pódó j̄elu hydroalcooliku k̄pó. È d̄o na z̄an lamu e ma d̄o nũ jí à lée é k̄pódó lamu e è só k̄fú d̄o bl̄o na lée é k̄pó (22 x 22 mm) b̄o è só aluminium d̄o bl̄a ye na, bo só mȳo x̄úxú d̄o bl̄o b̄o ye na hen nũ gblé d̄o ye wu (è na z̄an mȳokán Poupinel t̄n d̄é), ḡó nú nũ e è ma n̄o hen nũ gblé d̄o ye wu à lée é nú lamu d̄okpó d̄okpó (linlin : 25G Ø 0,5mm x1). È n̄o só flebotomu ó d̄o serumu physiologique é d̄é me d̄o lamu ó tentin. È n̄o gb̄o ta ó hw̄enu e è d̄o f̄én d̄é gb̄o we d̄o tergites k̄pódó sternites k̄pó ad̄ogo t̄n 6ḡó ó k̄po 7ḡó ó k̄po tentin é, bo n̄o gb̄o nũ e n̄o hen nũ gblé d̄o me wu é à (è sixu gb̄o f̄én d̄axó d̄é enyi è d̄o nuk̄ún d̄o spermathecae gaga d̄é we ó ne). Ene gudo ó, è d̄o na só ȳévi d̄o d̄o hen ak̄ón ó d̄o te, bo na d̄on ad̄ogo ó s̄in akp̄axwé gudogudo t̄n e d̄o gudo lée é k̄pó ȳévi d̄evo k̄pó bo na d̄o d̄e ad̄ovi ó t̄n. Enyi ene gl̄o ó, è he n̄o e na só ȳévi d̄o sú ad̄ogo ó s̄in viv̄onu, bo na d̄on ad̄ovi ó s̄in akp̄axwé t̄n nuk̄ont̄n ó. Enyi ene l̄o lé gl̄o ó, è d̄o na d̄e ad̄ovi ó t̄n gb̄on nũ e k̄pó d̄o xome ó wu lée é s̄isó s̄in lee é nȳó bl̄o gb̄on é gblame. Enyi è d̄e ad̄ovi ó t̄n ó è d̄o na d̄e ad̄ogo ó s̄in akp̄axwé gudogudo t̄n lée d̄o vo gb̄on serumu physiologiques gblame bó ná só akp̄axwé d̄é d̄o lamu ji bó ná só akp̄axwe wego ó d̄o lamu k̄pevi ji. Ene gudo ó, è n̄o só ad̄ovi ó d̄o j̄e e ma n̄o hen nũ gblé d̄o me wu à é yoȳó d̄é me b̄o è n̄o só d̄o d̄iđe ó s̄in akp̄á d̄okpó, b̄o ene gudo ó, è n̄o só nũ e n̄o hen nũ gblé d̄o me wu é d̄é d̄o cȳon nũ ó jí bléblé. È n̄o só ta ó k̄pódó ad̄ogo ó s̄in akp̄axwé gudogudo t̄n lée k̄po d̄o s̄in Marc-André t̄n k̄pevi d̄é me bo n̄o só d̄o d̄iđe ó s̄in viv̄onu d̄evo, bo n̄o bl̄o b̄o Leishmania n̄o x̄o nũ k̄p̄n à. Ta ó d̄o ten t̄n me ganji (occipital foramen upwards), b̄o spermathecae lée n̄o d̄o vo k̄po avadonú furca t̄n k̄po lee è xlé gb̄on d̄o aga é, bo n̄o só nũ k̄pevi k̄pevi e n̄o cȳon nũ d̄o nũ jí é d̄é d̄o cȳon ye jí (Ø 12 mm, è ma vedó d̄o lamu k̄pevi e hua d̄i ná we ó). Nũ e k̄pó d̄o wut̄ on é k̄pódó awa t̄n lée k̄pó n̄o n̄o j̄e e d̄o k̄o me é do lamu ji é tentin (<https://zenodo.org/records/18311154>). Nú é nyí nũ d̄agbe, al̄o nú è na ba d̄o nú nũ d̄o taxonomie me ó, è sixu hen ak̄ón k̄pódó ad̄ogo k̄pó d̄o te nú n̄okpl̄onkpl̄on molekwilu al̄o proteomic t̄n, bo sixu só awa lée d̄o nũ e me sin d̄é é d̄é me. Bo na d̄o hen nũ e e só nũ ó d̄o te ó, è sixu d̄yo sin Marc-André t̄n e ḡóngón é k̄po nũ e n̄o hen só nũ ná e d̄o sin me é

d̄é k̄po d̄i chloral gum (=Hoyer) al̄o nũ e è só ahan syensyen polyvinyl t̄n d̄o bl̄o é d̄é k̄pó.

Yewunk̄onyidowu e xlé lée è n̄o wà nũ gb̄on é cé d̄écé d̄é lée é t̄in (d̄iđe ad̄ovik̄pevi Flebotomu t̄n: <https://zenodo.org/records/18303014> k̄pódó at̄an s̄in gojiblanú lée d̄iđe k̄pó: <https://zenodo.org/records/18302850> k̄po), ene wu ó, è na tinme ye d̄o f̄i à.

#### 4.4.3. Leishmania s̄in n̄úvínúví lée d̄iđe d̄o vo k̄pódó n̄úkúnyiya ye t̄n k̄pó s̄in flebotomu lée xome me

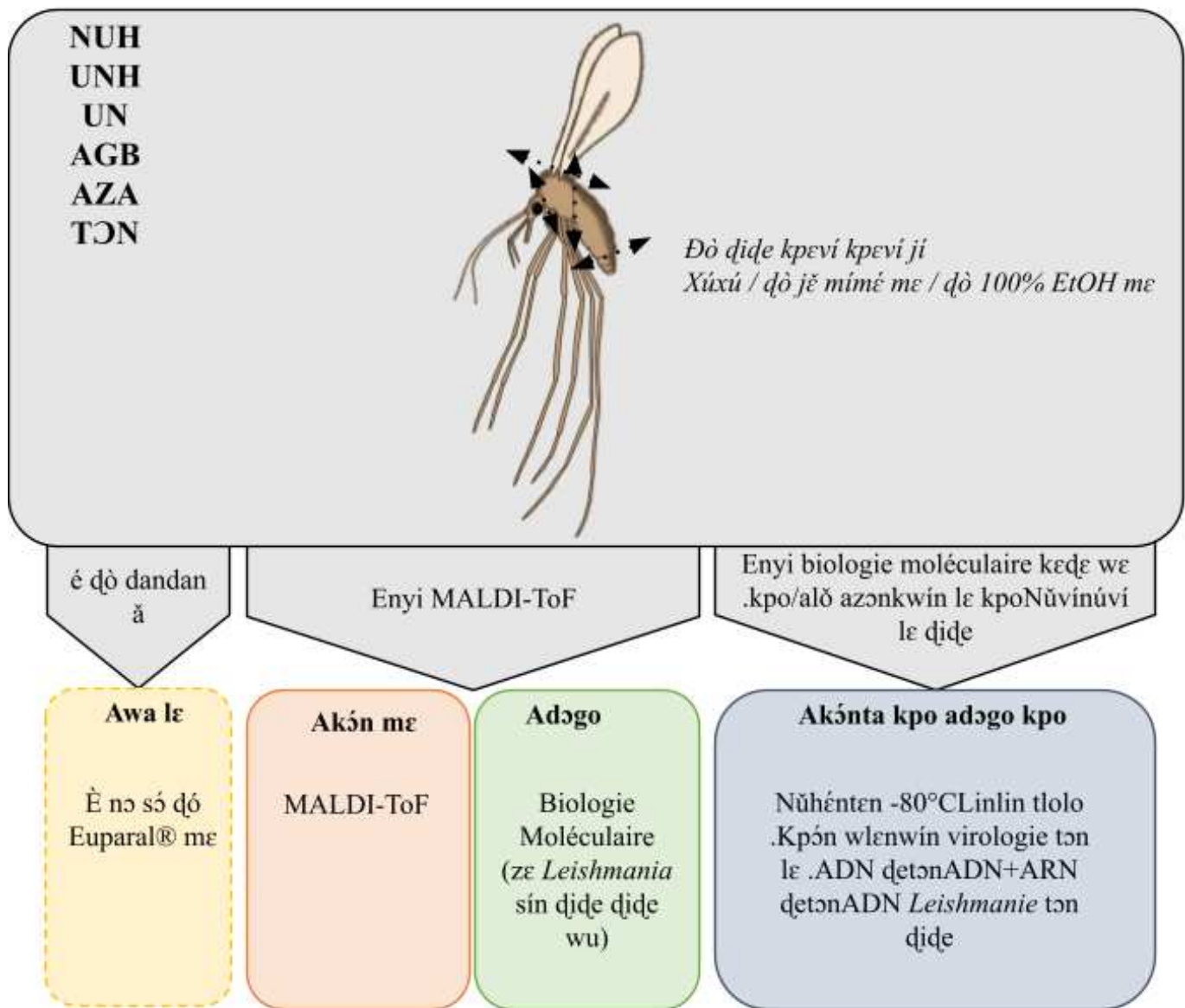
Nũ e n̄o bȳo n̄unywe d̄axó é d̄é we nyí d̄o è ni d̄e n̄úvínúví lée d̄o vo d̄o flebotomu asi e è hen az̄on ó lée é me, b̄o è d̄o na bé d̄o n̄úvínúví e me n̄úvínúví ma d̄é à lée é jí. Enyi è ze ad̄ovi ó gudo ó, è n̄o só d̄o j̄e e ad̄i ná e me (0,9 %) al̄o Locke's sin me bo n̄o kl̄o [4]. É d̄o m̄ có, è sixu gbéjé ad̄ovi e è ze lée é k̄p̄n d̄o ali wè nu : i) è na gbéjé ye k̄p̄n d̄o n̄ugbejekp̄om̄o ɔ gl̄o bo na k̄p̄n akp̄axwé vovo e d̄o Leishmania promastigotes me lée é k̄pódó f̄i e ye d̄é é k̄pó, bo na d̄o ayi valve stomodeal t̄n ó wu tawun, II-) e na na ze ad̄ovi ó bo na d̄o bl̄o b̄o promastigotes lée na t̄n bo na bl̄o b̄o è na kpl̄ón nũ ye [4]. É d̄o m̄ có, è n̄o m̄o flebotomu e n̄o hen az̄on wá lée é d̄o gle me à, b̄o ene wu ó, az̄owiwa d̄agbe lée na z̄on b̄o è na d̄o med̄ée d̄o vo ganji. Enyi è m̄o n̄úvínúví Leishmania t̄n lée d̄o ad̄ovi ó me ó, è d̄o na z̄an yenví yoȳó e hu ad̄i lée é, bo na lé só d̄e do serumu physiologique lé lé d̄o lamu ó bó na d̄o jó ye do. È d̄o na ze ad̄ovi ó ganji bo na yawu tlé bo na d̄o d̄e n̄úvínúví lée t̄n d̄o j̄e ó me. Mi ze pipéti k̄pevi 100 µL al̄o tuberculine s̄in j̄e d̄o x̄o n̄úvínúví lée k̄plé bo d̄o j̄e d̄o n̄úkúnyiya s̄in nũ e è wlan nyik̄o t̄n ganji é d̄é me.

É d̄o m̄ có, è n̄o hen n̄úvínúví e è d̄e d̄o vo lée é d̄o SNB-9 s̄in hun agar slopes jí al̄o d̄o Novy, Mc Neal, Nicolle (NNN) s̄in nũ syensyen d̄é me [16] b̄o è n̄o só nũ alfa-MEM e hu ad̄i e [16, 65] al̄o nũ e è n̄o yl̄o d̄o M1909 é d̄o ḡo na. nyibuví e d̄o xome é s̄in hun e hu ad̄i na e [FCS] (bo na d̄o bl̄o b̄o n̄úvínúví lée na s̄u d'èji), vitaminu BME 1%, ad̄o gbet̄o t̄n e hu ad̄i na e 2% (è n̄o z̄an Filtropur® S 0,2 µm ma d̄o ad̄i), amikacine 250 µg/mL (al̄o antibiotiques 50 µg/mL amiglucicine, 200 mM-penicillin 10 000 U-streptomycin 10 mg/mL) [47] Az̄an at̄on gudo ó, enyi nũ kwijikwiji d̄é ma d̄o fine à ó, è n̄o só n̄úkún lée d̄o f̄i e è sonũ na ganji é d̄é me, b̄o ene gudo ó, è n̄o hen ye d̄o -80°C jí nú xwé 1 je 2 d̄o f̄i e è n̄o hen n̄úkún lée d̄o é nú xwé 1 je 2. è n̄o z̄an d̄o nũ t̄n k̄p̄n me [7].

#### 4.5. At̄an s̄in ḡojiblanú lée

Zize at̄an s̄in ḡojiblanú flebotomu lée t̄n nyi wlenwin taji d̄e d̄o dobanún̄ d̄o n̄úwiwa az̄onkw̄in-hennú t̄n, d̄o taji ó, bo na do m̄o arbovirus d̄i Phlebovirus (e.g., Toscana virus) [44, 75]. D̄o flebotomu lée s̄in ga k̄pevi k̄pevi wutu ó,





Dide 6gọ ó. Azowanu flebotomu tón nú biologie moléculaire, proteomique, kpo/aló virusologie sín azó lée kpo.

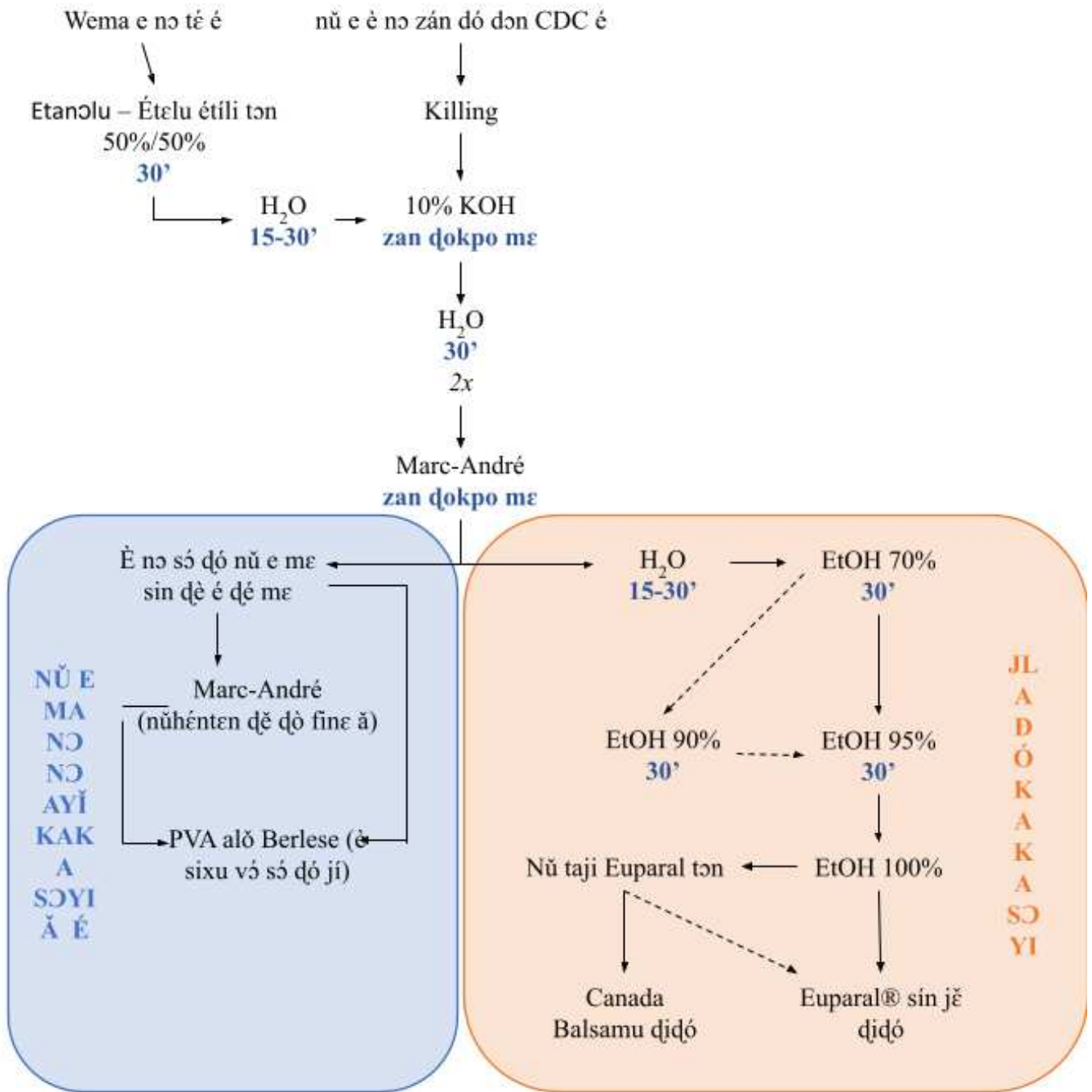
### 5. Azówiwa kpóndewú lée ji nú nùkplónme dó agbaza ssín nù lée (dide 3, 6, 7 & 8; Akpáxwé 1, 2, 3 & 4)

Akpáxwé elo tinme nùgbododó e e è na zán dó sònú nú kpóndewú flebotomu ḍé tón bo na só dọ nù jì nú nùkplónkplón dó lee nù lée ḍé gbón é keḍe wu é, bo ene gudo ó, è na bló bo é na sògbe xá lee nù lée cí é wu é. Amó, nukúnnumojenùme dó wlenwín ene wu dọ taji tawun, dọ é nọ zón bo è nọ ḍyo tuto lée nú kpóndewú alókpa tawun tawun lée hwenu e é byọ dọ é.

Nù e è nọ wà dó gbo azon nú me é we nyí ḍọ è ni ḍé nù e ḍọ me wu lée é sfin bo lé gọ ye me, bo nọ zán pipettes Pasteur e è só kólu e nọ hen nù cí mǎ é dó bló na lée é. È nọ kplón me tawun ḍọ è ni zán gannu e me è só kófu dó bló bo dọ tón ḍọ xò é, ḍọ ye nọ zón bo azó ene lée nọ bókun tawun. Go nọ ḍí xwi xá nù e nọ hen nù gblé dó me wu lée é bí ǎ. Bo na dó bló bo nù e è nọ zán dó gbéjé nù kpón na lée é ma wá xú ó ó, è ḍọ na só nusú dó gannu lée jí, bo ma na gọ ye ze xwé wu gbedé ó, bo enyi è sú ye e aló hun ye ɔ, ye na góngón, bo na lé bló bo kó ma na je nù e è kpón lée é jí ó. Nù e è nọ zán dó ḍé nù lée sfin bo nọ lé wà nù dó ye wu lée é ḍọ tablo 2 me.

**Tablo 2.** Nũ e è nɔ zán dó bló nũ lée é sín kplékplé.

<b>idròksidi potasiyomu tòn 10%</b>	<b>Fuchsin acide 1% dõ sin e è hu ace na é</b>
Hidròksidi potasiyomu tòn 10 g	Asidu fuchsine (dõ linfin me) 1 g
Sin dĩa qş 100 mL	Sin e è hen xúxú é 99 mL
<b>nũsúnsúnnú chloral kpó e (Hoyer médium)</b>	<b>Marc-André sín sìn e è só fuchsin acide dó bló na é</b>
Sin e è hu ace na é 50 mL	Marc-André sín sìn 10mL
Klolu sín sìn 200 g	Fuchsin 1% 50 µL
Nũsúnsúnnú arabe 50 g tòn	
Glicérol 20 mL	
<b>Marc-André sín xósin</b>	<b>Enecê tɛntin</b>
Klolu sin 40 g	Kolofoni wewé akú 22 g
Acide acétique glaciale 30 mL	Gomme copal soluble dans l'alcool 12 g
Sin e è hu ace na é 30 mL	Éthanol absolu 20 mL
	Kanfó 10 g
	Terpentin sin 10 mL
	Eukaliptolu 26 mL



**Điđe 7gó ó :** Wlenwín hwexónu tòn e è no zán dó wà nú xá flebotomu lée é.

### 5.1. Fúđenú nú

Cobonu è na sònú nú kpòndéwú flebotomu lée tòn lée dó só ye dó nú jí jí kaka sóyi ó, è òó na òè ye òó mimě jí gbòn wlenwín e sògbe é òè kpódó nú e no slá wú nú ye é kpó gblame (é we nyí òó, acide acétique 10% sín sin alò Marc-André sín sin e mē chloral hydrate òè é, ee nyí plodwi e è òó dogbó na òó tò gègè mē é òè) bo na dó bló bo ye na kón. Wlenwí ene nó òè nú e òó agbaza mē lée é, jò, nú e no tón

sín agbaza mē lée é kpó jě kpó, bo no zón bo nú e è kpón é no kón, bo no zón bo è no gbéjé wujónú lée kpón (kpòndéwú ó, è no só fún dó mē), nú e òó wexo lée é (kpòndéwú ó, sinmē) kpódó nú e òó xome lée é kpó bo è no mō gbòn xú ó jí (kpòndéwú ó, spermathecae).

Wlenwí ó òó we jí, nukòtòn ó no zan “hydroxyde de potassium”, bo na lé zán acide e ma syen sòmò á é òè (òè acide acétique òó Marc-André sín sin mē), bo na dó wà nú

vovo lée dō nū e è nō ylo dō biochimie é me [74]. Nū e dō dō é nō gbà agbaza e fēdē lée é, dī proteine lée, ami lée kpó xú lée kpó gbōn ađi dīdō kpódó proteine lée sín dīdē kpó gblame, bo nō jó xú e dō kóxota é dō bō é nō dō wen. Asidu e ma dō hlōnhlōn sōmō ā zinzin bō d'ewu nō hu ace nū nū e dō dol ée bī, bo nō glōn ali nū nū e ko dō ayī lée nū ye ni gblé d'ejī, lobo nō lé bló bō chitine ó nō cí wēwē bo nō zōn bō nū lée nō kón [74], é dō mō cō, enyi è kló nū e è kpón lée é azōn wē dō sīn e è hen xúxú é me nū ceju 15 ó, é sixu lé kpé bo na hen nū e dō dō é gblé. Nū ene e è nō wà dō tuto jí é nō xò nū e dō agbaza me lée é sísó sīn ganji, bo nō lé hen nū lée dō te kpódó wubibō kpó, bo nō zōn bō è nō hen nū e è kpón lée é dō mimē jí ganji bo na dō gbéjé ye kpón dō nū kpeví kpeví lée me. È dō dō è ni kló sīn mime nū ceju 20 cobo yī akpáxwé e bō d'ewu é jí.

### 5.1.1. Hinhen lanti agbaza e fá lée tōn xú (Điđe 8gó ɔ)

Hydroxyde sodium (NaOH) alō potassium hydroxide (KOH) wē nyí nū e è nō zán dō bló dō xú nū lée é, bō è nō zán ye dō hlōnhlōn vovo me, bo nō lé zán nū hwenu vovo sōgbe xá ga e nū e è kpón lée é dō é kpódó lee ye syen só é kpó. Wlenwín e è só d'ayī bo lé nyó hugān é wē nyí dō è ni hen lanti e fá lée é xú gbōn flenotomu lée bibē dō sīn syensyen dē me (10% KOH alō NaOH) dō zān dōkpo gbla me. È sixu ná hlōnhlōn d'ejī bo na dō dē hwenu e è na zán dō wa azō dō ye jí e kpò (é wē nyí dō, KOH 20% nū ganxixo 6) bo na lé bló bō é na xō zo dō 37°C jí.

### 5.1.2. Nū hen dō mimē kpódó sinme kpó alō nū ma dō sinme kpó

Afōdīdē ene gudo ó, è nō bló nū lée nō mé, bō è nō xò acide acétique kpódó chloral hydrate kpó kplé (kpóndéwú ó, Marc-André sín sīn). Enyi è kló nū lée gudo ó, é dō na kló ye ganji dō sīn e me, bō dōkpó dōkpó na nō xō ceju 20, bo na dō dē nū e kpò lée é sīn. Marc-André sín sīn ó, nū e è nō zán dō dē nū lée dō mimē jí é dē wē bo nō sōnū nū kpóndéwú flebotomu lée tōn. Nū e é nō wà é wē nyí dō é nō zōn bō è nō dē nū lée sīn, bo nō lé dē nū e nō hen nū gblé dō nū wu lée é, dī awa lée kpódó zovi lée kpó wu é kpò. È dō na hen sīn ó dō gannu e è sú ganji é dē me, bonu é ma wá xú alō gblé ó. É nō hen lè wá tawun hwenu e è nō zán wlenwín Marc-André tōn lée zinzan dō bló bō nū lée nō kón alō nō kón nū lée é, bo na dō bló bō nū tawun tawun e dō agbaza me lée é na nyó kpón. È tinme nū e è bló é kpódó lee è sōnū na gbōn é kpó dō nūzégónúnū 2gó ó me. Nū nū e nō kón tawun lée é ó, é sixu byō dō è ni dō nū dō ye jí bonu é na dō sixu mō nū ganji cobo na só ye dō nū jī. Nū e nō hen nū gblé dō me wu lée é gēgē tīn, bō dōkpó dōkpó nō só ayī dō nū e dō nūdōgbe ó me lée é jí. É dō taji dō è ni cyan nū e sōgbe xá nū e è kpón é kpódó nū e è só bo na só dō nū jī é kpó é. È sixu dyo wlenwín taji ene lee é byō gbōn é, dī kpóndéwú ó, è sixu só fuchsin acide 0,1% dō Marc-André sín sīn me bo na dō hen

nū dō nū jī. Đevo ó, nū e è hen d'ayī dō sīn me bo só dō nū jī nū nū e è só jē dō bló na lée é nō byō dō è ni dē sīn sīn ye me (kpón Akpáxwé 5.2gó ó dō Nū E È Nō Sós Dós D'ayī É Wu), dō nū e è nō só jē dō bló na lée é gēgē nō sōgbe xá sīn ā. New (1974) dō dō nū kwijikwiji dē lée sixu gblé dō nū e è nō só dō nū jī lée é dē lée me [53]. Đi kpóndéwú ó, è sixu lé hen fuchsin acide e è nō zán hwehwe xá balsamu Canada tōn é dō Euparal® me. Amō, nū e è só acide fuchsin dō bló na lée é nō yawu xú, dō taji ó, hwenu e ami e è nō zán dō dē nū lée dō mimē jí gudogudo tōn ó é sīn nū e kpò lée é kpò é. Nū e è hen dō kófu sīn ami me lée é sixu xlé dō emi dō dīdēkpo wē tawun dō azān yōywe dē gudo.

## 5.2. Sinxwíxwí sín lanme

È nō bló bō è nō dē sīn sīn agbaza me gbōn nū e è só d'ayī lée é dīdē d'ayī kpeđé kpeđé gbōn jē e è só éthanol dō bló é dē gblame : 50%, 70%, 80%, 90%, alō 95% bō gudo me ó, 100%, bō wūsláslá dōkpó dōkpó nō dū ceju 20 mō. Đó éthanol nō yawu xú wutu ó, é dō na sú gannu ó ganji hwenu e è dō azō wá wē é. Enyi sīn ko xú dō nū e è kpón é me bī mlémlé ó, è sixu dō azō ó te nū azān yōywe dē dō Euparal® essence me, ee nyó hú ami clove tōn é. Beech creosote e è nō zán dō fī gēgē d'ayī nū nū ene é ó, è ko gbé bī mlémlé đin dō ađi é é nō hen me gblé é wu.

Nū e è nō wà bo nō dē sīn sīn lanme é dō na bló bō sīn e dō kpóndewu ó me é na sōgbe xá nū e è só dō nū jī é, bo na dō bló bō è ma na mō nū je nū me ā, è ma na hen nū gblé dō me wu ó, alō è ma na hen nū gblé dō kpóndewu ó wu ó.

## 5.3. Nūhennu nū e è nō só dō nū jī lée é tōn

5.3.1. Nūcyancyan kpódó Nūwiwa kpó nū nūsisó nū kpóndéwú lée

Nū e è nō só dō nū jī é dō na dō hlōnhlōn e sekpō kófu tōn lee é nyó bló gbōn é, é wē nyí 1,5 mō. É dō na dō sinme dē ā, bo na nō kón, bo na nō kón bī mlémlé hwenu e é xú gudo é kpódó hwenu e é na wá yī é kpó. É dō na sōgbe xá nū e è zán lée é, bo na lé kpéwú bo na byō nū e è kpón é sīn xú lée bī me bo na lé gbakpé. É dō na yawu xú dín alō bló ahún dē dō nū jī yiyi hwenu ā. É dō ná xú hwenu e è só dō nū jī é ā. Nū taji dē wē é nyí dō è ni cyan nū e è na só dō nū jī é dē, dō nū dōkpó géé kún nyó nū nū lée bī ó. Nū taji gēgē wē é dō na só dō jlé jí :

- Ninōme wekpén tōn lée. É dō na hen nū taji e dō agbaza me lée é dō ayī me, dī spermathecae, ascoides, Newstead sensilla, ađu cibarial vertical, kpódó ađu pharyngéal kpó. Nū e è nō mō dō nū ene lée me é nō sīn nū e è nō só dō nū jī é wu tlobo.

- Nũ hen d'ayi. Nú è na dɔ xó dó kpóndéwú alokpa léé tɔn alò nũ e è só dɔ te nú nũ e è na xò kplé kaka soyi léé é jí ó, nũ e è na zán é dɔ na nɔ na hlɔnhlɔn e na nɔ ayí nú hwenu gegě é kpódó ee na nɔ ayí kaka soyi é kpó. É dɔ mǎ có, nú nũkplɔnme nú léé tɔn alò nũkanbyɔ azon léé tɔn, fí e è ma nɔ hen nú léé dɔ te nú hwenu gegě dè à é ó, nũ e è nɔ só dɔ nú jĩ nú hwenu klewun dɛ alò nũ e nɔ nɔ ayí nú hwenu klewun dɛ léé é sixu kpé.

**5.3.2. Dandanmenũ e è byɔ dɔ nũ e è nɔ só dɔ nú jĩ léé é sin nũhennu sí é**

Hwehwe ó, nũnywetó léé nɔ bló wlenwín e è só dɔ meɖesuno jí bo lé vewũ é, bo ye nɔ sɔgbe xá hudo dobanúnũ tɔn tawun tawun ó. Amǎ, wlenwín ene léé nɔ won nú elo léé hwehwe : lee nú e è hen d'ayi léé é nyó só é, lee ye na sɔgbe gbɔn é, alò lee ye na bɔwu bo è na zán ye gbɔn é kpódó lee ye na hen nú léé dɔ te nú hwenu gegě gbɔn é kpó. Nũ ene e è ma nɔ bló dɔ jĩ é jí à é nɔ zón bo nú e è xò kplé bo è na léé é kpódó gǎn e è dó bo na kpé nukún dó ye wu nú hwenu gegě é kpó nɔ vewũ.

Nũnywe xwitixwiti sín nú léé nɔ byɔ nú vovo léé dɔ nũ e è nɔ só dɔ nú jĩ léé é sí. Hwehwe ɔ, me e nɔ gbéjé nú léé kpón léé é nɔ só nũ e dɔ agbaza me léé é bí dɔ nú jĩ bo nɔ yí wǎn nú nũ e nɔ xò nũ e dɔ agbaza me léé é kplé bléblé léé é, bo na dó sixu mɔ nú e dɔ agbaza me léé é ganji. Nũ e nɔ hen nú cí é dɔ na gbɔn vo nú nũ e è kpón é kpódó nú e è só kófu dó bló é kpó, bo na dó sixu mɔ nú je nú me ganji. Hwehwe ó, è nɔ bló nú e è nɔ só dɔ ajǎ jí léé é kpódó nú e nɔ hen nú cí kófu dɔhun é dɛ kpó, bo na dó dè weziza e nɔ hen nú gblé dó me wu é kpódó nú e nɔ gbakpé nú e è nɔ só dɔ nú jĩ é kpó jí é kpò. Amǎ, dɔ nũ kpeví kpeví e nɔ kpón nú léé é me ó, è sixu dɔvɔgbingbɔn jɔwamɔ tɔn e dɔ nũ e è ma dɔ núdɛ na à é me é gbɔn nú e è na só dɔ nú jĩ é dɛ xixo kpo jǎ kpó gblame, bo nú e è só dɔ nú jĩ é na gbɔn vo kpeɖé nú nũ e è

kpón é, bo ene na zón bo è na mɔ nú ganji dɔ nũ e dɔ gudo é me.

**5.3.3. Nũhennu alokpa alokpa e è nɔ só nú dɔ nú jĩ na léé é (Tablo 3 & 4)**

Nũxwitixwi-kpinkpón nɔ byɔ dɔ è ni zán nú e è só dɔ nú jĩ é dɛ sín dɛdɛ (RI) cobo na tunwùn lee weziza nɔ kón gbɔn dɛdɛ ó, nũ e è só dɔ nú jĩ é kpó nú e è kpón é kpó jí gbɔn é. Enyi RI ɔ sekpɔ kófu e nɔ cyɔn nú dó nú jí é (≈1,515) ó, weziza nɔ gbɔn mǎ dɔkpó ó, bo nɔ dè nú e nɔ gbakpé léé é kpódó nú e nɔ hen nú gblé dó me wu léé é kpó kpò, bo ene nɔ zón bo è nɔ mɔ nú dɔgbe léé ganji, bo nɔ lé mɔ ye ganji. Dò alo dɛvo me ó, RI e ma sɔgbe à é sixu zón bo nú e ma dɔ wěxo à léé é na cí nú e ma dɔ wen à é dɔhun, bo ye na cí nú e dɔ xome dɔhun. É dɔ taji dɔ è ni cyan nú e è na só dɔ nú jĩ é dɔgbe ó, bo na dó bló bo nú léé na gbɔn vo, bo nú léé na zawě, lobo na lé nyó kpón dɔ dɛdɛ dɛ me, dɔ RI vovo e dɔ nú vovo léé me é wutu.

É dɔ na hen nú e è nɔ nyi ye é dó ayi me, bo na dó sixu mɔ nú dɔgbedɔgbe léé ganji hwenu e è dɔ flebotomu léé sonũ na we bo na só dɔ nú jĩ é. É sixu vewũ bo è na mɔ nú e dɔ tó léé é, dɛ cibarial armature, spermathecae, zovi sín akpáxwé léé, kpódó kan e nɔ hen awa léé dɔ te léé é kpó dɔ nũ e è nɔ só dɔ kóme bo nɔ hen nú cí mǎ é dɛ me.

Nú flebotomu léé ó, nũ e è nɔ zán hugǎn léé é we nyí nú e è nɔ só flebotomu dó bló na é, bo nɔ lé só balsamu Canada tɔn kpódó Enecê - Nelson Cerqueira (NC) sín résine kpó dó bló nú e nɔ hen nú xú é dɛ. Rawlins [60] má nú e è nɔ só dɔ nú jĩ léé é dɔ wè : (1) nú e nɔ nɔ ayí kaka soyi léé é : nú ene léé nɔ syen dɔ hwenu e dɔ yiyi we é, bo nɔ nyó zán bo è na hen nú hwenu gegě, kpó (2) nú e nɔ nɔ ayí kaka soyi akpáxwé dɛ léé é kpó : nú ene léé nɔ syen à, bo è nɔ zán ye nú hwenu klewun dɛ.

**Tablo 3gó ó.** Nũ e è só dɔ nú jĩ léé é sín kpléklé.

Nũ e è nɔ só dɔ nú jĩ é sin te	Sin	Polymères (alò polymères) e sixu tũn léé é	Nũ e è dɔ léé é
Hoyer = gɔmu kloralu	glycérol, sin	nũ e è nɔ ylo dɔ gɔmu arabe é	Nu e nɔ hen nu xú ó: kloral hydrate
CMCP-9 (= carboxyméthylcellulose phénol)	sin (CMCP-9: 51-60%)	ahan syensyen e è só sin dó bló na é (CMCP-9: 0-5%)	CMC(P)-9: hlɔnhlɔn kpeɖe: hlɔnhlɔn dɔxo
DMHF (diméthyl hydantoïne formaldéhyde)	sin	diméthylol diméthyl hydantoïne (diméthylol DMH) Oligomères éther-/méthylène-pont DMH-formaldehyde sín hlɔnhlɔn e è só dɔ kpó é	

Balsam Canada tòn	xylène; nũ e d̀ò balsamu m̄e bo nò hen nũ gblé dó m̄e wu léé é sín akpáxwé d́é léé (Δ3-carène, acide levopimarique, limonène, mircène, acide palustric, β-félandréne, α-pinène, β-pinène)	balsamu (abienolu, asidi abietiki, asidi isopimariki, asidi sandaracopimariki)	Nũ e nò hen nũ gblé dó m̄e wu é: potassium carbonate; j̄ě e è só dó bló <i>Abies balsamea</i> (Linnée, 1758) tòn na é
Euparal ®	eukaliptolu, paraldéhide; nũ e nò hen nũ gblé dó m̄e wu léé é (limonen, α-pinen, β-pinen)	nũ e è nò yló d̀ò gomme sandarac é (acidi communique, manool, acidi polycomunique, acidi sandaracopimarique, acidi 12-acétoxi-sandaracopimarique, sugiol, acidi torulosique, acidi torulosique)	nũ e nò hen nũ gblé dó m̄e wu é: salisila metflu tòn; sinm̄e e d̀ò Euparal® amamú m̄e é: j̄ě ganvo tòn (abietinate de cuivre); Sandarac sín atín e nò nyí <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl, 1791) é m̄e
Enec̄e	ahan syensyen e nò nyí éthyl é; kpodo kanfóru, eukaliptolu kpódó terpentine kpó	Nũ e è nò yló d̀ò copal gomme kpo colophonie kpo é (colophonie)	

Nũ e è nò só d̀ó nũ j̄i léé é sixu nyí sin, nũ e è só j̄ě dó bló na é, nũ e è só j̄ě dó bló na bo e nò xú d̀ò sín e, ahan alò nũ d̀evo e nò xú léé é m̄e (kpóndéwú ó, toluène, xylène) (Tablo 3). Enyi è só nũ dó ye jí gudo ó, è d̀ò na zán nũ e nò xò nũ kpón bo ma nò xú à léé é dó sú ye dó b̄o j̄òh̄on ma na wà nũ dó ye wu ó. Bo na dó tunwun vogbingb̄on e d̀ò nũ e è nò só d̀ó nũ j̄i léé é sín alòkpa léé tentin é cédq̄écéq̄é ó, è hen ó e ná zán nũ elo léé :

a. Fi e d̀e sin e léé. Nũ ene léé nò yawu gba d̀ò sín m̄e, b̄o ene wu ó, è sixu só ye d̀ó nũ j̄i nú hwenu klewun d́é alò nú hwenu klewun-zaan d́é. Ye nò b̄owu b̄o è na hen, am̄ó, é sixu byo d̀ò è ni sú ye dó bonu j̄òh̄on ma wá je ye jí ó (é we nyí d̀ò, gum-chloral media kpódó ahan polyvinyl kpó), d̀ò taji ó, d̀ò fí e j̄òh̄on nò ja d̀è léé é.

b. Nũhennu é e nò yi sín gbe kpeq̄e na léé e. Sin nò wà nũ dó nũ ene léé wu s̄om̄ó à, am̄ó, é kpó d̀ò dandan d̀ò è ni cyon alo ye jí bonu j̄òh̄on ma nò gbo ze xwé wu ó. Ye nò zón b̄o è nò

note nú hwenu geḡě hú ee è nò zán d̀ò sín m̄e léé é, b̄o è nò lé zán ye hw̄ehw̄e d̀ò nũ e nò nò ayí kaka s̄oyi léé é m̄e.

c. Nũ e nò gba d̀ò hydrocarbure m̄e léé é. È nò hen nũ ene léé gba d̀ò nũ e nò hen nũ gblé dó m̄e wu léé é m̄e d̀i xylène alò toluène, alò essenec̄é (nũ e nò hen nũ gblé dó m̄e wu é). È bló ye bonu ye na nò ten yeton m̄e kaka s̄oyi, bo nò lé nò ayí nú hwenu geḡě, bo nò lé d̀i xwi xá j̄òh̄on kpódó nũ e nò hen nũ gblé dó ye wu léé é kpó, b̄o ene zón b̄o ye nyó tawun nú nũ e è na hen d̀'ayí léé é (é we nyí d̀ò, balsamu Canada tòn v̄ótó)

D̀ò klewun m̄e ó, nũ e nò gba d̀ò sín m̄e léé é we nyó huḡan nú nũ e è nò só d̀ó nũ j̄i nú hwenu klewun d́é léé é alò nũ e byo d̀ò è ni d̀è kpóndewu léé sín b̄o é na b̄owũ léé é ; nũ e nò de d̀ò sín nu léé é d̀ò dogbó é nyó nú nũ e nò nò ayí kaka s̄oyi bo nò byo d̀ò è ni nò ayí d̀ò b̄a d́é m̄e léé é, b̄o è nò yí w̄an nú nũ e nò hen hydrocarbure léé é nú nũ e nò nò ayí kaka s̄oyi b̄o è só d̀ó te nú nũ e è na hen d̀'ayí léé é kpódó nũ e è na hen d̀'ayí nú hwenu geḡě léé é kpó.

**Tablo 4.** Nũ ɔagbe kpo nũ nyanya kpo e ɔò nũ e è só ɔó nũ jĩ lée é me é dó ɔiɔe kpeví kpeví lée kpio nũ e me vovo lée kpón bə è ma ko ɔetón ă lée é kpó wu [52].

Nyikó	Lè lée	Nu nyanya lée
* Balsamu Canada tòn	Nũ e è nɔ zán dó bló nũ ó na é nɔ dóji tawun, bo nɔ nɔ gbè nú xwè 150 jeji. È sixu zán ami e nɔ nyí atinken gbaɔota é, alò phenol dó té lamu lée jí.	Nũ e nɔ wà nũ dó me wu lée é ɔò me, bə è ɔó na hen ɔò kófu gló. È byɔ ɔə è ni bló tuto ɔé bo na dó ɔè sín sín lanme nú me bí mlémlé, bo na lé ɔu hwenu gègè. Éthanol sín sín ɔiɔekpo kpódó xylène alò atinken gbaɔota sín ami kpó gblame sixu zón bə taxa ɔé lée na xú; nũ ɔevo lée (ɔi, isopropanol, n-butanol, Cellosolve™, 1,4-dioxane, Histoclear, terpineol) sixu ɔè finfén kpò. Enyi è só xylène dó ɔyo phenol na alò enyi hydroxyde potassium tòn e kpò é kpò ɔ, nũ e è kpón lée é sixu huzu wiwi. Nũ e nɔ hen nũ gblé dó me wu lée é sixu bló bə nũ e è ma ɔó lamu ji ă lée é na cí ablu me. Nũ e è na xú bí mlémlé é sixu ɔu xwè mɔkpan enyi è ma xú ɔò kófu zozo me ă ó. Nũ e ɔò tentin é nɔ cí kólu ɔəhun bo nɔ lé cí wiwi ɔò hwenu e ɔò yiwi we é, ɔò taji ɔ, enyi è só ami e nɔ nyí atinken gbaɔota é dó súnsún na ó ne. Nũ e nɔ hen nũ gblé dó me wu lée é ɔé lée nɔ gló, bə nũ e nɔ hen nũ gblé dó me wu lée é sixu vɔ enyi nũ e ɔò nũ ɔ me é huzu acide ó ne, bə ene sixu je éɔé jí ɔò hwenu e ɔò yiwi we é. É sixu wá huzu koklójó ɔò hwenu e ɔò yiwi we é É sixu ɔyo nũ kwijikwiji ɔé lée É sɔgbe xá nũ e nɔ hen formaldehyde wá lée é ă Jəhɔn sín jəhɔn, hwenu e é nɔ xú é nɔ syen dèdè Nũ e è nɔ só ɔó nũ jĩ bo nɔ sè wuvé xá jəhɔn é É vewũ bə è na lekó nú jĩ yiwi . Formaldehyde nɔ hen aɔi, nɔ dó xomesin me, bo nɔ ðon kanséezɔn wá
DMHF (dimetil hidantoin formaldehídi)	Nukúnnúmɔjenũme ɔaxó Index de réfraction ɔagbe Nũ e è bló lée é sín nukúnnúmɔjenũme ɔagbeɔagbe Nűsisɔ lée sín syensyen ɔagbe ɔé we É nɔ sɔgbe xá wlenwín nűkún-yiya tòn gègè. Alɔcyɔnmeji ɔagbe nú kpóndéwú lée. Nũ e nɔ té dó nũ wu é kpo nũ e nɔ cyɔn nũ dó nũ jí é kpo tentin é nyó	É sixu wá huzu koklójó ɔò hwenu e ɔò yiwi we é É sixu ɔyo nũ kwijikwiji ɔé lée É sɔgbe xá nũ e nɔ hen formaldehyde wá lée é ă Jəhɔn sín jəhɔn, hwenu e é nɔ xú é nɔ syen dèdè Nũ e è nɔ só ɔó nũ jĩ bo nɔ sè wuvé xá jəhɔn é É vewũ bə è na lekó nú jĩ yiwi . Formaldehyde nɔ hen aɔi, nɔ dó xomesin me, bo nɔ ðon kanséezɔn wá
* Euparal (e nɔ kón)	Nũ e nɔ hen nũ gblé dó me wu bo nɔ nɔ gbè nú xwè 50 jeji é. É ɔò mǎ có, è sixu só éthanol 80% dó nũ jĩ tɔɔɔ (wèɔɔxáme me e bló é tòn). É nɔ cyɔn alɔ nũ e jí è ma hen nũ kwiji dó ă lée é jí ă, bo nɔ lé cí kólu ɔəhun alò nɔ xú ɔò hwenu e ɔò yiwi we é ă. É ɔó nũ e nɔ hen nũ cí é ɔé bə é sɔgbe hú balsamu Canada tòn nú Diptera. É nɔ w'azɔ ganji nú kpóndéwú e góngón hú mǎ lée é ɔó ɔiɔekpo kpeví kpeví kpódó xúxú e me è ma nɔ mɔ jəhɔn ɔè ă é kpó wutu. É nɔ kpó ɔò 95% éthanol me, bo nɔ zón bə è nɔ lévɔ só ɔó nũ jĩ ɔò xwè mɔkpan gudo.	Nũ e nɔ wà nũ dó me wu lée é ɔò me, bə è ɔó na hen ɔò kófu gló. Ethanol sín sín ɔiɔekpo kpodo ɔiɔe gbɔn Euparal Essence gblame kpo sixu zón bə taxa ɔé lée na xú, amǎ, isopropanol zinzan sixu ɔè xó ene kpò.
Hoyer sín sín	È sixu só nũ e è kpón lée é ɔó gbè alò tɔɔɔ sín sín, éthanol, alò formaldehyde me. Maceration nɔ na cuticule ɔagbeɔagbe lée. É ɔó hlɔnhlɔn e nɔ hen nũ cí é ɔagbe ɔé, bə è sixu lé bló bə é na kpón te d'èji kpo nũ e	Atín sínsén e ma syen sɔmǎ ă lée é sixu gbà, afi nú è gó nũ e nɔ hen nũ gblé dó me wu é kpeɔé kpeɔé, bə ene nɔ ɔu hwenu. Xwè 10 mǎ gudo ó, dogbó lée kpo kristalu lée kpo sixu tón.

è nò só iode dó bló na é kpo bonu é na dó dè vogbingbòn ðaxó dé xlé.

Acides acétiques e ðò nũ ó me é sixu gbló ada nú xú e ðò xú lée me lée é.

Nũ e è nò kpón lée é dé lée sixu nò ten yetòn me nú xwè 40–60.

É nò xú ðò sìn me, bò é nò bõwũ bõ è na vó jladó.

CMCP-9

(= karbòksi metílu sélulozu fénolu)

È sixu só nũ e è kpón lée é tlolo sìn nũ ði sìn, éthanol, glycérol, alò nũ e me formaldehyde ðè lée é jí, bo sixu lé bló bõ nũ e ðò xome yetòn lée é na xú hwenu e é byò ðó é, bo na dó sixu gbéjé nũ lée kpón alò sònũ nú ye.

Eukit™

Medium e nò nò ayí nú xwè 30 jeji é. É nò sògbe xá nũ e nò hen nũ gblé dó me wu lée é gègè, ði acétohe, benzène, kloroforme, dioxan, éther, isopropanol, benzoate méthylique, terpinéol, toluène kpo xylène kpo.

É nò yawu xú bo nò ðó pH acide kpedé. É nò cí ablu me bõ è nò ðó ayi wu hwenu e é ðò kpikpo we é ã.

É nyó nú nũ tenme tenme (kpóndéwú ó, fuchsin, hematoxyline, amamú metil, violet metíl, bleu metil).

È sixu lévò só nũ e è kpón lée é ðó nũ jí ðò xwè mòkpan gudo gbòn xylène me xixo dó nũ jí nú hwenu gegè gblame.

Enecê

Nũ e nò dóji tawun é dé, bo nò nò ayí nú xwè 50 mð.

Enecê nò cí ablu me ðò hwenu e ðò yiyi we é ã.

É nò bøkun hugã, bo nò zón bõ è nò fèn nũvínúví e ðò tentin yetòn lée é, bo nò lé na hwenu e jexa é dé bõ è na só nũ e ðò agbaza me lée é ðó ten yetòn me.

Akwè kpedé.

Maceration sixu huzu ze jlě wu sògbe xá hlõnhlõn e ðò chloral hydrate me é kpo hwenu e è na nò é kpo.

Nũ e ðò nũ e me è nò bló nũ ó ðè é me lée é sixu klán, bõ nũ kpeví kpeví lée sixu tón ðò sun alò xwè dé lée vlame.

È ko ðò ðò xójajla sìn nũ lée ðò wiwi we.

Nũ ene sixu bló bõ kristalu lée na tón bo na lé cí ablu me ðò hwenu e ðò yiyi we é, bõ hweðelenu ó, é sixu hen nũ e è kpón lée é xú hú lee è lin gbòn é. Afi nú è bló alóké dó lamu ó jí ganji ó, kpóndéwú e góngón hú mð lée é na wà nũ ganji ðò me ã, ðó ye sixu xú bo na bló bõ tenme lée na lelě dó lamu ó sìn tó lée. É sògbe xá nũ e è só kó dó bló na lée é alò nũ e è só kó dó bló na lée é ã, bõ hwenu e é nò xú é nò lé hwe hú CMC tòn.

Nũ e nò wà nũ dó me wu lée é ðò me, bõ è ðó na hen ðò lamu gló.

É byò ðò è ni bló tuto dé bo na dó ðè sìn sìn lanme nú me bí mlémlé, bo na lé ðu hwenu gègè.

É nyó nú kpóndéwú ðaxó ðaxó lée é ðó ðiðekpo kpo gaz-bubble ðiðó kpo wutu.

Nũ e nò cyòn nũ dó nũ jí lée é sixu tón ðò hwenu e ðò yiyi we é, afi nú è kló lamu ó ganji bo sú.

É sixu xlé ðò è kún ðó polymérisation e ma kpé ã é lelě dó kolagen sìn kàn lée.

É byò ðò è ni bló tuto dé bo na dó ðè sìn sìn lanme nú me bí mlémlé, bo na lé ðu hwenu gègè.

Ethanol sìn sìn ðiðekpo kpo ðiðe gbòn amí clove tòn gblame kpo sixu zón bõ kpóndéwú dé lée na xú.

Nũvínúví ó kpó ðò ðiðexlé we có, é ka ðò ðiðexlé we kpedé kpedé; ene sixu zón bõ é vewũ bõ è na mò nũ kpeví kpeví lée, ði sensilla, ascoïdes kpo setae simple lée kpo.

### 5.3.4 Tinme e è byó nú nũhennú nũ e só ðó nũ jí lée tòn (Tableau 3 & 4)

*Nũ e è nò zán dó kpón nũ nú hwenu klewun dé lée é*

#### Gomme chloral = Hoyer sìn sìn/tenme/linlin (RI = 1,48)

Marc André sìn sìn we nyí nũ nyó hugã bõ è na zán dó kpón spermathecae lée nú hwenu klewun dé (ganxixo klewun dé, vlafo ganxixo klewun dé lée, enyi è hen ðiðe ó ðó xò e me jòhòn ðè é dé me ó) ó, è na lé kpón fòtóo lée (ðiðe 4gó ó) alò ðiðe lée. Bo na dó hen spermathecae e è mò lée é ðó te ó, é

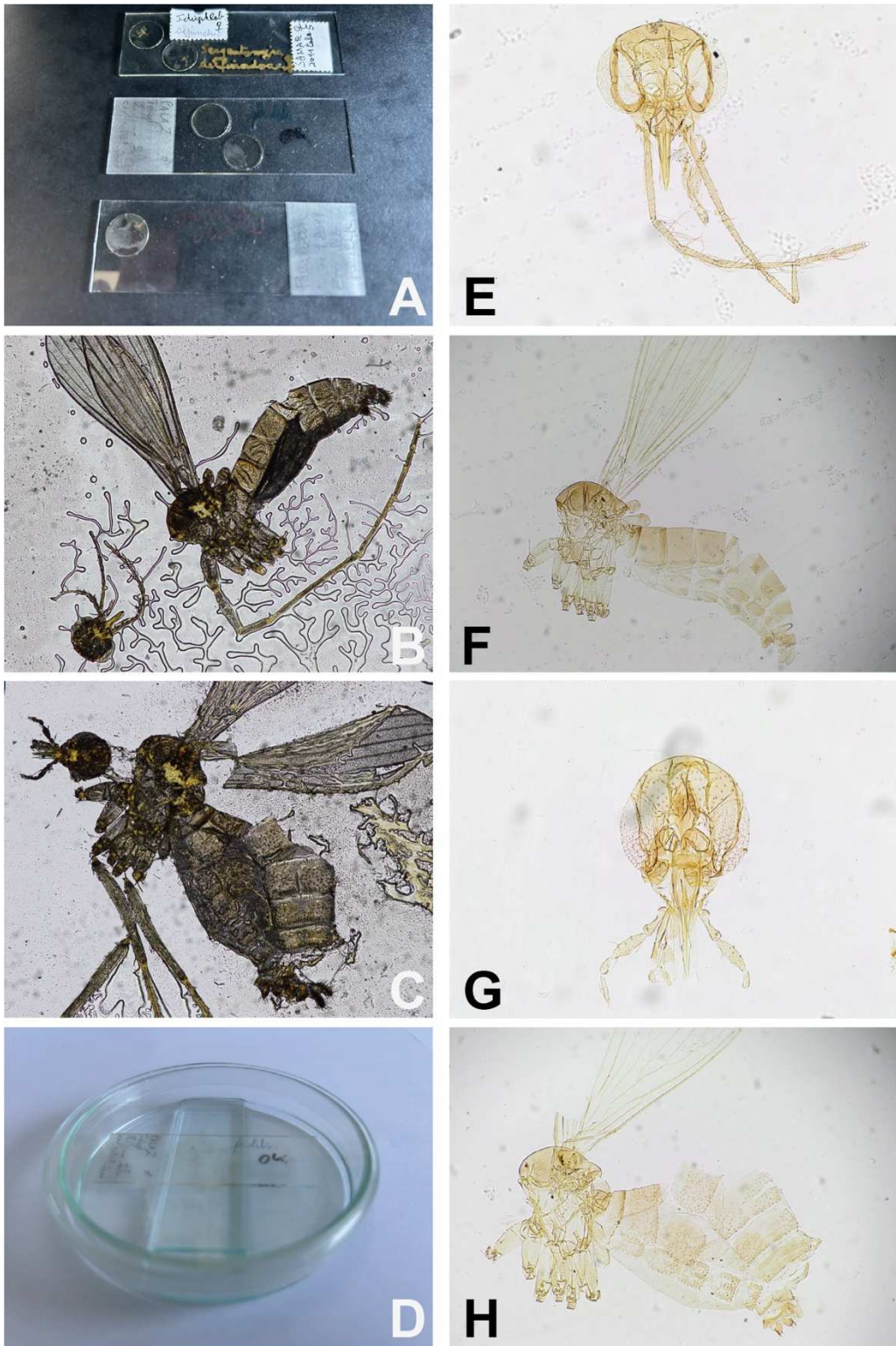
byò ðò è ni vó ye só ðó nũ e me sìn ðè é dé me, bõ ene na zón bõ è na hen nú hwenu klewun dé. É ðò mð có, è nò kplón me ðò è ni ðè sìn sìn ye me bo na dó vó ye blóðó ðò résine me ã, amð, è nò kplón me ðò è ni hen nũ gblé ã (risque de perte). È nò kpón jě kloral tòn kpódó sìn Hoyer tòn kpó dó mò nũ ðokpo ó. È nò zán nũ ene dó kpón nũ e ðò agbaza me lée é ðó lee é nò sògbe xá sìn gbòn é, lee é bõwu gbòn é, lee é nò yawu w'azð gbòn é, kpódó lee é nò hen nũ cí mð é kpó wu, bõ ene nò zón bõ è nò gbéjé nũ e ðò hũn me lée é kpón ganji, ði spermathecae. Amð, enyi è ma sònũ nú jě chloral tòn ganji alò hen ðó fí e jòhòn nò gó é ã ó, é ðó nũ nyanya ðaxó dé lée. Nũ ene lée ðiðe: kristalu, sinme ðyòðyò, kpo nũ e nò hen nũ cí é kpo. É ðò mð có, enyi è xò kófu ó sìn gbè ó, é nò ðeðe tagba ene lée ã, ðó nũ e è nò só ðó kóme é sixu ðyò sinme

tawun (hweḍelenu ó, é sixu ḍibla nyí wiwi) ḍó nú e è nɔ xò kófu ɔ na é wu, ḍò taji ó, enyi è zán Euparal® ó ne. Hoyer medium we è nɔ kpón dó mɔ nú nyó hugán e è nɔ zán ḍò nukúnme é nú Flebotomu e nɔ nyí phlebotomine é, bɔ è ko nɔ zán nú nú ene léé sín hwexónu. Nú e è nɔ zán dó bló nú e sekpo yedée tawun léé é gègè we ḍò nú e è nɔ zán dó bló nú ó na é me, ḍi gommu arabique, glycérol kpódó chloral hydrate kpó. È ko tɔn xógbe vovo léé me nyí dò, bo lé sɔ xógbe e è zán léé é sín xó léé nyí dò [74]. Hoyer nyí nú ḍagbe ḍé bo na dó kpón spermathecae e ḍò flebotomu léé me é có, é ka sɔgbe bɔ è na hen ḍó te nú hwenu gegè ă. É nyó tawun nú nú e è nɔ kpón nú hwenu klewun ḍé léé é, kaka je fɔtɔo léé, nḍḍjḍó léé, alò ḍiḍe léé jí. Nú e me sin ḍè léé é nyó nú nú e è nɔ sɔ ḍó nú jí nú hwenu klewun ḍé léé é, amḍ, ye sixu zón bɔ è na hen nú léé ḍó te nú hwenu gegè ă. Ḍò vogbingbɔn me ó, nú e è nɔ sɔ résine dó bló na é nɔ zón bɔ nú léé nɔ nɔ ayí nú xwè kanweko mɔkpan hwehwe, amḍ, é sixu zón bɔ nú kpeví kpeví e ḍò spermathecae léé me léé é na cí ablu me, ḍó hwehwe ó, è nɔ hen nú e ye nɔ kón léé é bú. Hoyer medium nɔ gblé ḍò hwenu e ḍò yiwi we é me ḍó

sin e ḍò lanme é wutu (ḍiḍe 8gó ó), bɔ ene nɔ zón bɔ è nɔ ḍó kristalu chloral hydrate wewé kpeví kpeví e ma nɔ kón ă léé é. É ḍò mḍ có, è sixu mɔ kpóndéwú léé ḍò ḍiḍe e è sɔ kristalu dó bló na léé é me, ḍó xú ó kpó ḍò nú e è nɔ ylo ḍò chimie é me, enyi kristalu e ḍò susu we léé é na bo tle hen nú gblé dó agbaza wu ó ne. Hweḍelenu ó, è sixu vó ḍiḍe e è bló bɔ ye cí kristalu ḍohun léé é blóḍó gbɔn nú e è sɔ ḍó nú jí é xixo dó fí e jí nɔ jayi ḍè é ḍé me kpódó thymol kpó gblame, bonu Flebotomu léé ma wá sù ó. Alò, è sixu sɔ nú e è kpón léé é dó sin me, bo sɔ acide acétique glacial dó bló bɔ ye na xú, lobo lévɔ sɔ balsamu Canada tɔn dó bló na.

#### **DMHF (diméthyl) hydantoïne formaldéhyde) (RI 1,48)**

Nú e è sɔ sin dó bló na é ene [72] nɔ w'azḍ ganji ḍò nukúnme, é cí Berlese ḍohun, bɔ é nɔ lé bwu bɔ è na zán Berlese ḍohun. Amḍ, é gbɔn vo nú Berlese, é nɔ huzu wiwi alò e nɔ huzu kristalu ă. E nɔ w'azḍ ganji nu flebotomu léé kpódó Psychodidae ḍevo léé kpo.



**Ɖiɔe 8gɔ 5 :** È vó lamu léε to. A : ɔiɔe e gblé bo xú bo è só ɔó Hoyer jí léε é ; B : è nɔ mɔ wujɔnú Flebotomu léε tɔn ; C : ɔiɔe flebotomu ɔevo e gblé é tɔn ɔó nǔgbejekpón sin mɔ me ; D : xɔ fifá e me è nɔ bló ɔiɔe lamu ɔé ɔé é ; E : ta, kpó F : agbaza kpóndéwú B tɔn kpo ɔó hwenu e è vó ε só ɔó Euparal® me gudo é ; G : ta, kpó H : agbaza kpo nú kpóndéwú C e gblé é tɔn hwenu e è vó ε só ɔó Euparal® me gudo é.

**CMCP (camphre -klorofenolu ðokpo) (RI = 1,41)**

Nũ ene nyí nũ e è sò glycérine dó bló na, bo nò xú ðò sìn me é ðé, bo è nò zán dó bló nũ e è nò kpón ðò kó me léé é sìn ðiðe e nò kón bo nò ayí kaka sòyi léé é, kaka je flebotomu léé jí. Nũ e nyó ðò nũ e è nò sò ðó nũ jí é ene me é we nyí ðò è sixu sò nũ e è sò ðó nũ jí léé é tlòlò sìn sìn alò éthanol me. É nò yawu gboje bo nò ðè flebotomu ó sìn, bo nò bló bo flebotomu ó nò bawu bo nò zón bo è nò sò nũ e è kpón é ðó ten e jexa é me, bo ene nò hen lè wá tawun ðò awa léé gbajagbaja alò xúxú léé fénfén me. È ðó é nò zón bo è nò hen nũ léé ðó te nú hwenu gegè có, hwenu nabi e è na hen ðó te é ka ko ðò wen ã. Dogbó taji e ðò nũ e è nò sò ðó nũ jí é ene wu é we nyí ðò nũ e ð'eme léé é ðó fenol, nũ e nò hen nũ gblé dó me wu bo nò lé dó xomesin nú me é ðé we, bo é byo ðò è ni kpé nukún dó wutu tòn ganji.

*Nũ e è nò sò ðó nũ jí kaka sòyi é*

**Balsamu Canada tòn (RI = 1,52-1,54)**

Andrew Pritchard we ðó xó dó balsamu Canada tòn jí je nukòn ðó é nyí nũ e è na sò ðó nũ jí é ðé bo na dó kpón nũ kpeví kpeví e nò hen weziza wá léé é ðò xwè 1830 léé me. É kpó ðò nũjlajla sìn nũ e è nò zán hugã léé é me ðó lee é nyó zán gbòn é wu, bo è ko zán ε ganji nú xwè 150 jeji. Balsamu Canada tòn nò cí kristalu ðòhun alò nò yí jòhòn ã, é nò cí nũ e è nò zán dó bló sìn na é ðòhun ã. É ðò mǎ có, balsamu Canada tòn nò kón syensyen, bo ene sixu nyí nũ nyanya ðé hweðelenu nú wlenwín nũ kpeví kpeví léé kpón tòn ðé léé [60]. Enyi è zán nũ e ma nò hen nũ gblé dó me wu ã léé é dó xylene tenme ó, é sixu ðè awè e è sixu xò ðò nũsiso hwenu léé é kpò, amǎ, é sixu lé ðòn nũ nyanya léé wá ði nũ e nò xú kpeðé kpeðé é kpódó nũ e me nũ ó nò yawu cí ablu me ðè é kpó.

**Eupáli® (RI = 1,48)**

Euparal® nyí nũ e è nò zán tawun é ðé bo nò ðyò balsamu Canada tòn bo nò sò ðó nũ jí kaka sòyi, bo nò na hlònhlòn ðagbe ðé me nú hwenu gegè, bo nò lé ðó hlònhlòn e è sixu jlé dó nũ wu é. Euparal® ðó jijo elo léé: (1) è ðó na ðè sìn sìn lanme: cobonu è na sò nũ e è na sò ðó nũ jí é ðó ten tòn me gudogudo tòn ó, è ðó na ðè sìn sìn lanme nú nũ e è sò é, bo é nò nyí ðó é nò gosin 95% jí bo nò wá huzu syén syén blebu, bo nò lé (2) hwenu e è nò zán dó wà nũ na é ðiga: kpléklé gudogudo tòn ó ðò résine ðé me, é na bo nyí Canada balsam®a, length Euparall hwenu e è nò w'azǎ na é. Hwenu e è ma sixu bló bo è na ðè sìn sìn lanme me kpódó nũ e nò hen nũ gblé dó me wu léé é kpó ã é ó, è sixu sò kpóndéwú e è ðè sìn éthanol absolue me léé é dó nũ e nò hen nũ gblé dó me wu é ðé me, bo è nò sò Euparal ® kpódó Euparal essence kpó dó bló nũ ðokpo ó na, cobo è na sò ðó nũ jí gudogudo tòn ó.

**Enecê (RI = 1,467)**

Enecê nyí nũ e è nò sò résine dó bló bo è nò sò ðó nũ jí é ðé, bo è nò zán je nukòn nú nũvínúví kpeví kpeví léé, bo è nò lé yí wán na tawun ðò Brésilu. Nũ e ðò dò tòn é we nyí colophonie kpó gomu copal kpó e è hen xúxú ðò ahan, kanfóru, terpentine sìn je kpódó eucalyptol kpó me é. Cerqueira [11] ðó ðó Enecê nyí nũ ðevo bo nò ðyò balsamu Canada tòn bo nò sò bókke e nò nò ayí kaka sòyi léé é, exuvia e ðò bókke e ma ko sù ã léé é me é, kpódó bókke e ko sù léé é kpó jí, bo sìn hwenenu ó, è ko nò zán ðò fí gègè bo nò sò xeví flebotomu léé tòn ðó nũ jí. Enecê nò na wlenwín ðevo e ma nò xò akwe sòmǎ ã é ðé nú è na sò ðó nũ jí kaka sòyi, bo nò zón bo è nò nòte nú hwenu gegè, bo nò lé ðó hwenu e kpé é bo è na xú, bo nò zón bo è nò fén nũ léé bo nò léé tò nũ e ðò agbaza me léé é ganji.

**5.4. Lamu léé jijaðó kpódó xúxú kpó**

É ðò taji tawun ðò è ni xúxú ðiðe e è sò ðó nũ jí léé é ganji, bo na dó sixu nòte hwenu e hen nũ léé ðó mimé jí. È ðó na xú ðiðe léé ganji cobo na lin tame dó lee è na hen ye ðó fí ðé nú hwenu gegè gbòn é jí. Nú è na mǎ lè ðagbe hugã léé ó é è ðó na xúxú ðiðe e è sò nũ e nò hen nũ ðó te kaka sòyi léé é dó nũ jí léé é ðò jixwé nú aklunozán gblame 2–3, bo ðèðe è sònu na kpódó nũ e nò hen nũ ðó te kaka sòyi léé é kpó é sixu byò aklunozán gblame 1–2 kpowun. Bo na dó sixu bló bo nũ léé na xú ganji ó, è byò ðó è ni zán nũ e è sò ðó jòhòn e jexa nũ e è na sò ðó nũ jí é jí é ðé, bo na nyí alo nú zozo ze xwé wu e sixu hen nũ e è kpón léé é gblé é. È nò kplón me ðó è ni ðó jòhòn 30°C kpo 37°C kpo. Afò ene e è nò ðè bo nò xú é ðò taji tawun bo na dó glón ali nú ðiðe léé sìn ðiðekpo, nũ e è kpón léé é sìn ðiðekpo, alò nũ e è sò ðó nũ jí léé é sìn ðiðekpo ðò nũhénten hwenu.

È ðó na wlan nũ e è nò zán dó sònu nú ðiðe léé é dó ðiðe léé jí hwebínu. Enyi é nyó bló ó, è ðó na lé wlan nũ e è zán dó ða nũ ó na é dó wema ó jí, gó nú me e ða nũ ó é sìn nyiko kpódó azã e gbè è ða é kpó. È ðò bíbème ó, è nò sònu nú ðiðe léé bonu ye na nyí nũ e è na sò ðó nũ jí nú hwenu klewun ðé é, bo è ka sò ðó te nú hwenu gegè ã. É ðò mǎ có, enyi ninome kpóðewu ó tòn ðyò, ði è sò ε ðó “tinme” sìn tuto ðé me ó, è ðó na zán nũ e nò hen kpóðewu ó ðó te kaka sòyi é ðé, bo na dó sixu hen kpóðewu ó ðó te nú nũkplónkplón ðé ðò sògudo.

**5.5. Wlenwín ðevo léé nũsò ðó nũ jí tòn : è nò sò dó kati jí**

Kati ðiðó ðó kpó nyí wlenwín ðé bo è nò zán nú nũvínúví gbèta gègè, bo è sixu té nũvínúví léé dó kati nũvínúví léé tòn léé jí tlòlò alò té ye dó nũ jí tòn. Dó ye hwe tawun, bo è ðó na kpón nũ e ðò agbaza me léé é bo na dó tunwún ye gbòn nũ léé ðiðexlé gblame wutu ó (kpón akpáxwé 5gó ó),

wlenwín ene sɔgbe dɛbũ nú è na só flebotomu léé dɔ nú jí ă.

## 5.6. Nũ e gblé léé é vó to do nú jí

Nũ nú e è ma no mɔ ă léé é alɔ nú e xo akwe léé é ó, è no kplón me dɔ è ni zán wlenwín wè sɔgbe xá ye e è sixu mɔ dɔ: <https://zenodo.org/records/18315029> é. 1) vó sìn dɔ ye me bo ma dɛ ye sìn ă, bo na dɔ sixu kpón ye je nukɔn. È dɔ na só nú e jí è na só nú kpeví kpeví gègè dɔ é dɛ dɔ gannu Petri tɔn dɛ me, bonu é na gó alɔ nú me. Ene gudo ó, è no só dɛdɛ e è na vó sìn na é dɔ ta, bo no gó nú e no hen nú gblé dɔ me wu é milimetlu yoywe dɛ dɔ gannu Petri tɔn me, bo no bló xo e me jɔhɔn no gó é dɛ, bo no bló bo dɛdɛ ó dɛsu no xò nú e no hen nú gblé dɔ me wu é zle ă (dɛdɛ 8 D). Hwenu e è na zán dɔ vó sìn na me é sixu gbɔn vo sìn azán dɔkpo jí je azán gègè jí, sɔgbe xá ninome nú e è kpón é tɔn. Nũ léé kpinkpɔn ayihɔngbe ayihɔngbe kpódó suúluđđo kpó dɔ taji. Enyi è ko gó sìn nú dɛdɛ ó ganji ó, è sixu dɛ è sìn xo e me jɔhɔn dɛ é me, bo só dɔ nú e me è no hen nú dɔ é dɛ me nú ganxixo klewun dɛ cɔbo è na gbéjé nú kpeví kpeví léé kpón, dɛ fɔtóo, alɔ dɛ nú. 2) bo na dɔ vó jí ó, è sixu lévɔ só dɛdɛ ó dɔ xo e me jɔhɔn dɛ é nú ganxixo klewun dɛ dɛvo alɔ zánme. Nũgbigba dɔ na nyí è no wà dɔ nú kpeví kpeví e no kpón nú léé é gló. È dɔ na zán lamu dɛgbedɛgbe léé dɔ dɛ nú e no cyɔn nú dɔ nú jí é sìn ganji, bo na hen nú e no hen Flebotomu léé é dɛ dɔ te ă (<https://zenodo.org/records/18315029>). Ene gudo ó, è dɔ na xò nú e è fén dɔ kɔ me léé é kplé bo na kló ye kpódó sìn kpó dɔ dɔo kpeví kpeví léé me, lee è no zán dɔ dɛ ADN/ARN e no hen nú gblé dɔ me wu é tɔn gbɔn é dɔhun (kpón dɔ fí), cɔbo è na dɛ sìn sìn ye me bo na lé vó ye só dɔ nú e me è no bló résine dɛ é me. Hwenu e è dɔ dɛdɛ dɛ dɛ sìn me we é ó, é dɔ taji tawun dɔ è ni tunwun nú e è na só dɔ nú jí je nukɔn é, bo na dɔ sixu cyan nú e na hen nú gblé dɔ me wu é dɛ. Nú è na só nú e è no só dɔ sìn me léé é dɔ bló nú na ó, è dɔ na zán sìn. Enyi nú e è no só dɔ nú jí é nyí résine (kpóndéwú ó, balsamu Canada tɔn alɔ Euparal®) ó, è dɔ na zán xylène, dɔ azizɔgbá dɛ gló, bo na lé zán nú e jexa léé é dɔ cyɔn alɔ mɛdɛé jí, kaka je nú e no cyɔn alɔ me jí é jí.

É dɔ mɔ cɔ, me e no kpé nukún dɔ nú léé wu é kpo/alɔ tutoblonunu e dɔ nú ó é kpo yí gbè nú nú e è xò kplé léé é kɛdɛ.

## 6. Kpóndéwu léé tunwuntunwun

### 6.1. Mɔfolojí (wujɔnú léé)

Nũ e no zón bo è no tunwun Flebotomu léé é we nyí dɔ è ni gbéjé lee ye cí é kpón je nukɔn, kaka je lee akón yetɔn cí é, awa yetɔn léé, avadonú léé, kpódó kancica e dɔ wujɔnú léé tentin é kpó jí. Dobanúnútó léé no zán cávi nú léé tunwuntunwun tɔn léé, nú e è xò kplé léé é, kpódó nú e è

tinme dɔ kanlin léé wu dɔ jlé nú e è xò kplé léé dɛ dɔ dɛ wu. Ninome taji e no zán dɔ tunwun nú léé é, dɛ awa léé sìn kan léé kpódó lee ta ó cí é kpódó dɔ asú léé kpódó asi léé kpán me, lee è bló avadonú asú léé tɔn gbɔn é, kpódó lee è bló avadonú nyɔnu léé tɔn gbɔn é kpó no d'alo me tawun bo è no tunwun kanlin alɔkpa léé é. Hwehwe ɔ, è dɔ na gbéjé nú kpeví kpeví léé kpón ganji cɔbo na tunwun nú ó ganji, bo è no zán nú kpeví kpeví e è xo klpé é dɔ kpón nú dɛgbedɛgbe léé dɛ xú léé kpódó spermathecae léé kpó, alɔ è no zán nũgbeje kpón sìn mɔ dɛ dɔ kpón nú e wíní léé é.

Nukɔnyiyi e dɔ hladio sìn nú léé me dɔ azán gudogudo tɔn elo léé me é zón bo è no zán nú e è no ylo dɔ dijital léé é dɔ tunwun flebotomu léé. È sixu jlé dɛdɛ dɛxó léé é alɔ dɛdɛ e dɔ alokan jí bo xlé nú taji léé é dɔ nú e è no zán dɔ ba dɔ nú nú léé é wu, alɔ bo gbéjé ye kpón gbɔn tuto e è no zán mɔtaglomeđo-asinanɔ dɔ tunwun nú léé na é gblame, bo ene na zón bo è na mɔ nú je nú me ganji, bo na lé mɔ nú je nú léé wu ganji dɔ nú e è no ylo dɔ morphonomie taxonomie é me.

### 6.2. Awa léé sìn jlé

Awa léé sìn jléjininɔ nyí nú taji dɛ bo è no zán dɔ tunwun Flebotomu alɔkpa vovo léé é bo no lé dɛ ye dɔ vo. Awa flebotomu léé tɔn no dɛ dɛdɛ kpódó tuto kpó dɛ xlé, bo dɔ taji ó, ye no dɛga bo no lé hwe bo no dɔ kan ganji (dɛdɛ 9gó ó& 10gó ó). Lee kan léé dɔ tuto jí gbɔn é no bló tuto vo dɛ bo é sixu gbɔn vo dɔ hɛnnu léé kpódó kanlin alɔkpa léé kpo tentin, bo no na nú xo akwe e è no zán dɔ tunwun azɔn óna léé é. Ene wu ó, nũkplónkplón dɔ awa léé ji no na nukúnnumɔjennũme xo akwe dɛ léé nú linlin e è na zán dɔ gbéjé nú léé kpón é.

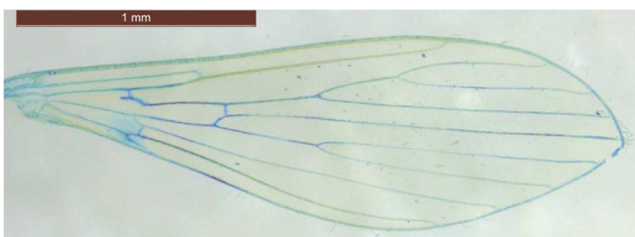
### 6.3. Awa léé sìn jlejininɔ dɛdɛ

Dobanúnútó léé no zán wlenwín vovo léé, dɛ jlejininɔ sìn nú léé, bo no gbéjé awa léé sìn dɛdɛ kpón lobo no jlé ye dɔ Flebotomu léé alɔ gbɛta vovo léé wu. Nũkplónkplón dɔ awa léé sìn jléjininɔ no na nukúnnumɔjennũme xo akwe léé dɔ walɔ, fí e ye no no é kpódó nũwukpikpé e ye dɔ bo no zɔn é kpó wu.

Dò wlenwín jlejininɔ tɔn me ó, è no fén awa léé ganji, bo no só nú dɔ ye jí (enyi é byɔ mɔ hũn), lobo no té ye dɔ wen dɔ lamu jí. Ene gudo ó, è no dɛ fɔtóo lamu e sɔnú ná lé tɔn bó no kpón ye dɔ stereomicroscope dɛ gló, lobo no gbéjé wujɔnú léé kpón. È ko tinme wlenwín ene ganji dɔ wema léé me [6, 27, 42, 56, 57, 59], bo lé kplón me dɔ è ni no zán awa dɛsɔxwé tɔn alɔ amyɔxwé tɔn hwehwe nú agbaza sìn wujɔnú wè léé bo na dɔ nyí alɔ nú nú nyanya e sixu je dɔ allométrie me léé é [62].



**Diđe 9gó 3 :** *Trichophoromyia ininii* sín awa mu.



**Diđe 10gó 3 :** *Phlebotomus ariasi* sín awa e dọ sa sin do é.

### Nũsɔ nú Awa lée nú jlejinino

Bo na dó sixu mɔ kan e dọ awa lée me lée é ganji 3, è dọ na kló awa lée sín jě lée me, bo na lé sá nú dó ye wu lee é jexa gbɔn é. Nú è na sɔnú nú awa lée 3, è dọ na gó doto kpeví kpeví lée me je nukɔn kpódó nú e è byɔ lée é kpó (bleu méthylène, éthanol, sin kpódó nú e nɔ dya xylène é kpó). Mi hen awa e è hen d'ayi dọ éthanol 70% me dọ jɔhɔn nú gbɔn Eppendorf sín tuto 3 xixo bo kɔn dó doto 3 jí gblame, ene gudo hũn, mi sɔ awa 3 j'ayi dọ gaga jí gbɔn nú e è bló b'e cí kólu dɔhun é dẹ zinzan gblame. Sɔ awa 3 gbɔn étanɔlu jí klewun bo sɔ dó sɔn me bo lévɔ sɔ dó etanɔlu jí bo dẹ jě lée sɔn. Sɔ awa 3 dó bló metileni tɔn me nú ceju 6, bo hen dó ayi me dọ é dọ xixo we hwenu e è dọ nú dó nú jí we é. Mi vó awa 3 bló dọ ganji bo nylɔ e dó xylene dya dya me nú ceju 2 (é dɔbla yi hwenu e è nɔ zán dó dya xylène é sín atɔnvlódó mɔ). Enyi è xò nyí ɔ dó doto ɔ sín dɔ lée 3, é sixu d'alo bo awa ɔ na j'ayi ; xylène nɔ d'alo bo è nɔ jla sinme ɔ dọ. Gbɔn gudo ɔ, zé awa ɔ bo sɔ dọ Euparal® sín tɔ kpeví dẹ jí dọ dɔ dẹ kpeví kpeví dẹ jí. Dò nú e nɔ hen nú daxó é dẹ gló ɔ, hun awa ɔ dɛdɛ bo sɔ nú e nɔ cyɔn nú dó nú jí é dẹ dọ ten tɔn me ganji. È dọ na dẹ fátóo lée tlolo cobɔ è na bló nú e è nɔ ylo dọ Euparal® lée é, dọ é sixu byɔ dọ è ni jla fí e awa lée dẹ dọ lamu kpevi kpevi lée gló é kpedé cobɔ è na bló bo ye na sɔgbɛ ganji.

## 6.4. Wlenwín xomenũ lée tɔn

Gó nú wlenwín wujɔnú tɔn lée ɔ, wlenwín xomenũ nũdɔgbɛ lée tɔn dọ taji d'aji we dọ dobanúnú dó nũvínúví lée jí me, kaka je taxonomie, do ba nú kunkan togun lée tɔn, kpódó phylogenetique kpó jí, gó nú nú e nɔ zón bo è nɔ mɔ azɔnkwín lée é dọ ADN/RNA me, bo nɔ lé tunwun fí e nũduqu hun tɔn gosin é, bo aɔn hennú tɔn dọ taji dọ azɔnkwín lée kpinkɔn me [70]. È sixu zán nú e è nɔ ylo dọ ADN é dó dɛxlé dọ kanlin alokpa lée tɔn alɔ dó tunwun vogbingbɔn e dọ kanlin alokpa e sekpa yedée lée é me é, bo ene na zón bo è na tunwun nú e dọ kpó lée é ganji bo lé dẹji dó ye wu. Gó na ɔ, wlenwín xomenũ lée tɔn nukɔntɔn lée (é we nyí dọ, PCR, DNA sequencing, NGS, kpódó nú dɛvo lée kpó) kpó MALDI-ToF MS kpó dọ ten nukúndẹji mɔ we bo na dó tunwun nũkún-yiya sín nú lée ganji bo lé yawu tunwun ye, bo na lé gó nú wlenwín xóxó e è nɔ zán dó tunwun nú lée é [46]. Nukonyiyi ene lée dọ fine có, wujɔyúl ée tunwuntunwun we nyí wlenwi è nɔ zán dó dẹ nú lée dọ vo é, bo lé nyí nú e jí è nɔ jinjɔn bo nɔ tɔn nú e dọ xomenũ lée é jí é.

### 6.4.1. Acides nucléiques sín dɔ dẹ e nɔ hen nú gblé é.

Acide nucléique dɔ dẹ sín nú me nyí afɔdɔ dẹ e è nɔ dẹ hwehwe dọ nũkplɔnme nũdɔgbɛ lée tɔn gègè me é, bo è ko dẹ wlenwín vovo lée tɔn bo na dó dẹ ADN sín nũdɔgbɛ lée me [48]. È bló nú e è nɔ sà bo nɔ dẹ ADN sín me lée é gègè bonu ye na dó bló bo nũwiwa ene na bɔwu [14]. È dọ mɔ có, wlenwín e è nɔ zán hwehwe dó sɔnú nú nú e è nɔ ylo dọ arthropodes é bo na dó tunwun lee ye cí é nɔ dọ dogbó nú ADN gbéjé kpɔn hwehwe, dọ wlenwín ene lée sixu hen nú taji e dọ nú e è kpɔn é me lée é gblé [10]. ADN dɔ dẹ sín xú lée me gègè nɔ hen nú gblé dọ jowamɔ linu [43], bo nɔ fɔn adohu adohu taji lée dó kpɔndéwú kpeví kpeví lée jí, fí e kpɔndéwú kpedé tle sixu hen nú taji e dọ agbaza me lée é gblé dẹ é [72]. Nú e è kpɔn é sín alokpa kpódó ninɔme tɔn kpó nɔ wà nú taji dẹ dọ wlenwín e sɔgbɛ bo è na zán dó dẹ ADN dọ vo é dẹ xixo me [29].

Hudo e dọ flebotomu lée tunwuntunwun me ganji é, nukúnnúmɔjenũme dó lee gbɛtɔ lée nɔ dya gbɔn é wu, kpódó nú e ma nyí nú taji ă lée é dɔ dẹkpó kpó zón bo è bló azɔwanú e nɔ gbéjé nú kpɔn lée é [23]. Dɔn ɔ, è nɔ zán wlenwín xomenũ tɔn lée hwehwe dó gó nú wlenwín taxonomie morphologique tɔn lée bo na dó tunwun flebotomu lée. Dɔ kpɔndéwú 3, wlenwín e è nɔ zán dó wlan nú dó nũvínúví lée jí é we nyí dọ è ni dẹ ADN sín me, bo sɔ nú e è kpɔn lée é dọ tenme tenme, lobo lé hen nú e è kpɔn je nukɔn é bú. Ene wu 3, é byɔ tawun dọ è ni ba wlenwín e ma nɔ hen nú gblé ă lée é, bo na dó hen nú e dọ gbɛ ɔ me lée é kpódó lee é cí é kpó dọ te.

È ko zán wlenwín gègè dó dè acide nucléique sín kó me. É dō mǎ có, è dō na hen nũ e è byo lée é dó ayi me, dō wlenwín vovo lée dō nũwukpikpé vovo bo na lé dō hudo mimějinino tǎn [9]. Ði kpóndéwú ó, è mǎ dō flebotomu sín nukún lée na dō dogbó nú PCR sín d̄id̄ekpo [69]. Gó nú nũ e na dǎn azon wá lée é kpinkpǎn gudo ó, è na dè ADN Flebotomu tǎn hwéhwe bo na dó tunxun nũvínúví lée. È sixu zán wlenwín vovo lée dó dè nũ sín me, é dō mǎ có, nũ e è na mǎ lée é kpoo lee ye na nyó só é kpó na gbǎn vo dō wlenwín lée tentin. Dobanúnútó lée ko d̄yo tuto nũbibató d̄é lée tǎn nú flebotomu lée [8], bo na bló bǎ nũkún-yiya kpo/aló d̄agbe e è na dè sín acide nucléique me é kpo na jeji [8, 9, 69], bǎ è sixu lé zán huzuhuzu d̄evo lée, bǎ è bló nú hěnnu e na nyí arthropode lée é d̄evo lée, bo na lé zán ye dó flebotomu lée jí [58, 76]. PCR e na só ayi dō mitochondrie kpeví kpeví lée jí lée é (COI aló CytB) na sǎgbe dō kpaá me xá wlenwín e è na zán dó dè nũ sín me lée é, bǎ ye na byo dō è ni dè ADN sín fénnú gègè me. Ðò vogbingbǎn me ó, wlenwín NGS tǎn d̄evo e è na xà nú hwenu gegè lée é (Oxford Nanopore kpo PacBio kpo) na byo dō è ni má nũ kpeđé kpeđé, bo lé dō ADN d̄agbed̄agbe. É dō mǎ có, enyi è dè nũ e è na ylo dō spin column é tǎn ó, è na mǎ ADN genomique sín akpáxwé e na yí 60 kb é, bǎ è na dè nũ e è na ylo dō phenol-chloroform é sín akpáxwé lée me kaka je 150 kb jí [77]. Tablo 5gó ó xò wlenwín vovo e è zán dó dè ADN e dō flebotomu me é tǎn é kplé, bo lé xlé dō è ko d̄yo wlenwín le nú nũvínúví ene lée à jí. È na xlé nũkún-yiya lée á, dō ye na sín nũ e è kpón lée é sín d̄axó kpo lee è na sǎnũ na gbǎn é kpo wu. É dō mǎ có, è dō na hen nũ e è na ylo dō “modification colonne” é dó ayi me, bo na dó sixu mǎ nũ je nũ e è na ylo dō “protocoles d’extraction” é wu nú flebotomu lée aló nũvínúví kpeví kpeví d̄evo lée.

Hwenu e è na só wlenwín e è na zán dó dè nũ sín me é ó, è dō na gbéjé nũ gègè kpón, d̄i kpóndéwú nabi e è na dè é, hwenu e è na dè nũ sín me é, kpo wlenwín e è na zán dō dǎ é kpo. Hwenu e wlenwín NGS tǎn lée na byo dō è ni zán ADN génomique e dō hlǎnhlǎn d̄axó é ó, è sixu zán wlenwín e è xlé dō fí lée é bí nú nũwiwa e jinjǎn PCR jí lée é.

Devo ó, nũkplǎnme gègè ko ba dǎ nú wlenwín e ma na hen nũ gblé dó me wu á lée é sín ADN me nú nũvínúví kpeví kpeví e dō ayikúngban jí lée é, nũ e è hen d’ayí dō xǎgbigbázówatan lée é, kpódó nũvínúví e dō agbaza bǎkun lée é kpó [19, 26, 28, 55, 63].

#### 6.4.2. Acides nucléiques sín d̄id̄e e ma na hen nũ gblé á é

Tagba d̄axó e dō nũ e na hen afǎdǎtǎ lée é, dō taji ó, flebotomu lée é sín nũ lée gbígbéjé kpón me é d̄okpo we nyí dō è ni hen nũ e è kpón lée é dō te bo na dó sixu só dó nũ e è xò kplé dō nũvínúví lée me lée é me. Nũ e è na wá bo na na dè ADN tǎn lée é gègè na byo dō è ni bló bǎ nũ e dō xú ó me é ni xú, bǎ ene na zǎn bǎ è na hen nũ e è só d’ayí é dō te. Amó, è bló wlenwín e na dè acide nucléique e ma na hen nũ gblé á lée é tǎn é bonu ye na dè nũ e dō gũ me lée é tǎn, bo ma na hen nũ e è kpón é gblé dō agbaza lixo á, bo na wá nũ dó lee é na na gbè gbǎn é wu aló d̄yo lee é cí é á. Wlenwín ene lée xa akwe tawun hwenu e è dō azǎ wá xá nũ xa akwe aló nũ e dō dogbó lée é we é, d̄i flebotomu lée, fí e è na hen nũ lée dō mimě jí dè é dō taji nú nũ e è na gbéjé kpón dō sǎgudo lée é, lee nũ lée cí é aló nũ e è na gbéjé kpón lée é. Wlenwín e è na zán hugǎn é we nyí wũsláslá e ma na hen nũ gblé á é, bǎ è na bló bǎ flebotomu lée na na ten yetǎn me á, bo na nyló ye dó lysis buffer e me proteinase K dè é me bléblé.

È ko zán wlenwín mild-vectolyse tǎn ó ganji dó flebotomu lée jí, dō taji ó, bǎklé alókpa lée jí [24]. Wlenwín ó na zán nũ e è na ylo dō centrifuge classique (dō ninǎme elo me ó, nũ e è na ylo dō DNeasy Blood and Tissue kit é, QIAGEN, Hilden, Allemagne) bǎ è na bló huzuhuzu lée dó mǎ ADN bo na hen nũ e è kpón é gblé á. É dō mǎ có, è dō na hen nũ e è na ylo dō lyse é dō mimě jí (hlǎnhlǎn lyse tampon tǎn kpódó afǎ e na hen jǎhǎn syensyen é d̄é gó na kpó) [17] bo na dó sixu dè acide nucléique lée tǎn, bo na dó dè nũ e na hen nũ gblé dó agbaza wu lée é kpó [24]. Ðò kóme sín xeví lée linu ó ó è sixu lé zán nũ e na dè ADN sín me é HotSHOT (Bento Bioworks Ltd, London, Royaume-Uni) [73] e na yawu bo na lé xa akwe é, bo na zǎn bǎ è na yawu bló nũ e è kpón lée é bo na lé xa akwe. Ene gudo ó, è sixu kló nũ e è só d’ayí nú nũvínúví lée bo na dó tunwun lee ye cí é. Me e è w’azǎ na kpódó DNeasy Blood and Tissue kit kpó lée é dō na hen nũ e è na ylo dō Marc-André é sín sín dó kǎn, bǎ me e è w’azǎ na kpo HotSHOT DNA extraction kit kpo lée é ka dō na kǎn ganji bǎ è na só ye dō sín me, aló é na nyó hú mǎ ó, è na só ye dō résine d̄é me dō sín d̄id̄e sín lanme gudo, sǎgbe xá tuto e è tinme céđécéđé dō xota elo me é [73]. Ene gudo ó, è sixu lé zán nũ e è dè sín dogbó me lée é dó gbéjé nũ lée kpón dō dǎ, d̄i PCR, bo na dó bló bǎ wuntun dogbó tǎn tawun tawun lée na gǎngǎn. Wlenwín e è na zán dó dè acide nucléique e ma na hen nũ gblé á é tǎn é dō taji tawun bo na dó kplǎn nú dó Flebotomu lée é wu, kaka je nũ e sixu dǎn azon wá bǎ ye sixu hen lée é tunwuntunwun jí. Enyi dobanúnútó lée hen nũ e è kpón é dō mimě jí ó, ye sixu mǎ nũ xa akwe e kúnkplá dogbó metǎn lée é, bo ka na lé hen nũ e è kpón é dō te bo na dó gbéjé kpón aló kplǎn nú d’ejí.

**Tablo 5g3 5 :** Akwexixo do jeme, zinzan kpódó lee è nò xwedo tuto nú nù lée gbòn é kpó bo na dó dè ADN flebotomu e nò nyí phlebotomine é tòn tón

Sén	Akwéxixo	Nukùnkpénùwù	Nùjlajla nú nùvínúví kpeví kpeví lée
Dotín nù lilé lilé bó dè kwi dó vovo tòn	2.5 – 3.55 US\$ [39]	PCR, NGS	[9]
Fenolu-klorofomu	0.24 US\$ [69]	PCR, NGS	[9]
HotSHOT	<0.01 US\$ [69]	PCR	-
Je dide tón	0.12 \$3 [69]	PCR	-
Chelex	0.02 \$4 [41]	PCR	[41, 76]

**6.5. MALDI-ToF MS**

MALDI-ToF MS (wlenwín e nò zan do dè kén wujónú lée e / hwenu e è nò zòn é sín kéndiđe) nyí wlenwín dè bə è só dọ wlenwín e nò zan do dè kén wujónú lée e jí, bo na dó tunwùn nù e dọ proteine lée me é (‘aloví’) e dọ nùdọgbè lée me é bo lé gbéjé ye kpón. MALDI-ToF ó, è nò tunwùn i d’èji dọ é nyí azòwanú taji dè bo nò d’alò me bə è nò tunwùn nùvínúví e dọ afo bo dọ taji dọ dotóoxwé kpódó kanlin lée kpó linu lée é. É dọ mǎ có, è hen ó, è na zán wlenwín ene dó tunwun fí e flebotomu lée nò sù dè é vovo lée, kaka je flebotomu e ma ko sù à lée é kpódó yinvi hun e è nò du dọ flebotomu asi e è gó lée é me é kpó jí, bə è ko zán ganji bo dó tunwùn vogbingbòn e dọ flebotomu asú lée kpódó asi lée kpó tentin é dọ ninome vovo e me è nò hen nù lée dọ é kpódó ee è nò bló bə ye nò cí nù dọkpo ó dọhun lée é kpó me [28, 4, 30]. Wlenwín ene ó nò lé na hlǎnhlǎn vogbingbòn tòn dǎxó dọ hǎnnu kpeví kpeví lée, kanlin alókpa lée kpódó gbətó lée kpó sín ateji. Wlenwín ene nò zón bə dobanúnütó lée nò yawu tunwùn nùvínúví lée ganji, bə ene dọ taji bo na dó mǎ nukúnnú je lee flebotomu lée nò gbakpé gbòn é, walò yetòn lée kpódó azǎ e ye nò wà dọ azòn lée jijla me é kpó wu. MALDI-ToF nò wà azǎ taji dè dọ nùkplónme azòn lée tòn kpódó wlenwín e è nò zán dó du dọ azòn lée jí lée é kpó me, dọ é nò dè vogbingbòn dọ kanlin alókpa lée tentin gbòn proteine lée jí gblame. Nù taji wè we dọ wlenwín ene me òn bo nò dọ dogbó nú lee è nò zán ε gbòn hwèhwe é. Nukòntòn ó we nyí dọ è ni dọ nù e è nò zán dó kpón nù lée é, bə ye nò xǎ akwe tawun bə è sixu mǎ ye bo na dó tunwun nù e nò nyí arthropodes lée é keđe. É nyó wà ó, è sixu du dọ dogbó ene jí hwenu e è nò zán dọ macinu jí é dídó dọ wlenwín e nò zan do dè kén wujónú lée e ko huzu azòwanú dobanúnütó tòn dè dọ azǎxwé proteomique lée kpo/alò azònxwixwí lée kpo me é gblame. Wegó ɔ we nyí dọ è nò xlé nù e è nò mǎ dọ xójlawema lée me é kpedé, bə ene nò zón bə è dọ na bló xójlawema dè dọ xwégbe bo na dó dide e jinjon nù e è tuùn ganji lée é jí é, bə é na nyó hugǎn dọ è ni xò nù kpón dó lee nù lée dè gbòn é kpo nù e è nò ylo dọ wenhennu (COI, cytB) é dè kpo jí. É dọ mǎ có, è dọ na hen nù e è dọ lée é dó ayi me, bo na dó sixu hen nù e è mǎ dọ kó me lée é dó ten adókijenumǎ tòn MSI e alǎgònto-dotóoxwe Paris tòn, Wemaxǎme Đaxó Sorbonne tòn, France kpo nù e è xò kplé dọ Bruxelles lée é kpo nò kpé nukún dó wu é me Belgique (<https://msi.happy-dev.fr/>). Hwenu e è dọ tito bló we bo na

bló MALDI-ToF protein profiling é ó, è dọ na hen kpóndéwú lée dọ fí e è xúxú dè é alò dọ éthanol 70% e dọ hlǎnhlǎn molekwilu tòn é me, bo ma na só ye dọ jòhòn e dọ fí ó é me ó. É dọ mǎ có, è kplón nù me e nò zán lée é dọ ye ni zán 60% acetonitrile/0,3% TFA sín sín e me acide sinapinique (30 mg/mL) dè é nù nùsiso MALDI-ToF tòn ó, bo na dó sixu bló bə dide proteine yetòn lée tòn na sǎgbe xá nù e è ko dètón kaka je òn lée é.

*Kpóndéwú Nùsiso nú MALDI-ToF MS (Dide 7g3 ɔ)*

È nò bé nùvínúví e è hen dọ ninome vovo lée me lée é dó jòhònnu je nukòn bo nò xú ye dọ jòhònnu, bo nò lé fǎn ye. È nò dè ta kpódó adǎgo kpó sín bo na dó mǎ agbaza sín wujónú dèdèe me jijo taji e kúnkplá agbaza metòn lée é dè lée é, bo na dó sixu só dide lée dọ nù jí bo lé gbéjé agbaza metòn kpón. È sixu zán akón nú MALDI-ToF bo hen adǎgo e kpó é dọ te bo na dó dè ADN tòn. Nú è na bló tuto nú proteine lée ó, è nò bló bə akón ó nò cí nù dọkpo ó dọhun dọ 1,5-mL ala kpeví kpeví lée me kpódó 10 µL sín nù e nò bló bə è nò bló nù dọkpo ó é kpó, bo nò zán hwí kpódó lamu kpeví kpeví e è nò zán azòn dọkpo lée é kpó. È nò zán nù e nò bló bə nù lée nò cí nù dọkpo ó dọhun é wè : sín e è bló bə é ma dọ ví à é kpó acide formique 25% kpo.

**Tasúna.**

Đò azǎ ene me ó, mì jló na na dobanúnütó lée wlenwín e nyó hugǎn bə è na zán dó jla flebotomu lée dọ é, bə ye na sǎgbe xá nù e gbé nya we è dè dọ dobanúnütó hwenu lée é, bo na dó sixu tunwùn nù e nò dòn azòn wá lée é ganji. Wlenwín dọkpo géé e nyó hugǎn dọ gbè ó bì me é dè dè à ; é nyó wà ó, wlenwín gègè tǎn, bə dọkpo dọkpo dọ lè tòn lée kpó dogbó tòn lée kpó.

Đò nù dèvo lée me ó, mì na tuto dè lée dó wlenwín vovo e è nò zán dó sonù nú flebotomu lée bo nò lé tunwun ye é wu. Nùkplónme ene lée, kaka je ye nùkplónme tòn lée jí, nò na tuto afòdide dọkpo dọkpo tòn e sǎgbe xá nù vovo e gbé nya we è dè lée é, bo nò zón bə è nò mǎ nù je nù e è na mǎ lée é wu ganji, bə è sixu dèji dó ye wu. Enyi mì nò na nù ene e góngón é ó, mì nò ba bo na d’alò dobanúnütó lée bə ye na cyan wlenwín nùjledonùwu tòn e sǎgbe hugǎn lée é bo na lé zán nú hudo yetòn tawun tawun lée é.

## Kúdónúme.

Wema wlantó lée dókú nú Richard Lane kpódó Zoe Jay Adams kpó e d̀ò h̀onme e ǹo Kpé nukún dó tan wu É d̀ò Londres, d̀ò Grande-Bretagne é d̀ò lee ye gbéjé wema ó kpón ganji gb̀on é wu, b̀o ene zón b̀o alonuwema elo nyó tawun.

## Akwezinzan.

Mi do kú nú az̀oxwe nuk̀onyi t̀on Bresil t̀on CNPq (numelo : 404395/2024-4) kpódó Fondation Araucária (numelo : 433/2025 PDI) kpó d̀ò akwe e ye na nú dobanunũ AJA t̀on lée wu.

## Tasóme d̀ò nũ e ba we e d̀e lée wu.

Jérôme Depaquit we nyí ẁedegbé we kpé nukún dó wema nũvínúvı́ t̀on ó wú e ; é d̀ò zinzın d̀ebú dó lee è na gbéjé alonuwema ene kpón gb̀on é kpódó gbeta nũwlanwlan t̀on ó é kpó jí ă. Wema wlantó d̀evo lée d̀o emi kún d̀ò nũ d̀ebú bo na d̀on tagba wá nú emi ó.

## Xó e d̀ide lée hen e

D̀ide 1gó ó: flebotomu e è hen d̀ò éthanol me é.  
 D̀ide 2gó ó: Nũ e è na zán dó só flebotomu lée d̀ò nũ jí lée é: A: lamu kófu sóbwe sóbwe ǹo (10 alò 12 mm d̀ò gblò me); B: pláki 24 kpódó yinvi kpó (enyi è d̀ò amı́ clove t̀on alò Euparal essence zán we bo na dó bló flebotomu lée na ó, ma zán plaki acrylique t̀on lée ó d̀ò nũ e ǹo nyí réaction chimique é d̀e na j̀e b̀o nũ e è kpón lée é na gblé); C: lamu kófu t̀on e jexa b̀o è na wlan nũ dó jí lée é; D: kéndjide yinvi ó t̀on ; E: nũ e è ǹo té dó j̀e jí lée é; F: ganxixo sín kófu alò nũ e cí m̀ó é d̀e bo hen flebotomu e è na só d̀ò nũ jí lée é; G: Dumont sín hwı́; H: pipeti ala ǹo; I: pipeti go ǹo e hozo bó hen sin yiı́ dó nũ me b̀o wu e  
 D̀ide 3gó ó: Agbàn e me dotó 24 d̀e é d̀e, b̀o flebotomu lée sín ta kpó adogo yeton sín nuvı́nu kpó d̀ò d̀okpo d̀okpo me.  
 D̀ide 4gó ó: È z̀e spermathecae bo só d̀ò sin Marc-André t̀on me sín nũ yoyó lée me. A: *Idioflébotomus longiforceps* (Lao RDP); B: *Sergentomyia minuta* (Flansé); C: *Phlebotomu ariasi* (Flansé); D: *Sergentomyia anodontis* (Lao RDP).  
 D̀ide 5gó ó: Wlenwın e è ǹo zán dó d̀e *Leishmania* d̀ò vo é.  
 D̀ide 6gó ó: Az̀owanu flebotomu t̀on nú biologie moléculaire, proteomique, kpodo/alò virusologie sín az̀ó lée kpo.

D̀ide 7gó ó: Wlenwın hwexónu t̀on e è ǹo zán dó wá nũ xá flebotomu lée é.

D̀ide 8gó ó: lamu lée vo to. A: lamu e gblé bo xú b̀o è só d̀ò Hoyer jí lée é; B: lamu kó xúxú d̀e t̀on d̀ò nũ kpeví kpeví me; C: è kpón flebotomu d̀evo e gblé é d̀ò nũgbejekpón sin m̀o me; D: xó e me è ǹo bló lamu xúxú d̀e d̀e é; E: ta, kpódó F: agbaza kpóndéwú B t̀on kpó d̀ò hwenu e è vó ε só d̀ò Euparal® me gudo é; G: ta, kpódó H: agbaza kpó nú kpóndéwú C e gblé é t̀on hwenu e è vó ε só d̀ò Euparal® me gudo é.

D̀ide 9gó ó: *Trichophoromyia ininii* sín awa xúxú.

D̀ide 10gó ó: *Flebotomus ariasi* sín awa e d̀ò sinme é.

## 12. Yewukónyi-dowu e d̀ò Zenodo jí lée é.

Yewukónyi-dowu 1gó ó: <https://zenodo.org/records/18198006>.

Yewukónyi-dowu 2gó ó: <https://zenodo.org/records/18311158>.

Yewukónyi-dowu 3gó ó: <https://zenodo.org/records/18311106>.

Yewukónyi-dowu 4gó ó: <https://zenodo.org/records/18311154>.

Yewukónyi-dowu 5gó ó: <https://zenodo.org/records/18303014>.

Yewukónyi-dowu 6gó ó: <https://zenodo.org/records/18303014>.

Yewukónyi-dowu 7gó ó: <https://zenodo.org/records/18315029>.

## Xójlawema lée

1. Alkan C, Allal-Ikhlef AB, Alwassouf S, Baklouti A, Piorkowski G, de Lamballerie X, Izri A, Charrel RN. 2015. Virus isolation, genetic characterization and seroprevalence of Toscana virus in Algeria. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(11), 1040 e1-9.
2. Alten B, Ozbel Y, Ergunay K, Kasap OE, Cull B, Antoniou M, Velo E, Prudhomme J, Molina R, Banuls AL, Schaffner F, Hendrickx G, Van Bortel W, Medlock JM. 2015. Sampling strategies for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Europe. *Bulletin of Entomological Research* 105(6), 664–678.
3. Ayhan N, Baklouti A, Prudhomme J, Walder G, Amaro F, Alten B, Moutailler S, Ergunay K, Charrel RN, Huemer H. 2017. Practical guidelines for studies on sandfly-borne phleboviruses: Part I: Important points to consider *ante* field work. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 17(1), 73–80.
4. Bates PA. 1997. Infection of phlebotomine sandflies with *Leishmania*, in *The Molecular Biology of Insect Disease Vectors: A Methods Manual*. Springer. p. 112–120.5.
5. Baum M, de Castro EA, Pinto MC, Goulart TM, Baura W, Klisiowicz Ddo R, Vieira da Costa-Ribeiro MC. 2015. Molecular detection of the blood meal source of sand flies (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, Parana State, Brazil. *Acta Tropica*, 143, 8–12.
6. Belen A, Alten B, Aytakin A. 2004. Altitudinal variation in morphometric and molecular characteristics of *Phlebotomus papatasi* populations. *Medical and Veterinary Entomology*, 18(4), 343–350.
7. Bhattacharya J, Chandra G, Hati AK. 1991. A simple method for cryopreservation of *Leishmania donovani* promastigotes, *Indian Journal of Medical Research*, 93, 245–246.
8. Caligiuri LG, Sandoval AE, Miranda JC, Pessoa FA, Santini MS, Salomón OD, Secundino NF, McCarthy CB. 2019.

- Optimization of DNA extraction from individual sand flies for PCR amplification. *Methods and Protocols*, 2(2), 36.
9. Casaril AE, de Oliveira LP, Alonso DP, de Oliveira EF, Gomes Barrios SP, de Oliveira Moura Infran J, Fernandes WS, Oshiro ET, Ferreira AMT, Ribolla PEM, de Oliveira AG. 2017. Standardization of DNA extraction from sand flies: Application to genotyping by next generation sequencing. *Experimental Parasitology*, 177, 66–72.
  10. Castalanelli MA, Severtson DL, Brumley CJ, Szito A, Footitt RG, Grimm M, Munyard K, Groth DM. 2010. A rapid non-destructive DNA extraction method for insects and other arthropods. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(3), 243–248.
  11. Cerqueira NL. 1943. Um novo meio para montagem de pequenos insetos em lâmina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, (39), 37–41.
  12. Charrel RN, Gallian P, Navarro-Mari JM, Nicoletti L, Papa A, Sanchez-Seco MP, Tenorio A, de Lamballerie X. 2005. Emergence of Toscana virus in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 11(11), 1657–1663.
  13. Chaskopoulou A, Giantsis IA, Demir S, Bon MC. 2016. Species composition, activity patterns and blood meal analysis of sand fly populations (Diptera: Psychodidae) in the metropolitan region of Thessaloniki, an endemic focus of canine leishmaniasis. *Acta Tropica*, 158, 170–176.
  14. Chen H, Rangasamy M, Tan SY, Wang H, Siegfried BD. 2010. Evaluation of five methods for total DNA extraction from western corn rootworm beetles. *PLoS One*, 5(8), e11963.
  15. Depaquit J, Grandadam M, Fouque F, Andry PE, Peyrefitte C. 2010. Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review. *Eurosurveillance*, 15(10), 19507.
  16. Diamond LS, Herman CM. 1954. Incidence of Trypanosomes in the Canada Goose as revealed by bone marrow culture. *Journal of Parasitology*, 40(2), 195–202.
  17. Ding H, Torno M, Vongphayloth K, Ng G, Tan D, Sng W, Ho K, Randrianambinintsoa FJ, Depaquit J, Tan CH. 2025. Hidden in plain sight: discovery of sand flies in Singapore and description of four species new to science. *Parasites & Vectors*, 18(1), 402.
  18. Es-Sette N, Ajaoud M, Bichaud L, Hamdi S, Mellouki F, Charrel RN, Lemrani M. 2014. *Phlebotomus sergenti* a common vector of *Leishmania tropica* and Toscana virus in Morocco. *Journal of Vector Borne Diseases*, 51(2), 86–90.
  19. Favret C. 2005. A new non-destructive DNA extraction and specimen clearing technique for aphids (Hemiptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 107(2), 469–470.
  20. Galati EAB. 2018. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classification, morphology and terminology of adults and identification of American taxa, in *Brazilian Sand Flies: Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control*, Rangel EF, Shaw JJ, Editors. Cham: Springer International Publishing. pp. 9–212.
  21. Galati EAB, de Andrade AJ, Perveen F, Loyer M, Vongphayloth K, Randrianambinintsoa FJ, Prudhomme J, Rahola N, Akhouni M, Shimabukuro PHF, Depaquit J. 2025. Phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) of the world. *Parasites & Vectors*, 18(1), 220.
  22. Galati EAB, Galvis-Ovallos F, Lawyer P, Leger N, Depaquit J. 2017. An illustrated guide for characters and terminology used in descriptions of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). *Parasite*, 24, 26.
  23. Garipey T, Kuhlmann U, Gillott C, Erlandson M. 2007. Parasitoids, predators and PCR: the use of diagnostic molecular markers in biological control of Arthropods. *Journal of Applied Entomology*, 131(4), 225–240.
  24. Giantsis IA, Chaskopoulou A, Bon MC. 2016. Mild-Vectolysis: A nondestructive DNA extraction method for vouchering sand flies and mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, 53(3), 692–695.
  25. Gidwani K, Picado A, Rijal S, Singh SP, Roy L, Volfova V, Andersen EW, Uranw S, Ostyn B, Sudarshan M, Chakravarty J, Volf P, Sundar S, Boelaert M, Rogers ME. 2011. Serological markers of sand fly exposure to evaluate insecticidal nets against visceral leishmaniasis in India and Nepal: a cluster-randomized trial. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(9), e1296.
  26. Gilbert MTP, Moore W, Melchior L, Worobey M. 2007. DNA extraction from dry museum beetles without conferring external morphological damage. *PLoS One*, 2(3), e272.
  27. Giordani BF, Andrade AJ, Galati EAB, Gurgel-Goncalves R. 2017. The role of wing geometric morphometrics in the identification of sandflies within the subgenus *Lutzomyia*. *Medical and Veterinary Entomology*, 31(4), 373–380.
  28. Guzmán-Larralde AJ, Suaste-Dzul AP, Gallou A, Peña-Carrillo KI. 2017. DNA recovery from microhymenoptera using six non-destructive methodologies with considerations for subsequent preparation of museum slides. *Genome*, 60(1), 85–91.
  29. Hajjibabaei M, DeWaard JR, Ivanova NV, Ratnasingham S, Dooh RT, Kirk SL, Mackie PM, Hebert PD. 2005. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1959–1967.
  30. Haouas N, Pesson B, Boudabous R, Dedet JP, Babba H, Ravel C. 2007. Development of a molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(6), 1054–1059.
  31. Hlavackova K, Dvorak V, Chaskopoulou A, Volf P, Halada P. 2019. A novel MALDI-TOF MS-based method for blood meal identification in insect vectors: A proof of concept study on phlebotomine sand flies. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(9), e0007669.
  32. Huemer H, Prudhomme J, Amaro F, Baklouti A, Walder G, Alten B, Moutailler S, Ergunay K, Charrel RN, Ayhan N. 2017. Practical guidelines for studies on sandfly-borne phlebotomine viruses: Part II: Important points to consider for fieldwork and subsequent virological screening. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 17(1), 81–90.
  33. Jancarova M, Polanska N, Thiesson A, Arnaud F, Stejskalova M, Rehbergerova M, Kohl A, Viginier B, Volf P, Ratinier M. 2025. Susceptibility of diverse sand fly species to Toscana virus. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 19(5), e0013031.
  34. Kapp JD, Green RE, Shapiro B. 2021. A fast and efficient single-stranded genomic library preparation method optimized for ancient DNA. *Journal of Heredity*, 112(3), 241–249.
  35. Killick-Kendrick R, Maroli M, Killick-Kendrick M. 1991. Bibliography of the colonization of phlebotomine sandflies. *Parassitologia*, 33(suppl.), 321–333.
  36. Lawyer P, Killick-Kendrick M, Rowland T, Rowton E, Volf P. 2017. Laboratory colonization and mass rearing of phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae). *Parasite*, 24, 42.
  37. Léger N, Pesson B, Madulo-Leblond G. 1986. Les phlébotomes de Grèce : 1ère partie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 79, 386–397.
  38. Léger N, Pesson B, Madulo-Leblond G. 1986. Les phlébotomes de Grèce : 2ème partie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 79, 514–524.

39. Leonel JAF, Vioti G, Alves ML, da Silva DT, Meneghesso PA, Benassi JC, Spada JCP, Galvis-Ovallos F, Soares RM, Oliveira T. 2020. DNA extraction from individual Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) specimens: Which is the method with better results? *Experimental Parasitology*, 218, 107981.
40. Lestinaova T, Rohousova I, Sima M, de Oliveira CI, Volf P. 2017. Insights into the sand fly saliva: Blood-feeding and immune interactions between sand flies, hosts, and *Leishmania*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(7), e0005600.
41. Lienhard A, Schaffer S. 2019. Extracting the invisible: obtaining high quality DNA is a challenging task in small arthropods. *PeerJ*, 7, e6753.
42. Lozano-Sardaneta YN, Mikery-Pacheco OF, Huerta H, Rojas-Soriano JE, Contreras-Ramos A. 2025. Wing geometric morphometrics is effective to separate sand fly species (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) related with leishmaniasis transmission in Mexico. *Acta Tropica*, 262, 107523.
43. Mandrioli M. 2008. Insect collections and DNA analyses: how to manage collections? *Museum Management and Curatorship*, 23(2), 193–199.
44. Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. 2013. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology*, 27(2), 123–147.
45. Marquina D, Buczek M, Ronquist F, Lukasik P. 2021. The effect of ethanol concentration on the morphological and molecular preservation of insects for biodiversity studies. *PeerJ*, 9, e10799.
46. Mathis A, Depaquit J, Dvorak V, Tuten H, Banuls AL, Halada P, Zapata S, Lehrter V, Hlavackova K, Prudhomme J, Volf P, Sereno D, Kaufmann C, Pfluger V, Schaffner F. 2015. Identification of phlebotomine sand flies using one MALDI-TOF MS reference database and two mass spectrometer systems. *Parasites & Vectors*, 8, 266.
47. Mekarnia N, Benallal KE, Sadlova J, Vojtkova B, Mauras A, Imbert N, Longhitano M, Harrat Z, Volf P, Loiseau PM, Cojean S. 2024. Effect of *Phlebotomus papatasi* on the fitness, infectivity and antimony-resistance phenotype of antimony-resistant *Leishmania* major Mon-25. *International Journal for Parasitology – Drugs and Drug Resistance*, 25, 100554.
48. Milligan BG. 1998. Total DNA isolation, in *Molecular Genetic Analysis of Population: A Practical Approach*, Hoelzel AR, Editor. Oxford: Oxford University Press.
49. Molina R, Jiménez M, Alvar J, González E, Hernández-Taberna S, Ines MM. 2017. *Methods in sand fly research*. Madrid: Servicio de publicaciones Universidad de Alcalá de Henares, Madrid.
50. Murphy WJ, Eizirik E, O'Brien SJ, Madsen O, Scally M, Douady CJ, Teeling E, Ryder OA, Stanhope MJ, de Jong WW, Springer MS. 2001. Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian phylogenetics. *Science*, 294(5550), 2348–2351.
51. Nacif-Pimenta R, Pinto LC, Volfova V, Volf P, Pimenta PFP, Secundino NFC. 2020. Conserved and distinct morphological aspects of the salivary glands of sand fly vectors of leishmaniasis: an anatomical and ultrastructural study. *Parasites & Vectors*, 13(1), 441.
52. Neuhaus B, Schmid T, Riedel J. 2017. Collection management and study of microscope slides: Storage, profiling, deterioration, restoration procedures, and general recommendations. *Zootaxa*, 4322(1), 1–173.
53. New TR. 1974. *Pscoptera. Handbooks for Identification of British Insects (Vol. I)*. London: Royal Entomological Society of London. 102 pp.
54. Perez-Ruiz M, Collao X, Navarro-Mari JM, Tenorio A. 2007. Reverse transcription, real-time PCR assay for detection of Toscana virus. *Journal of Clinical Virology*, 39(4), 276–281.
55. Porco D, Rougerie R, Deharveng L, Hebert P. 2010. Coupling non-destructive DNA extraction and voucher retrieval for small soft-bodied Arthropods in a high-throughput context: the example of Collembola. *Molecular Ecology Resources*, 10(6), 942–945.
56. Prudhomme J, Cassan C, Hide M, Toty C, Rahola N, Vergnes B, Dujardin JP, Alten B, Sereno D, Banuls AL. 2016. Ecology and morphological variations in wings of *Phlebotomus ariasi* (Diptera: Psychodidae) in the region of Roquedur (Gard, France): a geometric morphometrics approach. *Parasites & Vectors*, 9(1), 578.
57. Prudhomme J, Gunay F, Rahola N, Ouanaimi F, Guernaoui S, Boumezzough A, Banuls AL, Sereno D, Alten B. 2012. Wing size and shape variation of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) populations from the south and north slopes of the Atlas Mountains in Morocco. *Journal of Vector Ecology*, 37(1), 137–147.
58. Prudhomme J, Toty C, Kasap OE, Rahola N, Vergnes B, Maia C, Campino L, Antoniou M, Jimenez M, Molina R, Cannet A, Alten B, Sereno D, Banuls AL. 2015. New microsatellite markers for multi-scale genetic studies on *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, vector of *Leishmania infantum* in the Mediterranean area. *Acta Tropica*, 142, 79–85.
59. Prudhomme J, Velo E, Bino S, Kadriaj P, Mersini K, Gunay F, Alten B. 2019. Altitudinal variations in wing morphology of *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) in Albania, the region where it was first recorded in Europe. *Parasite*, 26, 55.
60. Rawlins DJ. 1992. *Light Microscopy: An Introduction to Biotechniques*. Oxford: Bios Scientific publishers. 143 pp.
61. Ready PD. 2013. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annual Review of Entomology*, 58, 227–250.
62. Rohlf FJ, Slice D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39(1), 40–59.
63. Rowley DL, Coddington JA, Gates MW, Norrbom AL, Ochoa RA, Vandenberg NJ, Greenstone MH. 2007. Vouchering DNA-barcoded specimens: Test of a nondestructive extraction protocol for terrestrial arthropods. *Molecular Ecology Notes*, 7(6), 915–924.
64. Sábio PB, Andrade AJ, Galati EAB. 2014. Assessment of the taxonomic status of some species included in the *Shannoni* complex, with the description of a new species of *Psathyromyia* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Journal of Medical Entomology*, 51(2), 331–341.
65. Sadlova J, Yeo M, Seblova V, Lewis MD, Mauricio I, Volf P, Miles MA. 2011. Visualisation of *Leishmania donovani* fluorescent hybrids during early stage development in the sand fly vector. *PLoS One*, 6(5), e19851.
66. Sales K, Miranda DEO, da Silva FJ, Otranto D, Figueredo LA, Dantas-Torres F. 2020. Evaluation of different storage times and preservation methods on phlebotomine sand fly DNA concentration and purity. *Parasites & Vectors*, 13(1), 399.
67. Sales KG, Costa PL, de Morais RC, Otranto D, Brandao-Filho SP, Cavalcanti Mde P, Dantas-Torres F. 2015. Identification of phlebotomine sand fly blood meals by real-time PCR. *Parasites & Vectors*, 8, 230.

68. Sant'Anna MR, Jones NG, Hindley JA, Mendes-Sousa AF, Dillon RJ, Cavalcante RR, Alexander B, Bates PA. 2008. Blood meal identification and parasite detection in laboratory-fed and field-captured *Lutzomyia longipalpis* by PCR using FTA databasing paper. *Acta Tropica*, 107(3), 230–237.
69. Senne NA, Santos HA, Araujo TR, Paulino PG, Mendonca LP, Moreira HVS, Camilo TA, da Costa Angelo I. 2022. Robust comparative performance of genomic DNA extraction methods from non-engorged phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, 36(2), 203–211.
70. Shaw JJ. 2025. A review of Leishmania infections in American Phlebotomine sand flies – Are those that transmit leishmaniasis anthropophilic or anthrooportunist? *Parasite*, 32, 57.
71. Tesh RB, Modi GB. 1983. Growth and transovarial transmission of Chandipura virus (Rhabdoviridae: Vesiculovirus) in *Phlebotomus papatasi*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32(3), 621–623.
72. Thomsen PF, Elias S, Gilbert MTP, Haile J, Munch K, Kuzmina S, Froese DG, Sher A, Holdaway RN, Willerslev E. 2009. Non-destructive sampling of ancient insect DNA. *PLoS One*, 4(4), e5048
73. Truett GE, Heeger P, Mynatt RL, Truett AA, Walker JA, Warman ML. 2000. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). *Biotechniques*, 29(1), 52–54.
74. Upton MS. 1993. Aqueous gum-chloral slide mounting media: an historical review. *Bulletin of Entomological Research*, 83(2), 267–274.
75. Volf P, Myskova J. 2007. Sand flies and Leishmania: specific versus permissive vectors. *Trends in Parasitology*, 23(3), 91–92.
76. Wang Q, Wang X. 2012. Comparison of methods for DNA extraction from a single chironomid for PCR analysis. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(2), 421–426.
77. Wang Y, Zhao Y, Bollas A, Wang Y, Au KF. 2021. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. *Nature Biotechnology*, 39(11), 1348–1365.

**Cite this article as:** Randrianambinintsoa FJ, Augendre L, Prudhomme J, Martinet J-P, Loyer M, Mekarnia N, Kerkoub H, Perveen FK, Huguenin A, Kariya E, Akhoundi M, De Andrade AJ, Berriatua E, Bongiorno G, Boyer S, Christodoulou V, Da Costa-Ribeiro MCV, De Souza LAF, Ding H, Dondji B, Dvořák V, Erisoz Kasap O, Galati EAB, Gállego M, Ballart C, Gouzelou S, Haddad N, Masse RS, Mekuria AH, Ivovic V, Kaczmarek S, Shahar MK, Kirstein OD, Kniha E, Kolářová I, Lincoln T, Lucanas C, Mikov O, Nov K, Özbel Y, Pesson B, Posada Lopez LC, Prasetyo DB, Rahola N, Rebollar-Tellez EA, Rodrigues BL, Roy L, Saini P, Sanjoba C, Shimabukuro PH, Siriyasatien P, Soszynska A, Suleşco T, Sylla M, Torno M, Volf P, Vongphayloth K, Sinh Nam V, Wardhana A, Yessinou E, Zapata S, Gantier J-C & Depaquit J. 2026. Processing and mounting phlebotomine sand flies: a consensus guideline. *Parasite* xx, xx. <https://doi.org/10.1051/parasite/2026009>.



An international open-access, peer-reviewed, online journal publishing high quality papers on all aspects of human and animal parasitology

Reviews, articles and short notes may be submitted. Fields include, but are not limited to: general, medical and veterinary parasitology; morphology, including ultrastructure; parasite systematics, including entomology, acarology, helminthology and protistology, and molecular analyses; molecular biology and biochemistry; immunology of parasitic diseases; host-parasite relationships; ecology and life history of parasites; epidemiology; therapeutics; new diagnostic tools.

All papers in Parasite are published in English. Manuscripts should have a broad interest and must not have been published or submitted elsewhere. No limit is imposed on the length of manuscripts.

**Parasite** (open-access) continues **Parasite** (print and online editions, 1994-2012) and **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée** (1923-1993) and is the official journal of the Société Française de Parasitologie.

Editor-in-Chief:  
Jean-Lou Justine, Paris

Submit your manuscript at:  
<https://www.editorialmanager.com/parasite>

## Appendix

### Nüzegonúnú 1g3 ó : Donudónu nùkplónme e kúnkplá nù e no nyí biochimie lée é.

Nüvínúví e xó dɔ we è dè lée é we nyí flebotomu lée. É dɔ mɔ́ cɔ́, è sixu jla linlin ɔaxó ó dɔ́ nú kanlin e no dɔ́ afɔ́ tawun lée é ɔevo lée bo è sixu tunwùn ye dɔ́ wuntun agbaza tɔn e dɔ́ xome lée é keɔɔ jí. Dò nùjledonùwu me ó, agbaza sín wùjónú dè lée no cí xúgloxú dɔ́hun dɔ́ akpáxwé dè me bo lee ye cí é no na mí nù xó akwe dè lée. Nù e wu é no dɔ́n me tawun dɔ́ è ni kpón pompi nùdudu tɔn lée, spermathecae lée kpódó lamu kan e me ye no gbɔn lée é kpó é ne. Dó nù e mí na gbéjé kpón lée é bí wutu ó, è dɔ́ na wɔn gbédé dɔ́ sín hwenu e è na hen nüvínúví lée dɔ́ te é kaka je hwenu e è na kplé ye é ó, mí na zán nù e no nyí redox é kpowun á. Nù e mí na cɔ́ midéé alò linlin dɔ́kpó e na kplá mí é we nyí dɔ́ mí ni ma xò nù e no hen nù gblé dó me wu lée é kplé xá nù e no hen nù gblé dó nù wu lée é ó.

### Ahan syensyen e no nyí éthyl é ; etanolu :

È na zán nù ene dɔ́ ali vovo nu. Ahan syensyen sín molekwilu lée no yí wán nú sín tawun, ene wu ó, ye no dè nù e no zón bo è no gon sín me é xlé. Amó, ahan syensyen e me è ma no mɔ́ nù gègè dè á é (é we nyí dɔ́, sin sukpó d'eme dín) na wà nù dè dɔ́ acidu nucléiques lée wu (sín we nyí kentó nú acidu nucléiques lée). Nù è só nüvínúví lée dó éthanol me ó, é nyí bo na dó hen ye dɔ́ te keɔɔ we á, loɔ, bo na dó jla xú lée dɔ́. Dò histologie me ó, mí no dè vogbingbɔn dɔ́ nù taji wè tentin hwehwe: hlónhlón e no byo me me é kpódó hlónhlón e no hen nù lidò é kpó. È mɔ́ nukúnú je wu ganji dɔ́ nù e no hen nù dɔ́te é ɔagbe dè dɔ́ na yawu byo xú lée me gɔngɔn je nukɔn cobo na jla ye dɔ́. Nú ahan 96% ó, hlónhlón e è no byo me é no dɔ́bla yí 1,05 (dɔ́ jlejiniño linu ó, nú è só acide picrique sín sín 0,75% ó, hlónhlón e è no byó me é no nyí 0,45, bo 3% potassium dichromate sín hlónhlón tɔn no nyí 1,45). Jlò e è dɔ́ bo na hen nüvínúví lée kpódó nüvínúví ɔevo lée kpó dɔ́ te kaka soyi dɔ́ éthanol me é nyí nùgbo dè nú nüvínúví lée gbéjé kpóntó lée. Linlin ó kpó dɔ́ yèyi ɔaxó nyí we bo na jló na hen nù e è wlí dɔ́ gle me lée é dɔ́ te nú nùkplónkplón e bo d'ewu lée é alò nú dobanúnútó sɔgudo tɔn lée. É dɔ́ mɔ́ cɔ́, linlin ene sixu je nú cytologiste alò histologiste dè á. Enyi è jló na hen kpóndéwú lée dɔ́ nù e è no só dɔ́ nù jí é me nú hwenu gegè ó, é sixu vewú bo è na vó ye w'azó na. Nù e wu kpóndéwú e ko dɔ́ xwè 10 jeji lée é no vewú alò tle no vewú bo è na zán é ne.

Nù ɔevo e è dɔ́ na gbéjé kpón é we nyí jlé e dɔ́ Flebotomu e è na hen dɔ́ te é kpódó hlónhlón e è na só dɔ́ te é kpó tentin é. Dò kanlin lée kpinkpon alò dotóoxwézó me ó, é nyó dɔ́ è ni bló tuto nú hlónhlón e na hugán hlónhlón e è na só dɔ́ te é azɔn 60 é. Dò nüwiwa me ó, nú nüvínúví kpéví kpéví lée ó, nú è na só kpóndéwú dè dɔ́ te ó, è no só ahan 4–5 gó na é hwe bí ó. Hen dó ayi me dɔ́ ahan syensyen ó na gon hlónhlón dɔ́, dɔ́ é na dè sín e dɔ́ xú e dɔ́ xú lée me é bí sîn.

Dò vivónu ó:

- Alcool éthylique ó, nù e no kɔn dó nù jí é we (ene wu ó, é no sɔge xá nù e kɔn dó nù lée é á);

- É no hen proteine lée j'ayi kpódó hlónhlón kpó bo no hen ye dɔ́;

- É no hen jò syensyen dè lée xú bo no hen glycogène j'ayi;

- E no zɔn bo xú lée no xú syensyen bo no hen ye syen.

### Nù e è no só potassium alò sodium dó bló na é:

Nù e è no zán dɔ́ nüvínúví lée kpinkplon me é só ayi dɔ́ hydroxyde potassium tɔn jí hugán, bo hwejiijo e wu é dɔ́ wen é dè dɔ́ fine á.

Sodium hydroxide [E524] no tɔn dɔ́ sín me, é sixu nyí dɔ́ hlónhlón vovo me. É no wá dɔ́ nüywe, alò glitter me. Nù e nyla dɔ́ wù tɔn hugán é we nyí dɔ́ é no hen johon syensyen (é no hú KOH). Enyi é wà nù xá proteine lée ó, é no hen ye xú, bo kpódó lipidu kpó ó, é no huzu ye dó adí syensyen lée me dɔ́ adí dɔ́dɔ́ hwenu (vogbingbɔn ɔaxó dè we nyí ene xá KOH, ee no na adí e dɔ́ sín me é dɔ́ adí dɔ́dɔ́ hwenu é). É dɔ́ mɔ́ cɔ́, è no mɔ́ hydroxyde potassium tɔn [E525] dɔ́ nù e è no yló dɔ́ 0,1 g mɔ́ é me, bo ene no zón bo è no dè da kpó nú sín ó tawun hwenu e è ma dɔ́ jlé e jí è na jlé nù dó é á é. Dì kpóndéwú ó, è só 0,1 g sín kófu 1 dó sín e è hen xúxú é 1 mL me ó, é no na 10% sín kófu. Nù wego e dɔ́ hydroxyde potassium tɔn me dɔ́ akpá dɔ́kpó me é we nyí dɔ́ é no hen nù gblé dó carbonate wu kpedé (KOH sín sín dè dɔ́ kancica ɔaxó bo no hen CO2 lidò, bo mɔ́ me ó, é no bló jé carbonate tɔn lée). È na zán nù syensyen ene lée dó bló bo acide gras lée na xú gbɔn ye huzuhuzu dó adí e no xú dɔ́ sín me lée é me gblame. È dɔ́ na flín dɔ́ nù e no hen nù lidò é, dɔ́ éthanol, no bló bo ami e dɔ́ kpóndéwú ó me lée é dè lée no xú. Amó, enyi è dɔ́ kpóndéwú ó dɔ́ nù e me sín dè é dè me bo só nù syensyen dè dó dɔ́ na ó, acide gras (e syen hú mɔ́ alò hwe hú mɔ́ lée é) na xú. Ene wu ó, dodónu syensyen ó na wà huzú adí fifá dè. Dò ninome dè lée me ó, enyi jò lée sukpó ze xwé wu ó, dɔ́ kpóndéwú ó, dɔ́ asi lée me ó, é na nyó dɔ́ è ni só johon ó yí 35–40°C bo na dó bló bo nüwiwa ó na bɔwu, alò, è na bló bo hwenu e è na no xò nù kpón dó nù wu é na dɔ́ ga dɔ́ johon kpàa tɔn me.

### Sinme /Sin Marc-André tɔn e ma dɔ́ sinme á é:

Fi ó, mí na ba do nù ɔagbe kpódó nù nyanya kpó e dɔ́ Marc-André sín linlin zinzan me lée. Klolu (trichloroacetaldehyde monohydrate), acide acétique kpódó sín kpó we dɔ́ nù e è no só dó bló nù ene na é me. Nù ene no hen nù gblé tawun (acidu kpódó aldehyde kpó sín kpóndéwú). É na hen hydroxyde potassium tɔn e sixu kpó dɔ́ kpóndéwú lée me é gblé, bo na bló bo adí alkaline e è bló dɔ́ hydroxyde potassium tɔn zinzan hwenu lée é na xú á. Nù e no hen nù gblé dó nù wu é ene na lé wà nù dó azó e glucosamines e no bló dɔ́ chitin me lée é no wà dɔ́ ahan syensyen me é jí gbɔn ye xixo dó jí gblame, bo mɔ́ ó, é na bló bo xúgloxú ó na bɔwu. Nüwiwa ɔevo we nyí dɔ́ é no bló bo jé e dɔ́ fine lée é dè lée xú. Hwenu e è ko só acide fuchsine dó bló sinme nú Marc-André sín linlin ó d'ayi é (mɔ́ ó, é dɔ́ ninome oxidé tɔn me), é na kpéwú bo na tén kpón bo na hen azó e è no wà dɔ́ ahan wego ó me lée é dɔ́ te. Enyi hwenu e è na xò nù kpón dó nù e è no yló dɔ́

Marc-André é wu é kpó ninome e me è no hen nũ dó é kpó gudo ó, éthanol keq̄e we è na no kló nũ ó na. Mǎ ó, mĩ no bé sin ðiðekpo sín akpáxwé kpóndéwú lée tòn.

**Dagbe e de me lée:**

- Acehu nú nũ e sin taji lée me e ze xwé wu
- Xú ó sin gboje
- Ðo xó dó xú jí bo na dó gbéjé nũ e ðò xome lée é kpón ganji

**Nũ nyanya lée:**

Chloral hydrate no hen me blí, bo è ko zán ðò azongbónúme gbetó tòn me. È ðó na zán ðò kófu e me è no bló lamu lée é ðè é gló, bo na lé xwedó sén ðèðee ðo xó dó nũ e no hen nũ gblé dó me wu lée é .

**Nũ e è no wà dó ðè sin kpò lée é:**

Jodómewu lée é xlé ðo nú kpóndéwú kpeví kpeví lée ó, é kún nyó ðo è ni xwedó lee è no bló bo ahan syensyen lée no ðò jijeji we gbòn é ó. Nú kpóndéwú ðaxó ó, mĩ na bé kpódó éthanol 80% kpó, ene gudo ó, éthanol 90%, 95% bə gudo me ó, éthanol blebu. Nú kpóndéwú kpeví kpeví lée ó, è no zán nũklósin bo è no só éthanol 90% dó bló na, bo ene gudo ó, è no nyló dó éthanol blebu me. Ðò hwe ene nu ó, mĩ na flín hwebĩnu ðo éthanol blebu no ba na hen sin e ðò jòhòn me é ðó te. Ðò nũgbéjékpónten e no kplón nũ dó nũvínúví lée wu lée é me é we nyí ðo è ni bló bo è na ðè sin sín nũ e è kpón lée é me kpódó wũsláslá e è no ylo ðo beech creosote é kpó. Égbé ó, è no gbé nũ nũ nũ ene e è no zán tawun dó hu nũvínúví lée, bo no hu jě lée, bo no lé hen atín lée ðó te é tawun ðó wǎn tòn wutu (hydrocarbures aromatiques polycycliques) bo è lin ðo é no hen nũ gblé dó me wu, é no hen kanséezon wá, é no hen nũ gblé dó nũ e ðò sin me lée é wu kaka sɔyi, bo no lé hen nũ gblé dó nũ e ðò sin me lée é wu.

Nũ e mĩ lin ðo è na sonũ na nú è na só kpóndéwú lée ðó nũ jí é ðokpó we nyí Euparal® kpódó Euparal essence kpó (è tinme ðò akpáxwé e bə d'ewu é me). È no yí gbè nũ nũ e è no ylo ðo Euparal® kpódó Euparal kpó é ðé ganji; kpóndéwú e è mo ðò 90% éthanol sín wũsláslá gudo

**Nũzegónúñũ 2g3 ɔ: Nũ e è só dó bló nũ e è no zán lée é na é.**

Hidròksidi potasiyomu tòn 10%  
G 10 g  
Sin e è hen xú é q.s. mL 100

Gomme chlore montage médium Hoyer médium  
Sin e è hen xúxú é 50 mL  
Klolu sin 200 g  
Gomme arabe 50 g  
Glicérol 20 mL

Marc-André sín xósin  
Klolu sin 40 g  
Acide acétique glaciaire 30 mL

Sin e è hen xúxú é 30 mL

Fuchsin acide 1% ðò sin e è hen xúxú é me  
Fuchsin acide kó 1 g  
Sin e è hen xúxú é 99 mL

Marc-André sín sin e è só fuchsin dó bló na é  
Marc-André sín sin 10 mL  
Fuchsin 1% 50 µL

**Nũzegónúñũ 3g3 ó: Euparal®, balsamu Canada tòn, ahan polyvinyle tòn alò nũ ðevo e è no zán dó jla nũ ðó lée é**

**Alukólu polyvinyl:** Nũ e è no to ðó nũ jí é we nyí nũ e nyó hugǎn é hwenu e nũ e sín hudo è ðó bo na dó ðè sin sín lanme ganji é ma ðò fine á é. Ene gudo ó, è no xò ahan polyvinyl tòn dó lactophénol Amman tòn me. È ðò mǎ có, kpléklé ene lée no ðè nũ nyanya taji e ðò xúxú alò ahan syensyen polyvinyl tòn e no huzu kristalu é me é xlé, ðó sin e no xú é alò é no cí wiwi hwenu e phenol no xú é wu. Ene kpó ðò wlenwín ðagbe ðé nyí we nú è na só nũ dó nũ jí nú hwenu klewun ðé.

**Balsamu Canada tòn:** È no zán é dó só ðó lamu kpo lamu kpevi kpo tentin ɔ, é no byo ðo è ni ðè sin sín kpóndéwú e è na só ðó nũ jí lée é me. Xylène alò toluène zinzan no hen nũ nyannya wa.

**Enecê medium:** Nú è na só ðó lamu kpódó lamu kpevi kpó tentin, ði Canada Balsamu ðòhun ó, é byo ðo è ni ðè sin sín nũ e è kpón é me. Enecê sín xógbé: kolofoni wewé mímé (22 g); jě copal e no xú ðò ahan me é (12 g), ahan blebu (20 mL), kanfó (10 g), jě e no hen nũ gblé dó me wu é (10 mL), kpódó eucalyptol (26 mL) kpó. Bo na dó sonũ na ó, è no só ahan blebu kpódó kanfó kpó dó gannu ðé me, ði kófu Erlenmeyer tòn ðòhun. Ene gudo hũn, gó colophony ó kpódó jě copal ó kpó na. Ene wayi ó, è no só nũ e no sú nũ dó é dó sú kófu ó na, bo no húnhún, bə ene gudo jen è no zé dó nũklósin-marie tòn me ðò zozo ðé me bonu nũ e è xò kplé é ni ma fyó ó. Enyi nũ e ð'eme lée é huzu sín bí mlémlé ó, è no só jě e no nyí terpentine é dó me, ene gudo ó, è no xò hwenu e nũ e è xò kplé é kpó ðò zo jí é, bó no só eucalyptol dó nũ e è xò kplé é me. Nú nũ e me è no bló nũ ó ðè é ma só no xú á ó, è no só Eenecê dó bló na, bo no ðó linlin eló: ahan blebu (30 mL), kanfó (17 g), terpentin (15 mL), eucalyptol (38 mL) (Cerqueira, 1943).

**Euparal®:** Nũ e è no yló ðo Cyprès l'Atlas Tetraclinis articulata tòn(Vahl, 1791) é we, bə Gilson kplón nũ dó wũ tòn bo bló ð'ayí ðò 1906. Nũ taji e é no wà é we nyí ðo é no bló polymérisation á. È ðò mǎ có, è sixu mo kpóndéwú e è só ðó lamu lée kpódó lamu e è só dó cyon nũ jí lée é kpó tentin é bəwu gbòn ahan syensyen alò nũ e nyó hú mǎ é gblame, é we nyí Euparal® essence. Resine ene ó, e no lé yló ðo sandarac ó, no yi etanol sin 80%. Triton X100 sín zinzan: sín e ma nyí ionique á é: Triton X100 ðò ðiðe sin me tòn e ma nyí ionique á é ðé me (4-(1,1,3,3-tetraméthylbutyl) fenil-poliéthylène glycol linfín, alò t-oktilfenoksiopolyetoxyéthanol, poliéthylène glikol tert-oktilfenyle

birgent éther me ó, è na zán dè fí gègè. É na zón bo è na bló bo nù e na hen nù gblé dó me wu lée é kpo é kpo na gbòn me. Nùvínúví e è hen dó ahan me nú xwè məkpan lée é sín kpóndéwú lée nyí nù e è na mō dè fí gègè é. É blawu dè è ni hen nù dó ahan me ganji ä, bo nùvínúví e è hen d'ayí gbòn mō lée é na vewū tawun bo è na sōnū nù ye bonu è na gbéjé ye kpón dè nūgbejekpón sín mō lée me. Hwèhwe ó, alá e me è só kpóndéwú lée dó é na gblé, bo ene gudo ó, ahan ó na xú. Dò ninōme wè lée bí me ó, ahan dídó nù hwenu gegè alò nù e è kpón lée é xúxú na dōn tagba dè wá tawun. Dò xwè 2008 me ó, Jonque dè wema dè tón dó lee è na vó sín na Flebotomu lée gbòn é jí kpódó nù e na hen Flebotomu lée xú é dè kpo dè Agepon e è na zán dó dè fótóo lée é [26]. Ene zón bo è dè linlin ó dè è ni zán nù e na hen nù xú lée é, bo ye ma nyí nù e na kló nù syensyen lée é ä. Dò dō ó, è na zán Triton X100 dè sín 0,5% me:  
 - È zé ahan blebu dó kpóndéwú xúxú ó me.  
 - Mi zé hlñhlón e dè dandan é nù Triton X100 sín sín dè 0,5% jí bonu kpóndéwú ó bí na byo sín me.  
 - Mi na te nu ceju 5 mō alo hu mō. Afōkpa lée bí dè na je yedéé sí dè xósín ó me.  
 - È na dè Triton X100 sín sín ó sín me bo na sō sín e na hen potassium hydroxyde ó wa ten tōn me.  
 Ene gudo ó, è na xwedó wlenwín ó, lee è tinme gbòn dè aga é.

**Nūzegōnūñ 4gó ó: Nù e è na só dó bló Euparal® alò Canada Balsamu na é afō dōkpó dōkpó jí**

1. È dè na dè sín sín nù e è kpón lée é me (enyi ninōme ó wlú alò anōsin cí mō ó, é na xlé dè sín kún dè ye me ganji ó).
2. È sixu bló bo sín na gon ahan syensyen e na nyí éthyl alcohol é jijladó gblame.
3. È sixu só kpóndéwú lée sín ahan 99% alò ahan blebu me bo só dó nù e na hen nù gblé dó me wu é dè me.

Alixwédo dó wa azō:

1. Mi fén flebotomu mexó lée dè éthanol 70% me.
2. Mi dè ethanol sín me bo sō KOH 10% dè ten tōn me. Só ní dó lamu jí.
3. Mi zé dó sinme kaka bo nùvínúví lée na kón.
4. Sún KOH sín me.
5. Só sín e è hen xúxú é dó súnsún nù e è kpón é jí bo note nù ceju 30 je 45.
6. Mi dè sín sín me

bo lé vó kló kpódó sín e e hu ace ná e kpo nu ganxixo 30 (Hwenu ó kan kpódewu nabí e we e: bo e lé dè kpódewu dèvo lée bo e w'azō d'e wu zēn, enyí hwenu ó ká lin ó ye só nó sukpó ä, dè taji ó nù kpódewu e wa azō ye tōn vokán vokán lée ó, hwenu ó dè na no kléwu)

7. Mi dè sín sín me .
8. Mi zé Marc-André sín sín (é sixu nyí sinme Fuchsin tōn) dó me bo note nù ganxixo 24 (azán dōkpo).
9. Súnsún sín Marc-André tōn sín jí.
10. Só sín e è hen xúxú é dó cyōn nù e è kpón é jí bo note nù ceju 30 je 45.
11. Mi dè sín bo lé vó kló kpódó sín e hu ace na e kpo nu ganxixo 30.
12. Mi dè sín sín .
13. Mi zé éthanol 70% dó me bo fén kpóndéwú ó.  
 A: Nù ta kpódó adōgo kpo ó, e ní yawu dōn ta alò adōgo ó sín akón jí .  
 B: Nù akón ó, dè aw  
 a lée sín gbòn akónnù ó hen kpódó sín hwí dōkpo kpo bo dōn dè akónnù lée sín dō kpódó hwí dèvo kpo gblame. È sixu fén ye códwe códwe, bo má akónnù ó dè amyōxwé kpódó dīsixwé kpo, sōgbe xá lée é.
14. Na dè sín sín ye jí kpedé kpedé gbòn ahan syensyen e na nyí éthyl alcohol é dè lée gblame. 50 – 80 – 95% kaka je hwenu e è na mō éthanol blebu é.
15. Mi hen sín sín nu kpódewu lée me gbòn ye sinsin me azon we, min 10 dōkpó dōkpó, kpódó 100% ethanol kpo.
16. Mi dè ethanol bo cyōn nu kpódewu lée kpódó atínken gbađota kpo nu ganxixo 15 dè jōhōn yaya nu.
17. Só kpóndéwú lée sín amí atínken gbađota tōn me dó Euparal® alò Canada Balsamu sín tō dè jí dè lamu é dè jí.
18. Só nù lée dè lee jló we gbòn é: È sixu zán nù kpeví kpeví lée alò hwí kpeví kpeví lée dó fén ta, akón kpódó adōgo kpo nù bōkle e na nyí flebotomu é dè nūgbejekpón sín mō kpeví lée dè gló. È dè na dè ta ó sín agbaza ó me bo na dó sixu só e dè ten ventro-dorsal tōn me, ene we nyí dè è dè na só occipital foramen ó dè aga bonu è na dó sixu kpón cibariumu ó tlōlō gbòn me. È na bló fénnú ó dè flebotomu e na só nù dó nù jí é me.
19. Jō kpóndéwú ó dó kaka je hwenu e nukún tōn me tōn na xú é.
20. Só ahan blebu dó kón atínken gbađota e mé é dè jí. Só nù e jí è na cyōn nù dó é dó Balsamu Canada tōn jí dè zōgbe dè jí.
21. Só dīdè lée dó gbāví xúxú e è sōnū na nù ene é dè me.