

APPLICATION DE LA MÉTHODE NUMÉRIQUE A LA TAXONOMIE DU GENRE *LEISHMANIA* ROSS, 1903

A propos de 146 souches originaires de l'Ancien Monde. Utilisation des allozymes. Corollaires épidémiologiques et phylétiques.

G. LANOTTE*, J. A. RIOUX*, R. MAAZOUN*, N. PASTEUR*, F. PRATLONG* et J. LEPART**

Collaboration technique : A. Martini-Dumas

RÉSUMÉ. Les auteurs utilisent les caractères enzymatiques, obtenus par électrophorèse en gel d'amidon, pour tenter une application de la taxonomie numérique à l'analyse systématique du genre *Leishmania* Ross, 1903. Pour ce faire, huit systèmes enzymatiques (PGI, ME, PGM, GOT, G-6-PDH, 6-PGDH, MDH et IDH) sont éprouvés sur 146 souches originaires de l'Ancien Monde. 35 électromorphes, correspondant à autant d'isoenzymes, permettent d'individualiser 14 zymodèmes. Ces zymodèmes sont assimilés à des Unités Taxonomiques Opérationnelles (UTO) et comparés deux à deux, à l'aide de l'indice de similarité de Jaccard. L'établissement de ces indices permet de bâtir une matrice d'association à partir de laquelle est élaboré le système taxonomique proprement dit. Le phénogramme, réalisé selon la méthode agglomérative, constitue l'expression finale de l'opération. Sa construction utilise la technique dite à *liens complets*.

L'objectivité du découpage en phénons est confirmée par l'analyse des correspondances. En définitive, les souches se répartissent en cinq groupes correspondant aux complexes *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania aethiopica* et cf. *Leishmania tarentolae*. Les phénons individualisés par la taxonomie numérique s'identifient donc aux taxons de la systématique traditionnelle.

La signification phylétique des unités individualisées est ensuite apportée par l'approche génétique. Il est en effet possible d'appliquer l'indice de distance de Nei, à condition de ramener les fréquences allozymiques à 0, 0,5 et 1. Le dendrogramme ainsi obtenu est identique au phénogramme : *Leishmania major* constitue un taxon homogène, individualisé depuis longtemps des autres groupes. Les complexes *Leishmania donovani* et *Leishmania tropica* ont conservé des liens non négligeables, témoignant d'une origine commune et d'une divergence évolutive plus récente.

The application of a numerical method to the taxonomy of the genus *Leishmania* Ross, 1903. — The recognition of 146 original lines in the Old World. Use of allozymic characters. Epidemiological and phyletic significance.

SUMMARY. Using enzyme characters determined by starch gel electrophoresis, the authors have applied the method of Numerical Taxonomy to the genus *Leishmania* Ross, 1903. Eight isoenzymes (PGI, ME, PGM, GOT, G-6-PDH, 6-PGDH, MDH and IDH) of 146 Old World strains

* Laboratoire d'Écologie médicale et Pathologie parasitaire (Pr. J. A. Rioux), Faculté de Médecine, F 34000 Montpellier.

** Écothèque méditerranéenne (G. Long), C.N.R.S. Route de Mende, F 34000 Montpellier.

Accepté le 16 septembre 1981.

are examined. 35 electromorphs, corresponding to equivalent number of isoenzymes, are identified by this method, and then grouped into 14 zymodemes. These zymodemes were used as Operational Taxonomy Units (OTU) and compared pairwise, using Jaccard's index of similarity. A matrix of association was constructed using these indices and it forms the basis for the taxonomic scheme elaborated. The final relationships are exhibited in the agglomerative dendrogram, constructed using complete linkage. The separation into phenons is confirmed by correspondence analysis. It is concluded that the original lines fall into five groups corresponding to the complexes *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania æthiopica* and cf. *Leishmania tarentolae*. The phenons as recognised by Numerical Taxonomy, can be equated with the taxa of traditional systematics.

The phyletic significance of the individualized phenons is then provided by a genetic approach. Thus, it is possible to compute the genetic distances of Nei with allozyme frequency values of 0,05 and 1. The new dendrogram is similar to the previous one: *Leishmania major* constitutes an homogenous taxon, long isolated from the others. *Leishmania donovani* and *Leishmania tropica* have retained a non negligible amount of genetic similarity, attesting both a common origin and a more recent evolutionary divergence.

Malgré la somme et la qualité des travaux accumulés depuis ces dernières décennies, la taxonomie des Leishmanies est loin d'atteindre le niveau de performance observé dans d'autres groupes systématiques. Certes, un nombre non négligeable de *bons caractères* sont actuellement disponibles. Tous restent cependant entachés d'un défaut capital: il s'agit de critères extrinsèques (R. M. Nicoli, 1963; W. H. R. Lumsden, 1974; P. J. Gardener, 1977; M. Hommel, 1978; R. Lainson et J. J. Shaw, 1979), c'est-à-dire ne relevant pas directement du parasite mais de ses hôtes: Arthropodes-vecteurs (réceptivité, positionnement intra-luminal des promastigotes) ou Vertébrés-réservoirs (pouvoir pathogène, expression clinique, réaction immunologique).

Or, depuis peu, grâce aux techniques biochimiques, une telle lacune se comble. Des caractères à la fois stables et diversifiés, mais ne faisant plus appel au cycle épidémiologique, sont disponibles. C'est le cas, en particulier, des données de l'analyse électrophorétique des *isoenzymes*, technique actuellement pratiquée avec succès par de nombreux chercheurs (*cf. bibl. in*: R. Maazoun et coll., 1981b). Pour chaque souche, une telle analyse permet de dégager un profil enzymatique caractéristique, exprimé par les *zymogrammes* des divers systèmes étudiés (R. L. Hunter et C. L. Markert, 1957). L'ensemble des souches, possédant les mêmes isoenzymes, forme une unité clairement définie: le *zymodème* (C. A. Hoare, 1972; OMS, 1978; D. G. Godfrey, 1979).

Au demeurant, de nouvelles difficultés surgissent car, dans le cas des Kinetoplastida, le « poids » d'une isoenzyme est actuellement difficile à traduire en langage systématique classique. Certes, quelques auteurs ont tenté une telle approche mais toujours en utilisant un mélange de caractères intrinsèques et extrinsèques, c'est-à-dire, en justifiant le choix des uns par leur liaison avec les autres (M. L. Chance, 1979).

Fort heureusement, une nouvelle orientation se dessine (P.D. Ready et M. A. Miles, 1980; W. C. Gibson et coll., 1980), conduisant à l'élaboration d'une classi-

fication numérique démarquée des concepts systématiques traditionnels (typologiques, phylétiques ou évolutifs). C'est d'une telle taxonomie et de son application au genre *Leishmania* dont il sera question dans le présent article.

* * *

L'essentiel de l'actuelle *taxonomie numérique* a été pressenti vers le milieu du XVIII^e siècle par le botaniste français M. Adanson. S'opposant aux règles de la systématique linnéenne, l'auteur prônait l'utilisation de nombreux caractères tant anatomiques que chimiques (organoleptiques, pharmacologiques) et écologiques. Vivement critiquée à son époque, sa théorie n'a pu être appliquée que tout récemment grâce aux possibilités du traitement informatique. Dans une importante série de publications, P. H. A. Sneath (1957 et 1964), R. R. Sokal et C. D. Michener (1958), P. H. A. Sneath et R. R. Sokal (1962 et 1973), et R. R. Sokal et P. H. A. Sneath (1963), ont largement développé les fondements et les indications de la méthode. Utilisée dans de nombreux domaines des Sciences de la Vie, celle-ci s'est avérée très efficace en particulier dans « les groupes réfractaires à la systématique courante » (P. Chardy, 1980). Ainsi, grâce à elle, certains taxons bactériens (*Vibrio*, *Lactobacillus*) ont pu être révisés avec fruit (P. H. A. Sneath, 1964 ; M. Véron, 1966 a et b ; P. L. Seyfried, 1968).

Comme toute autre technique de classification, la taxonomie numérique a pour but l'individualisation, l'ordination et la hiérarchisation d'entités biologiques voisines, à partir d'un certain nombre de *caractères phénétiques*¹ (morphologiques, physiologiques, éthologiques, chorologiques). Toutefois, la démarche utilisée s'oppose fondamentalement à celle de la taxonomie classique (E. Mayr, 1969). Cette dernière s'appuie en effet sur le choix raisonné d'un petit nombre de caractères considérés, *a priori*, comme discriminants et pris en compte séparément. Elle est dite pour cela *monothétique*. Au contraire, dans la taxonomie numérique, tous les caractères sont crédités d'un « poids » égal (M. Véron, 1969) et ce n'est que l'expression finale du plus grand nombre d'entre eux, pris en compte simultanément (*conception polythétique*), qui confère au matériel étudié son individualité et sa position hiérarchique (*phénon*). Au surplus, aucune hypothèse sur la *catégorie* de l'objet considéré n'est implicitement formulée car le calcul proprement dit repose sur la manipulation d'entités strictement opérationnelles. Rappelons, cependant, que la méthode atteint son maximum d'efficacité dans les catégories taxonomiques de niveaux génériques et infragénériques.

Matériel et méthodes

Au long de la présente étude, quatre étapes ont été suivies :

1 — Choix et codage des caractères,

1. Le terme *phénétique* est préférable à celui de *phénotypique* car il n'implique aucune hypothèse génétique. Un caractère phénétique sert, avec un grand nombre d'autres, à individualiser un « phénon », c'est-à-dire une unité taxonomique définie sur une base strictement numérique.

- 2 — Définition des Unités Taxonomiques Opérationnelles (UTO),
- 3 — Estimation des degrés d'affinité,
- 4 — Individualisation des groupements et élaboration du système taxonomique.

1 — Choix et codage des caractères

Dans le présent travail, les *caractères unitaires* (R. R. Sokal et P. H. A. Sneath, 1963) correspondent à la totalité des *électromorphes* obtenus à partir des huit *systèmes enzymatiques*¹ suivants : Phosphoglucose isomérase (PGI), Décarboxylase malique (ME), Phosphoglucomutase (PGM), Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), Glucose-6-Phosphate déshydrogénase (G-6-PDH), 6-Phosphogluconate déshydrogénase (6-PGDH), Malate déshydrogénase (MDH) et Isocitrate déshydrogénase (IDH).

L'individualisation d'un électromorphe s'appuie sur le calcul de sa vitesse de migration par référence à celle d'un marqueur dûment éprouvé (BEZIERS/78/LEM/75 ♀, 1 an, France). Cette vitesse est exprimée en distance relative : $\frac{d}{d_0} \times 100$ (R. Maazoun et coll., 1981b). Le codage s'effectue selon le schéma 1 — 0, traduisant la relation « présence-absence ». L'existence d'hétérozygotes de structure (R. Maazoun et coll., 1981a) n'introduit pas de difficulté supplémentaire : dans les systèmes monomères les deux bandes sont prises en considération ; dans les systèmes dimères et au-delà, seules les bandes extrêmes sont utilisées, les électromorphes de mobilité intermédiaire constituant autant de caractères redondants. Au surplus, l'homologie fonctionnelle des différents électromorphes, au sein de leur système génétique respectif (locus), n'obère en aucune manière leur propriété d'indépendance. Chacun d'eux possède en effet une configuration chimique propre (J. C. Avise, 1974) et par conséquent peut être considéré, au plan numérique, comme un caractère unitaire de type *attributif* (J. P. Benzécri, 1973).

En définitive, l'information contenue dans le matériel étudié correspond aux 35 caractères suivants : PGI⁵³, PGI⁷⁶, PGI⁷⁷, PGI⁸⁶, PGI⁹³, PGI¹⁰⁰ ; ME⁸⁸, ME⁹³, ME¹⁰⁰, ME¹⁰⁸ ; PGM¹⁰⁰, PGM¹¹⁸, PGM¹²³, PGM¹³³ ; GOT¹⁰⁰, GOT¹¹³, GOT¹²⁷, GOT¹³⁵ ; G-6-PDH⁸², G-6-PDH⁹⁴, G-6-PDH¹⁰⁰, G-6-PDH¹⁰⁵ ; 6-PGDH⁹³, 6-PGDH¹⁰⁰, 6-PGDH¹¹⁰, 6-PGDH¹²² ; MDH⁴⁰, MDH⁸⁸, MDH¹⁰⁰, MDH¹¹², MDH¹²⁰, MDH²⁰⁰ ; IDH¹⁰⁰, IDH¹¹⁰, IDH¹⁸⁵ (tableau 1).

2 — Définition des Unités Taxonomiques Opérationnelles

Contrairement aux taxonomies traditionnelles, la taxonomie numérique individualise les caractères avant les taxons. C'est dans ce sens que nous définissons l'*Unité Taxonomique Opérationnelle* (UTO) comme : *une collection de souches présentant les mêmes électromorphes pour l'ensemble des systèmes enzymatiques étudiés*. Ainsi que

1. Matériel et méthode ont été décrits dans l'article : Écologie des Leishmanioses, n° 16. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1981, 76, 131-146.

nous l'avons indiqué en introduction, cette définition correspond à celle du zymodème. L'identification des électromorphes, étape capitale dans l'individualisation des UTO, a fait l'objet d'une particulière attention. Ainsi, les mobilités de certaines taches, très proches sur les gels de migration, ont été contrôlées à plusieurs reprises.

Au total, la présente étude a porté sur 146 souches originaires de l'Ancien Monde¹. Dans la liste ci-après, celles-ci sont colligées par hôtes et par déterminations cliniques² :

I - HOMME

A. Déterminations viscérales³

N° 1 : ORGNAC/74/LEM/41 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 1 an, FRA. N° 2 : ELARACH/81/DPPE/1 [Stab. LEM 285]; Z1, ♀, 2 ans, ALG. N° 3 : SOMMIERES/75/LEM/51 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 22 ans, FRA. N° 4 : STJVALER/75/LEM/58 [Stab.]; Z1, ♂, 30 ans, FRA. N° 5 : STAFFRIQUE/75/LEM/59 [Stab.]; Z1, ♂, 32 ans, FRA. N° 6 : BEDARIEUX/77/LEM/69 [Stab.]; Z1, ♂, 48 ans, FRA. N° 7 : ALES/77/LEM/70 [Stab.]; Z1, ♀, 4 ans, FRA. N° 8 : VEZENOBRES/77/LEM/71 [Stab.]; Z1, ♂, 52 ans, FRA. N° 9 : BÉZIERS/78/LEM/73 [Stab.]; Z1, ♀, 3 ans, FRA. N° 10 : CHOLUTICA, 78, GM 009A (Stab. LEM 74); Z1, ♂, 3 ans, HON. N° 11 : BÉZIERS/78/LEM/75 [Stab.]; Z1, ♀, 1 an, FRA. N° 12 : NDROUVIÈRE/78/LEM/76 [Stab.]; Z1, ♂, 62 ans, FRA. N° 13 : BAGDAD, 73, MRCB, IF3 (Stab. LEM 82); Z3, ♂, 1 an, IRA. N° 14 : NICE/78/LPN/1 [S. 1, Stab. LEM 97]; Z1, ♀, 74 ans, FRA. N° 15 : LEVIGAN/79/LEM/100 [Stab.]; Z1, ♂, 1 an, FRA. N° 16 : BÉZIERS/79/LEM/101 [Stab.]; Z1, ♀, 2 ans, FRA. N° 17 : VIREZAC/79/LEM/108 [S. 1, Stab.]; Z1, ♀, 1 an, FRA. N° 18 : BIHAR, LV 699, Devi (Stab. LEM 138); Z2, IND. N° 19 : LUNAS/79/LEM/140 [Stab.]; Z1, ♀, 38 ans, FRA. N° 20 : CESSERON/80/LEM/156 [Stab.]; Z1, ♀, 1 an, FRA. N° 21 : ROUSSON/81/LEM/200 [Stab.]; Z1, ♀, 7 ans, FRA. N° 22 : NICE/80/LPN/3 [S. 1, Stab. LEM 218]; Z1, ♂, 4 ans, FRA. N° 23 : MONASTIR/80/IPT/1 [S. 1, Stab. LEM 235]; Z1, ♂, 5 ans, TUN. N° 24 : NICE/81/LPN/5 [S. 1, Stab. LEM 277]; Z1, ♂, 14 ans, FRA.

1. Une souche, isolée au Honduras d'un cas de leishmaniose viscérale humaine, a été incluse dans ce groupe, en raison de son identité biochimique (R. Maazoun et coll., 1981b).

2. *Désignation des souches.* En accord avec les recommandations de l'OMS, nous désignons les souches en capitales romaines, conformément au code suivant : 1° Localité de l'hôte infesté (domicile habituel, station de capture); 2° Année d'isolement (deux derniers chiffres); 3° Sigle du laboratoire; 4° Numéro d'ordre de la souche. Sont adjoints : 1° - Entre crochets, les informations supplémentaires suivantes : modalité d'entretien (S. = passage en séries, Stab. = souche conservée à basse température, sigle du laboratoire de transfert et numéro de stockage dans ce laboratoire); 2° - Le numéro du zymodème, le sexe, l'âge et le pays d'origine. Les souches pour lesquelles les informations codées sont incomplètes, sont désignées, en italique, en fonction des informations reçues.

Abréviations des Laboratoires. DPPE : Département de Parasitologie et de Pathologie Exotique, Lyon, France (Pr. J. P. Garin). GM : Gorgas Memorial Institute, Honduras (Dr. B. C. Walton). IHL : Institut d'Hygiène et de Médecine Tropicale, Lisbonne, Portugal (Dr. P. Abranches). IPT : Institut Pasteur, Tunis (Pr. A. Chadli, Dr. M. F. Kennou). ISS : Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italie (Pr. S. Bettini). LEM : Laboratoire d'Écologie Médicale, Montpellier, France (Pr. J. A. Rioux). LPN : Laboratoire de Parasitologie, Nice, France (Pr. Y. Le Fichoux). LV : Liverpool School of Tropical Medicine, Grande Bretagne (Pr. W. Peters, Dr. R. W. Ashford, Dr. M. L. Chance). LVC : Laboratoire de Parasitologie, Faculté Vétérinaire, Cordoue, Espagne, (Pr. F. Martinez-Gomez). MRCB : Medical Research Center, Bagdad, Irak (Pr. W. El Hashimi).

Abréviations des pays d'origine. ALG : Algérie. ESP : Espagne. ETH : Éthiopie. FRA : France. HON : Honduras. IND : Inde. IRA : Irak. ITA : Italie. KEN : Kenya. LBY : Libye. MAR : Maroc. PAK : Pakistan. POR : Portugal. TUN : Tunisie. URS : URSS.

3. Les cas français proviennent, pour la plupart, des hôpitaux de la région Languedoc-Roussillon (G. Lanotte et coll., 1980).

B. Déterminations tégumentaires

N° 25 : ALES/74/LEM/42 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 76 ans, FRA. N° 26 : MONTPEL/76/LEM/61 [S. 1, Stab.]; Z13, ♀, 48 ans, FRA. N° 27 : MONTPEL/76/LEM/62 [Stab.]; Z4, ♂, 22 ans, FRA. N° 28 : BAGDAD, 77, MRCB, IR5, (Stab. LEM 83); Z4, ♂, IRA. N° 29 : BENIBELLAL/79/LEM/94 [S. 1, Stab.]; Z8, ♂, 17 ans, TUN. N° 30 : TATAOUINE/79/LEM/95 [S. 1, Stab.]; Z8, ♀, 16 ans, TUN. N° 31 : KIKLA/75/LV/321 [Stab. LEM 128]; Z4, ♂, 40 ans, LBY. N° 32 : URSS, LV, 253 (Stab. LEM 130); Z4, URS. N° 33 : URSS, LV 250 (Stab. LEM 131); Z4, URS. N° 34 : AYYADBIR/75/LV/310 [Stab. LEM 132]; Z4, ♂, 27 ans, LBY. N° 35 : NALUT/75/LV/316 [Stab. LEM 133]; Z4, ♂, 13 ans, LBY. N° 36 : URSS, LV 252 (Stab. LEM 134); Z4, URS. N° 37 : IRAQ, LV 556, LRC-L36, L75 (Stab. LEM 135); Z6, IRA. N° 38 : PAKISTAN, LV 691 (Stab. LEM 136); Z7, PAK. N° 39 : IRAQ, LV 142, LCR-L32 (Stab. LEM 137); Z12, IRA. N° 40 : ETHIOPIE, LV 471 (Stab. LEM 143); Z12, ETH. N° 41 : ETHIOPIE, LV 24, L100 (Stab. LEM 144); Z14, ETH. N° 42 : KENYA, LV 226 (Stab. LEM 145); Z14, KEN. N° 43 : BISKRA/80/LEM/150 [S. 1, Stab.]; Z4, ♂, 6 ans, ALG. N° 44 : ROGHBA/80/LEM/153 [Stab.]; Z8, ♀, 38 ans, TUN. N° 45 : SOLTANE/80/LEM/154 [Stab.]; Z8, ♂, 18 ans, TUN. N° 46 : MONTPEL/80/LEM/155 [Stab.]; Z4, ♂, 40 ans, FRA. N° 47 : GALAA/80/LEM/160 [Stab.]; Z8, ♀, 9 ans, TUN. N° 48 : GOURRASSEN/80/LEM/161 [Stab.]; Z8, ♀, 40 ans, TUN. N° 49 : OULEDEBBAB/80/LEM/162 [Stab.]; Z8, ♀, 16 ans, TUN. N° 50 : GORGHAR/80/LEM/163 [Stab.]; Z8, ♂, 12 ans, TUN. N° 51 : GORGHAR/80/LEM/169 [Stab.]; Z8, ♀, 10 ans, TUN. N° 52 : GORGHAR/80/LEM/170 [Stab.]; Z8, ♀, 15 ans, TUN. N° 53 : ELGUAMH/80/LEM/171 [Stab.]; Z8, ♂, 12 ans, TUN. N° 54 : GORGHAR/80/LEM/172 [Stab.]; Z8, ♀, 9 ans, TUN. N° 55 : ELGUAMH/80/LEM/173 [Stab.]; Z8, ♂, 6 ans, TUN. N° 56 : KHATMA/80/LEM/174 [Stab.]; Z8, ♀, 6 ans, TUN. N° 57 : GETTOUFA/80/LEM/175 [Stab.]; Z8, ♂, 10 ans, TUN. N° 58 : MASTOURIA/80/LEM/176 [Stab.]; Z8, ♂, 13 ans, TUN. N° 59 : GLOUGH/80/LEM/177 [Stab.]; Z8, ♀, 36 ans, TUN. N° 60 : GORGHAR/80/LEM/178 [Stab.]; Z8, ♂, 7 ans, TUN. N° 61 : GLOUGH/80/LEM/179 [Stab.]; Z8, ♂, 9 ans, TUN. N° 62 : ROGHBA/80/LEM/180 [Stab.]; Z8, ♀, 25 ans, TUN. N° 63 : MASTOURIA/80/LEM/181 [Stab.]; Z8, ♂, 15 ans, TUN. N° 64 : ROGHBA/80/LEM/182 [Stab.]; Z8, ♂, 3 ans, TUN. N° 65 : BENIBARKA/80/LEM/183 [Stab.]; Z8, ♀, 11 ans, TUN. N° 66 : ROGHBA/80/LEM/184 [Stab.]; Z8, ♀, 10 ans, TUN. N° 67 : ROGHBA/80/LEM/185 [Stab.]; Z8, ♀, 12 ans, TUN. N° 68 : ROGHBA/80/LEM/186 [Stab.]; Z8, ♂, 2 ans, TUN. N° 69 : REYNES/80/LEM/188 [Stab.]; Z11, ♂, 1 an, FRA. N° 70 : CERET/80/LEM/189 [Stab.]; Z11, ♀, 70 ans, FRA. N° 71 : EZZAHRA/80/LEM/193 [Stab.]; Z8, ♂, 10 ans, TUN. N° 72 : GETTOUFA/80/LEM/194 [Stab.]; Z8, ♂, 16 ans, TUN. N° 73 : MASREB/80/LEM/195 [Stab.]; Z8, ♂, 8 ans, TUN. N° 74 : ROGHBA/80/LEM/199 [Stab.]; Z8, ♀, 11 ans, TUN. N° 75 : REYNES/80/LEM/202 [Stab.]; Z11, ♂, 1 an, FRA. N° 76 : CERET/80/LEM/209 [Stab.]; Z11, ♂, 1 an, FRA. N° 77 : PERPIGNAN/80/LEM/215 [Stab.]; Z11, ♂, 76 ans, FRA. N° 78 : CERET/81/LEM/254 [Stab.]; Z1, ♀, 70 ans, FRA. N° 79 : VCONFLENT/81/LEM/255 [Stab.]; Z11, ♀, 10 ans, FRA. N° 80 : MARSEILLAN/81/LEM/260 [Stab.]; Z1, ♀, 29 ans, FRA. N° 81 : TATA/81/LEM/265 [Stab.]; Z4, ♂, 54 ans, MAR. N° 82 : TATA/81/LEM/270 [Stab.]; Z4, ♀, 19 ans, MAR. N° 83 : TATA/81/LEM/271 [Stab.]; Z4, ♀, 25 ans, MAR.

II - AUTRES VERTÉBRÉS

A. Chiens¹

N° 84 : CHANDOLAS/72/LEM/35 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 5 ans, FRA. N° 85 : MONTPEL/75/LEM/48 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 2 ans, FRA. N° 86 : CEILHES/75/LEM/49 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 2 ans, FRA. N° 87 : ALES/75/LEM/50 [S. 1, Stab.]; Z1, ♀, 3 ans, FRA. N° 88 : PIETRACOR/75/LEM/52 [Stab.]; Z1, ♀, 5 ans, FRA. N° 89 : STBAUZP/75/LEM/53 [Stab.]; Z1, ♂, ?, FRA. N° 90 : STJCUC/75/LEM/54 [Stab.]; Z1, ♂, ?, FRA. N° 91 :

1. La plupart des cas de leishmaniose canine ont été dépistés lors d'enquêtes épidémiologiques réalisées en Languedoc-Roussillon (G. Lanotte et coll., 1977).

ARGEL/75/LEM/55 [Stab.]; Z1, ♀, 4 ans, FRA. N° 92 : ALES/75/LEM/57 [Stab.]; Z1, ♀, 10 ans, FRA. N° 93 : LODEVE/75/LEM/60 [Stab.]; Z1, ♀, 6 ans, FRA. N° 94 : DOURBIES/75/LEM/63 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 6 ans, FRA. N° 95 : PEZENAS/76/LEM/64 [Stab.]; Z1, ♀, 5 ans, FRA. N° 96 : STJULNEF/76/LEM/65 [Stab.]; Z1, ♀, 6 ans, FRA. N° 97 : ILÉROUSSE/77/LEM/66 [Stab.]; Z1, ♂, 2 ans, FRA. N° 98 : ILÉROUSSE/77/LEM/67 [Stab.]; Z1, ♂, 7 ans, FRA. N° 99 : STBAUZP/77/LEM/68 [Stab.]; Z1, ♀, 2 ans, FRA. N° 100 : LODEVE/78/LEM/72 [Stab.]; Z1, ♂, 5 ans, FRA. N° 101 : TUNIS/78/LEM/77 [Stab.]; Z1, ♀, 3 ans, TUN. N° 102 : TUNIS/78/LEM/78 [Stab.]; Z1, ♀, 6 ans, TUN. N° 103 : LODEVE/78/LEM/79 [Stab.]; Z1, ♂, ?, FRA. N° 104 : LALIQUIERE/78/LEM/80 [Stab.]; Z1, ♂, 6 ans, FRA. N° 105 : LALIQUIERE/78/LEM/81 [Stab.]; Z1, ♂, 7 ans, FRA. N° 106 : GRABELS/79/LEM/86 [Stab.]; Z1, ♂, 1 an, FRA. N° 107 : BOUSSAGUES/79/LEM/88 [Stab.]; Z1, ♂, 4 ans, FRA. N° 108 : STCHRALES/79/LEM/89 [Stab.]; Z1, ♂, 4 ans, FRA. N° 109 : VINAS/79/LEM/90 [Stab.]; Z1, ♀, 5 ans, FRA. N° 110 : LUNAS/79/LEM/91 [Stab.]; Z1, ♀, 3 ans, FRA. N° 111 : LODEVE/79/LEM/92 [Stab.]; Z1, ♂, 2 ans, FRA. N° 112 : LODEVE/79/LEM/93 [Stab.]; Z1, ♀, 2 ans, FRA. N° 113 : PEGOMAS/79/LPN/2 [Stab. LEM 96]; Z1, ♀, 3 ans, FRA. N° 114 : LEVIGAN/79/LEM/98 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 1 an, FRA. N° 115 : SOMMIERES/79/LEM/99 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 6 ans, FRA. N° 116 : SALCES/79/LEM/102 [S. 1, Stab.]; Z1, ♀, 13 ans, FRA. N° 117 : LUNAS/79/LEM/103 [S. 1, Stab.]; Z1, ♀, 3 ans, FRA. N° 118 : BOUSQORB/79/LEM/104 [Stab.]; Z1, ♂, 4 ans, FRA. N° 119 : STPRIVAT/79/LEM/105 [Stab.]; Z1, ♂, 4 ans, FRA. N° 120 : LUNAS/79/LEM/106 [Stab.]; Z1, ♂, 6 ans, FRA. N° 121 : TAILLEVENT/79/LEM/107 [Stab.]; Z1, ♂, 6 ans, FRA. N° 122 : BIKANER, LV 348, DBKM (Stab. LEM 141); Z12, IND N° 123 : LISBONNE, 78, IHL, 66 (Stab. LEM 190); Z1, POR. N° 124 : ARGENTARIO/80/ISS/15 [Stab. LEM 230]; Z1, ITA. N° 125 : CORDOUE, LVC (Stab. LEM 216); Z1, ESP. N° 126 : NICE/80/LPN/4 [Stab. LEM 219]; Z1, ♂, 1 an, FRA. N° 127 : PALALDA/80/LEM/224 [Stab.]; Z1, ♂, 9 ans, FRA. N° 128 : ARGENTARIO/79/ISS/11 [Stab. LEM 237]; Z1, ITA. N° 129 : ARLTECH/81/LEM/250 [S. 1, Stab.]; Z1, ♀, 5 ans, FRA. N° 130 : AMÉLIE/81/LEM/252 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 3 ans, FRA. N° 131 : CERET/81/LEM/253 [Stab.]; Z1, ♀, 3 ans, FRA. N° 132 : CERET/81/LEM/257 [S. 1, Stab.]; Z1, ♂, 3 ans, FRA. N° 133 : FOURQUES/81/LEM/274 [S. 1, Stab.]; Z1, ♀, 4 ans, FRA.

B. Autres mammifères

N° 134 : BAGDAD, 72, MRCB, IBF (Stab. LEM 84); Z5, *Rattus rattus*, IRA. N° 135 : URSS, LV 39, P, LCR-L227 (Stab. LEM 129); Z4, *Rongeur* (sp. ind.), URS. N° 136 : BACCINELLO/79/ISS/5 [Stab. LEM 231]; Z1, *Rattus rattus*, ITA. N° 137 : BACCINELLO/78/ISS/4 [Stab. LEM 234]; Z1, *Rattus rattus*, ITA.

C. Reptiles (*Tarentola mauritanica*)

N° 138 : BANYULS/77/LEM/112 [Stab.]; Z10, FRA. N° 139 : BANYULS/77/LEM/113 [Stab.]; Z10, FRA. N° 140 : BANYULS/77/LEM/115 [Stab.]; Z10, FRA. N° 141 : BANYULS/77/LEM/116 [Stab.]; Z10, FRA. N° 142 : BANYULS/77/LEM/177 [Stab.]; Z10, FRA. N° 143 : BANYULS/77/LEM/119 [Stab.]; Z10, FRA. N° 144 : BANYULS/77/LEM/120 [Stab.]; Z10, FRA. N° 145 : BANYULS/78/LEM/123 [Stab.]; Z10, FRA. N° 146 : BANYULS/78/LEM/124 [S. 1, Stab.]; Z10, FRA.

III - PHLÉBOTOME

N° 147 : BANYULS/78/LEM/87 [Stab.]; Z9, *Sergentomyia minuta*, FRA.

A partir de cette liste il est, dès lors, possible de regrouper les souches analysées en 14 zymodèmes (Z) selon les fréquences suivantes : Z₁ : 76 souches ; Z₂ : 1 souche ; Z₃ : 1 souche ; Z₄ : 14 souches ; Z₅ : 1 souche ; Z₆ : 1 souche ; Z₇ : 1 souche ; Z₈ : 30 souches ; Z₉ : 1 souche, Z₁₀ : 9 souches ; Z₁₁ : 6 souches ; Z₁₂ : 3 souches ; Z₁₃ : 1 souche ; Z₁₄ : 2 souches.

TABLEAU I. — *Matrice des données de base.* Pour chaque système enzymatique les différents électromorphes sont indiqués en distance relative par rapport au marqueur LEM 75. Les caractères diagnostiques sont mentionnés en écriture grasse (Z : zymodème ; E : système enzymatique ; PGI : Phosphoglucose isomérase ; ME : Décarboxylase malique ; PGM : Phosphoglucomutase ; GOT : Glutamate oxaloacétate transaminase ; G-6-PDH : Glucose-6-Phosphate déshydrogénase ; 6-PGDH : 6-Phosphogluconate déshydrogénase ; MDH : Malate déshydrogénase ; IDH : Isocitrate déshydrogénase).

Z \ E	PGI pH 7,4	ME pH 7,4	PGM pH 7,4	GOT pH 7,4	G-6-PDH pH 7,4	6-PGDH pH 7,4	MDH pH 9,4	IDH pH 8,6
1	100	100	100	100	100	100	100	100
2	100	100	100	113	100	93	100	100
3	86	100	100	113	100	100	100	100
4	77	88	118	100	94	122	200	110
5	76	100	100	135	82	93	120 100	100
6	76	93	100	135	82	93	88	100
7	76	93	100	135	82	93	120 100	100
8	76	100	100	127	82	93	100	100
9	93 86	100	133	113	82	110	40	185
10	93	100	133	113	82	110	40	185
11	100	100	100	100	105	100	100	100
12	76	93	100	135	82	93	112 88	100
13	76	100	100	135	82	93	112 88	100
14	53	108	123	127	82	122	120	100

Ce regroupement permet d'obtenir *la matrice des données de base (tableau I)*, tableau à 8 colonnes et 14 lignes, dans laquelle les caractères unitaires sont exprimés par systèmes enzymatiques (colonnes) et zymodèmes (lignes).

3 — Estimation des degrés d'affinité

Pour apprécier le *degré d'affinité* entre deux UTO, il est nécessaire de synthétiser, en un indice unique, l'information fournie par l'ensemble de leurs caractères unitaires, c'est-à-dire de leurs électromorphes. Pour ce faire, de nombreuses méthodes de calcul sont à notre disposition, répondant à des intentions ou à des situations différentes. Dans notre étude, nous avons utilisé le *coefficient de communauté* (S) de Jaccard (1908) répondant à la formule suivante :

$$S = \frac{a}{a + b + c}$$

où a = nombre de caractères communs aux deux UTO comparées ; b = nombre de caractères appartenant en propre à la première UTO ; c = nombre de caractères appartenant en propre à la deuxième UTO.

Cet indice répond à certaines conditions imposées ou requises, à savoir : utilisation de *caractères qualitatifs*, absence de signification des *concordances nulles*¹, présence d'un nombre à peu près équivalent de caractères discordants dans les unités comparées.

Le calcul des indices d'affinité, par la comparaison deux à deux des 14 UTO, conduit à l'établissement d'une *matrice d'association*² de 91 données (*tableau II*). C'est cette liste qui permet d'exprimer de façon synthétique les relations entre zymodèmes.

4 — Individualisation des groupements et élaboration du système taxonomique

Un premier mode de représentation des résultats peut être obtenu par *optimisation de la matrice d'association*. Le procédé consiste à déplacer simultanément les lignes et les colonnes de manière à rapprocher de la diagonale les coefficients de similarité les plus élevés. Une nouvelle matrice dite *optimisée* est ainsi construite. Celle-ci peut être également exprimée sous forme d'un damier rendu plus expressif encore par un ombrage d'intensité proportionnelle aux valeurs des coefficients. Dans le cas particulier, le graphique fait apparaître au moins trois groupes d'UTO, dont deux, particulièrement nets, correspondent aux complexes *Leishmania donovani* et *Leishmania tropica* (*fig. 1*).

En fait, les progrès de l'*analyse statistique multi-dimensionnelle* permettent aujourd'hui de dépasser ce stade en proposant des modèles moins empiriques et plus riches d'informations. La *classification hiérarchique* en est l'un des plus représentatifs. Dans cette méthode, la *collection* des UTO est sub-divisée en *sous-collections* mutuellement exclusives (L. Legendre et P. Legendre, 1979) mais néanmoins reliées entre elles. Les résultats sont exprimés sous la forme d'un *graphe synoptique* à deux dimensions, le *dendrogramme*, qui permet de représenter à la fois les discontinuités (rameaux) et les niveaux de liaisons (bifurcations), et par conséquent d'objectiver les différents phénomènes (*phénogramme*). Ce procédé comporte toutefois le risque de faire apparaître des groupes *sans valeur naturelle*. C'est la raison pour laquelle une opération complémentaire de contrôle et de validation est généralement préconisée (P. Chardy, 1980). Cette opération s'appuie sur l'*ordination* (cf. *infra* : analyse des correspondances) qui exprime surtout les *relations de continuité*.

En pratique³, le dendrogramme est réalisé de manière automatique, selon la *technique agglomérative ascendante*, dans laquelle l'algorithme prend comme point de départ les UTO et assure leur regroupement en classes de plus en plus volumineuses, jusqu'à l'obtention d'une classe unique, représentant la totalité de l'échantillon.

1. Cas où le caractère unitaire est absent dans les deux UTO comparées.

2. Cette matrice porte aussi les noms de matrice de *ressemblance*, de *similarité*, d'*identité* ou encore de *distance*. Dans ce dernier cas, le coefficient utilisé pour comparer les UTO est un *coefficient de distance* (notion complémentaire de la similarité).

3. Les calculs ont été effectués sur les ordinateurs WANG 2200 MDP (Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Pr. M. Véron) et MITRA 125 (Écothèque méditerranéenne, CNRS).

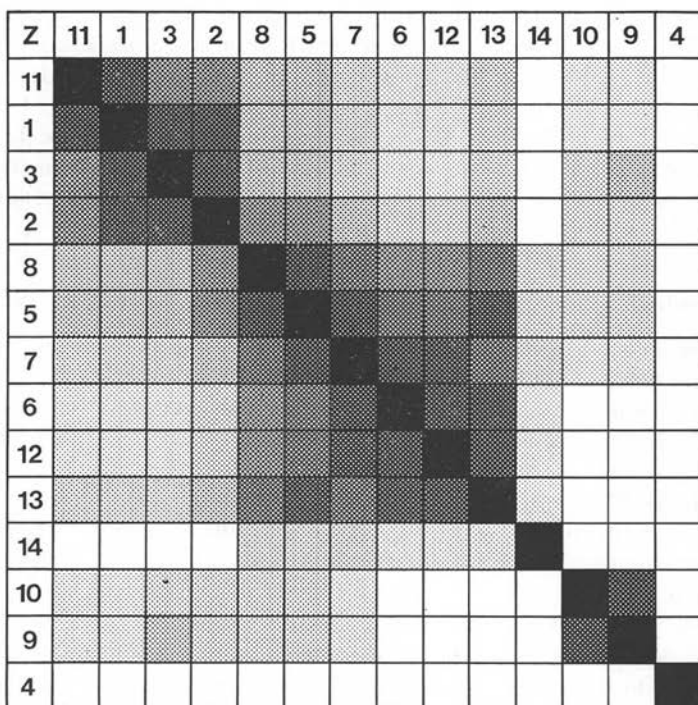


FIG. 1. — Matrice optimisée présentée sous forme de damier. En haut et à gauche, le complexe *Leishmania dovonani* (de 11 à 2) ; au centre, le complexe *Leishmania tropica* (de 8 à 13).

L'opération proprement dite est précédée du classement des indices de similarité par valeurs décroissantes. La construction du graphe commence par la mise en place du couple possédant le plus fort indice de liaison. Par la suite, une nouvelle UTO rejoint le couple déjà formé ou s'associe à une autre UTO selon les valeurs des coefficients d'affinité. L'édifice se structure ainsi de proche en proche, les UTO s'agglomérant aux groupes et les groupes s'agglutinant entre eux, au fur et à mesure que se « relâche le critère de similarité » (L. Legendre et P. Legendre, *loc. cit.*). L'opération d'agglomération elle-même, peut-être conduite selon plusieurs méthodes dont les indications varient suivant la nature des données et le but poursuivi. Après plusieurs essais nous avons retenu la technique dite à *liens complets* (T. Sørensen, 1948), dans laquelle la valeur du niveau d'intégration à un groupe déjà formé est donnée par l'indice de similarité des deux UTO les plus éloignées. Dans ce cas, les groupes individualisés sont à la fois plus différenciés et plus homogènes, car constitués d'unités totalement liées (*fig. 2a*). Toutefois, quelle que soit la méthode de liaison utilisée¹,

1. Nous avons en particulier testé, sans la retenir, la technique dite à *liens simples* (P. H. A. Sneath, 1957) et à *liens moyens* (R. R. Sokal et C. D. Michener, 1958).

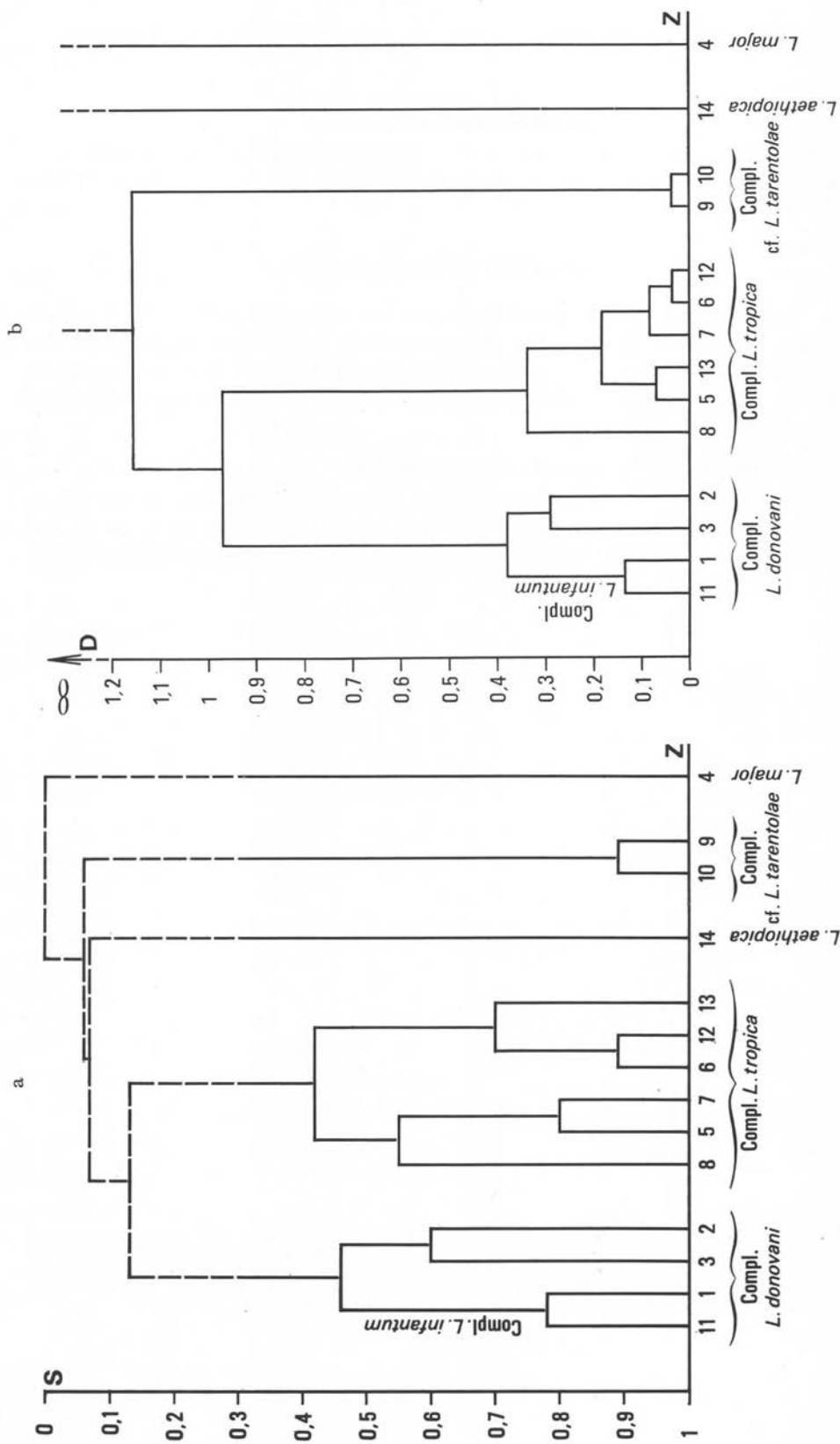


Fig. 2. — A gauche (a), phénogramme construit avec les indices de Jaccard, selon la technique d'agrégation dite « à liens complets » ; à l'extrême droite, *Leishmania major* s'individualise parfaitement ainsi que *Leishmania aethiopica* et *Leishmania tarentolae*. Les complexes *Leishmania donovani* et *Leishmania tropica* forment deux rameaux nettement distincts. A droite (b), dendrogramme construit à l'aide des coefficients de distance génétique standard de Nei. L'affinité des complexes *Leishmania donovani* et *Leishmania tropica* se précise. La diversification de ces deux groupes est vraisemblablement récente (coefficient de distance, 0,3-0,4).

les divers phénogrammes obtenus à partir des données électrophorétiques se révèlent très comparables, tant au plan des groupes formés qu'à celui de leurs relations hiérarchiques.

Résultats et commentaires

Deux corollaires se dégagent de la présente analyse, l'un de portée générale, posant le problème de la réalité biologique et de la signification phylétique des groupes taxonomiques isolés, l'autre, essentiellement pratique et dans une certaine mesure complémentaire du précédent, conduisant à l'individualisation de *caractères discriminants* à but diagnostique.

1 — Individualisation et signification des phénons.

Les phénons *Leishmania donovani* (Z1, 2, 3, 11) et *Leishmania tropica* (Z5, 6, 7, 8, 12 et 13), déjà mis en évidence dans la matrice optimisée, apparaissent plus clairement encore par la technique du dendrogramme, cependant que s'autonomisent

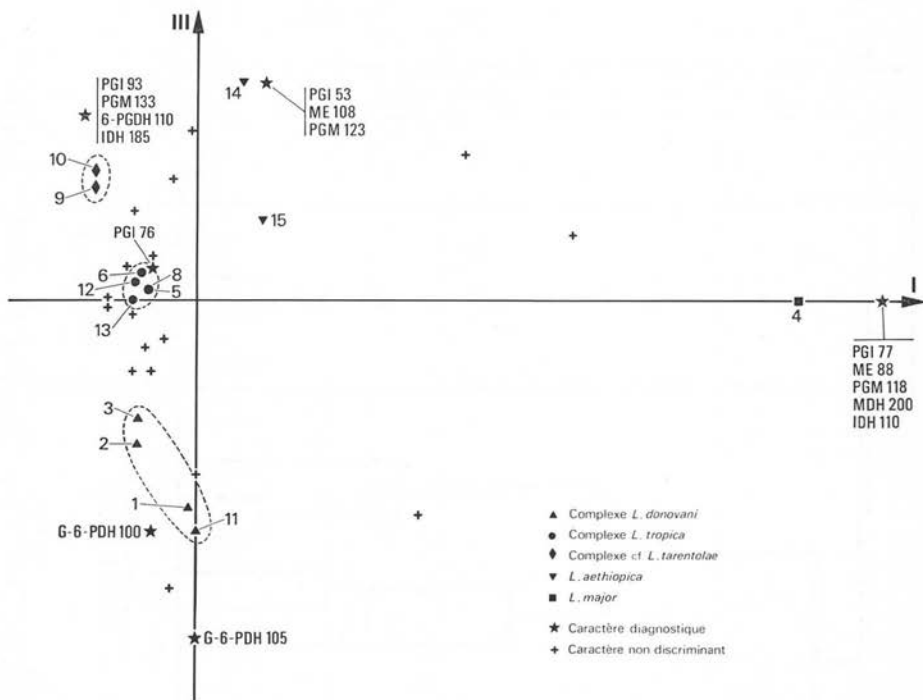


FIG. 3. — Analyse des correspondances ; axe I-III. *Leishmania major* se situe nettement en dehors des autres phénons. Les UTO du complexe *Leishmania tropica* constituent un ensemble très compact. Au sein du complexe *Leishmania donovani*, s'individualisent deux groupes : occidental (*Leishmania infantum*) et oriental (*Leishmania donovani* s.st.). Les axes I et III absorbent respectivement 25 % et 15 % de l'inertie totale.

cf. *Leishmania tarentolae* (Z9 et 10) et *Leishmania aethiopica* (Z14). *Leishmania major* (Z4) s'isole totalement et, à la différence de *Leishmania tropica*, ne présente aucune variation enzymatique tout au long de son aire de répartition, de l'URSS au Maroc¹. Ces résultats confirment, si besoin était, l'individualité longtemps contestée de ce taxon et justifient à son endroit l'utilisation de la nomenclature binominale proposée dès 1973, par R. S. Bray et coll.

L'ensemble de ces résultats est d'ailleurs confirmé par l'analyse des correspondances : quelles que soient les projections considérées, *Leishmania major* reste toujours très marginal. De même, les différents zymodèmes de *Leishmania tropica* demeurent groupés. Toutefois, une certaine hétérogénéité se dessine dans le complexe *Leishmania donovani* : le groupe méditerranéen *Leishmania infantum* (souches viscérales et cutanées) se situe à quelque distance du groupe oriental *Leishmania donovani* (projections I, III et I, II : fig. 3 et 4).

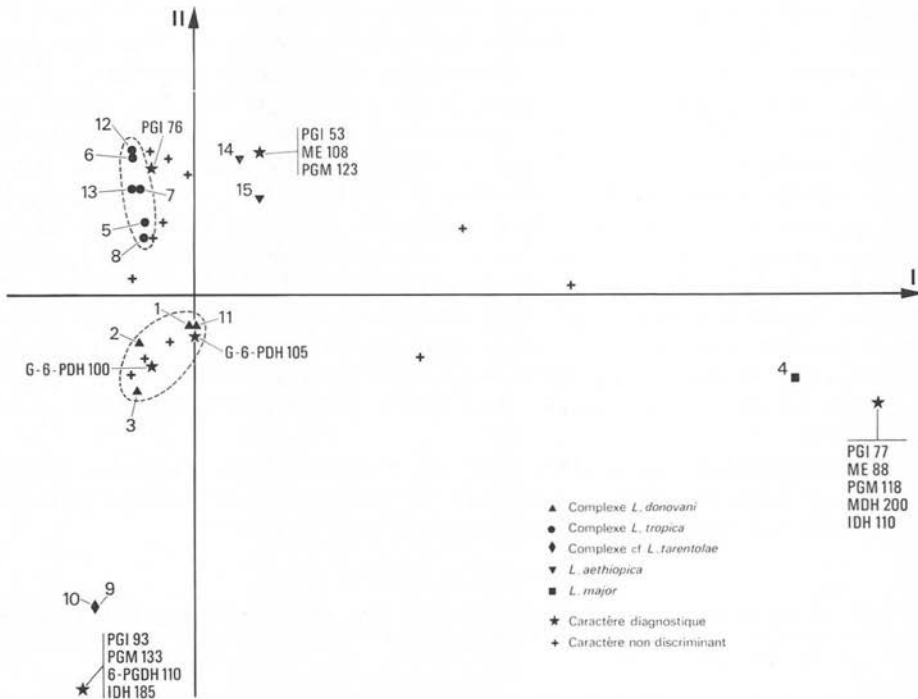


FIG. 4. — Analyse des correspondances ; axe I-II. Ces axes absorbent respectivement 25 % et 20 % de l'inertie totale. Dans ce plan, les complexes *Leishmania tropica* et *Leishmania donovani* constituent des ensembles bien groupés.

1. Sans être remis en cause dans leurs grandes lignes, ces résultats pourront être modulés lors de la mise en pratique de nouveaux systèmes enzymatiques ou de l'étude de nouveaux foyers.

Quoi qu'il en soit, la pertinence des résultats obtenus par l'application des concepts *adansonien*s dépasse largement les prévisions les plus optimistes. Les phénons individualisés par la méthode quantitative s'identifient de manière saisissante aux taxons de la systématique traditionnelle. A quelques nuances près, l'homologie des deux classifications est évidente.

Certes, cette constatation est un encouragement à étendre largement l'approche numérique à d'autres groupes de Leishmanies, voire à l'ensemble des Kinetoplastida. Toutefois, avant de poursuivre l'expérience, il convient de rechercher les raisons profondes d'une aussi bonne concordance en s'interrogeant sur la signification biologique des caractères utilisés. Effectivement, depuis le début de notre exposé nous n'avons, à aucun moment, introduit la notion de causalité « caractère-gène ». Nous conformant rigoureusement aux impératifs de la *méthode sokalienne* qui préconise une procédure strictement empirique, nous avons même insisté sur la nécessité de rejeter toute idée de dépendance fonctionnelle entre les électromorphes et leur système enzymatique. Cette position de principe, maintenue d'un bout à l'autre de l'opération, doit être à présent discutée sur des bases nouvelles et pour tout dire antinomiques, en tenant compte du déterminisme génétique des caractères.

Rappelons qu'une branche importante de la génétique s'occupe aujourd'hui de taxonomie phylétique. Elle utilise, pour ce faire, certains caractères biochimiques et plus particulièrement enzymatiques, et s'applique avec prédilection aux organismes diploïdes à reproduction sexuée. Pour M. Nei (1972), la mise en pratique d'une telle approche ne soulève pas de grandes difficultés si ce n'est l'acceptation tacite des deux postulats suivants : *constance en temps réel des taux de mutation* et *faible influence des facteurs de sélection sur les gènes de structure*. La méthode elle-même est basée sur la notion de *distance génétique* qui traduit le nombre moyen de remplacements de nucléotides internes à chaque locus, depuis que les populations se sont séparées. Elle conduit à l'élaboration d'un dendrogramme donnant une idée, non seulement des affinités systématiques, mais aussi de l'éloignement temporel des unités considérées.

En pratique, la comparaison de deux populations mendéliennes s'effectue à l'aide d'indices de similarité utilisant les différentes fréquences alléliques. Celui dit d'*identité génétique* de Nei (1972) est actuellement le plus employé. Il s'écrit :

$$I = J_{XY} / \sqrt{J_X J_Y}$$

où J_{XY} est la moyenne arithmétique des produits $x_i y_i$, J_X et J_Y les moyennes arithmétiques des carrés de x_i et y_i (x_i et y_i représentent la fréquence respective du $i^{\text{ème}}$ allèle des deux populations étudiées X et Y).

Le dendrogramme lui-même est obtenu par l'application de l'indice de *distance génétique standard*¹ de Nei, répondant à la formule suivante :

$$D = -\text{Log } I$$

1. Le concept de distance génétique fait essentiellement référence au locus et non plus à l'électromorphe. Il convient d'en tenir compte dans l'estimation des temps de divergence, selon la formule de Nei. Le nombre de systèmes enzymatiques utilisés doit être plus important que dans la méthode numérique.

Dans le cas particulier des organismes asexués, auxquels précisément se rattachent les Leishmanies, la notion de distance génétique ne peut pas être appliquée sans amendement. Ainsi, M. Nei (1975) propose d'utiliser son indice I , en ramenant les fréquences alléliques aux trois valeurs : 0, 0,5 (hétérozygotes) et 1 (homozygotes). Il fait en effet remarquer que dans ces groupes, la diversité génique reste importante bien que le polymorphisme génotypique soit nul et l'homozygotie habituelle. Une telle position a été adoptée par M. Tibayrenc et coll. (1980 et 1981).

En définitive, en reprenant les différentes isoenzymes, utilisées précédemment sous forme de caractères unitaires, il est possible de construire un dendrogramme qui tienne compte à présent des systèmes enzymatiques, c'est-à-dire des locus correspondants (tableau II). Très comparable au phénogramme, ce nouveau graphe (fig. 2b) apporte effectivement une dimension génétique, jusqu'à exprimer les relations phylétiques. Si l'on s'en tient toujours à la théorie de M. Nei (*loc. cit.*), *Leishmania major* se serait isolé depuis longtemps de l'archétype monadien, alors que les complexes *Leishmania donovani* et *Leishmania tropica* auraient conservé suffisamment de caractères en commun pour témoigner, aujourd'hui encore, de leur niveau de divergence. Ces deux complexes ne se seraient eux-mêmes diversifiés que très récemment, peut-être au Pléistocène, lors de la grande radiation adaptative du genre *Homo*.

TABLEAU II. — Matrices d'association des UTO. Triangle inférieur : indices de Jaccard (S). Triangle supérieur : indices de Nei (D).

Z	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1		0,29	0,29	2,08	0,79	1,39	1,13	0,69	1,35	1,39	0,13	1,35	0,95	2,08
2	0,60		0,29	∞	0,54	0,98	0,79	0,47	0,95	0,98	0,47	0,95	0,66	2,08
3	0,60	0,60		∞	0,79	1,39	1,13	0,69	0,79	0,98	0,47	1,35	0,95	2,08
4	0,07	0	0		∞	∞	∞	∞	∞	∞	2,08	∞	∞	2,08
5	0,31	0,42	0,31	0		0,26	0,14	0,18	1,10	1,13	0,79	0,22	0,07	1,13
6	0,14	0,23	0,14	0	0,55		0,10	0,47	2,05	2,08	1,39	0,03	0,18	1,39
7	0,21	0,31	0,21	0	0,80	0,70		0,34	1,64	1,64	1,13	0,07	0,22	1,13
8	0,33	0,46	0,33	0	0,70	0,46	0,54		0,95	0,98	0,69	0,44	0,26	0,98
9	0,13	0,21	0,31	0	0,20	0,06	0,12	0,21		0,03	1,35	2,02	1,32	2,05
10	0,14	0,23	0,23	0	0,21	0,07	0,13	0,23	0,89		1,39	2,05	1,35	∞
11	0,78	0,46	0,46	0,07	0,31	0,14	0,21	0,33	0,13	0,14		1,35	0,95	2,08
12	0,13	0,21	0,13	0	0,50	0,89	0,64	0,42	0,06	0,06	0,13		0,07	1,35
13	0,21	0,31	0,21	0	0,64	0,70	0,50	0,55	0,12	0,13	0,21	0,80		1,35
14	0,07	0,07	0,07	0,06	0,21	0,14	0,21	0,23	0,06	0,07	0,07	0,13	0,13	

2 — Identification des souches.

La lecture de la matrice des données de base (tableau I) et l'examen des graphiques d'analyse des correspondances (fig. 3 et 4) permettent d'extraire un certain nombre d'électromorphes diagnostiques (F. J. Ayala et J. R. Powell, 1972 ; G. Pasteur

et N. Pasteur, 1980), c'est-à-dire utilisables en pratique courante. Ainsi le complexe *Leishmania tropica* peut être reconnu par l'électromorphe PGI⁷⁶. *Leishmania aethiopica* se distingue par trois caractères (PGI⁵³, ME¹⁰⁸, PGM¹²³). Le complexe *Leishmania major* s'exprime par six électromorphes discriminants sur huit (PGI⁷⁷, ME⁸⁸, PGM¹¹⁸, G-6-PDH⁹⁴, MDG²⁰⁰ et IDH¹¹⁰). Le complexe *Leishmania donovani*, quant à lui, mérite une mention spéciale : la G-6-PDH, qui permet de le distinguer des autres complexes, est elle-même différentielle des formes viscérales (G-6-PDH¹⁰⁰) et de certaines formes cutanées (G-6-PDH¹⁰⁵), au sein du sous-groupe *Leishmania infantum* (J. A. Rioux et coll., 1980).

* * *

Ainsi, le parallélisme des résultats obtenus par l'utilisation des critères intrinsèques et extrinsèques confirme pleinement l'intérêt de l'approche chimiotaxonomique. A l'heure où l'outil informatique se met réellement au service du biologiste, la méthode numérique renforce singulièrement ces conclusions. En définitive, un brillant avenir s'ouvre devant la nouvelle systématique. L'élaboration d'une classification rationnelle des Leishmanies est aujourd'hui possible, rendant compte à la fois des réalités épidémiologiques, des bases génétiques et des hypothèses phylétiques.

REMERCIEMENTS : Nos plus sincères remerciements vont à ceux de nos Maîtres, Collègues et Amis, écologistes, épidémiologistes, microbiologistes, parasitologistes et informaticiens, sans qui ce travail n'aurait pu aboutir : Mme M. F. Kennou, MM. P. Abranches, O. Akalay, R. W. Ashford, N. Ben Mansour, S. Bettini, M. Cadi Soussi, A. Chadli, M. L. Chance, P. Chardy, W. El Hashimi, J. P. Garin, P. C. C. Garnham, D. J. Godfrey, D. Jarry, R. Killick-Kendrick, Y. Le Fichoux, G. Long, F. Martinez-Gomez, I. Navarette, W. Peters, J. Ranque, P. Rispaill, T. R. E. Southwood, M. Véron et B. C. Walton.

BIBLIOGRAPHIE

- ADANSON M. : Familles des Plantes. 1, 419 p. Vincent, Paris, 1763.
 AVISE J. C. : Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 1974, 23, 465-481.
 AYALA F. J., POWELL J. R. : Allozymes as diagnostic characters or sibling species of *Drosophila*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1972, 69, 1094-1096.
 BENZÉCRI J. P. : L'analyse des données. 1, 615 p. et 2, 619 p. Dunod, Paris, 1973.
 BRAY R. S., ASHFORD R. W., BRAY M. A. : The parasite causing cutaneous leishmaniasis in Ethiopia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1973, 67, 345-348.
 CHANCE M. L. : The identification of *Leishmania*. In : Problems in the identification of parasites and their vectors. *Symp. Brit. Soc. Parasit.*, 17, 55-74. Blackwell, Oxford, 1979.
 CHARDY P. : L'espèce et la taxinomie numérique. In : Les problèmes de l'espèce dans le règne animal. *Mém. Soc. Zool. Fr.*, 1980, 40, 65-97.
 GARDENER P. J. : Taxonomy of the genus *Leishmania* : a review of nomenclature and classification. *Trop. Dis. Bull.*, 1977, 74, 1069-1088.
 GIBSON W. C., MARSHALL T. F. DE C., GODFREY D. G. : Numerical analysis of enzyme polymorphism : a new approach to the epidemiology and taxonomy of Trypanosomes of the subgenus *Trypanozoon*. In : Advances in Parasitology, 18, 175-246. Academic Press, London, 1980.
 GODFREY D. G. : The zymodemes of trypanosomes. In : Problems in the identification of parasites and their vectors. *Symp. Brit. Soc. Parasit.*, 17, 31-54. Blackwell, Oxford, 1979.
 HOARE C. A. : The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. 749 p. Blackwell, Oxford, 1972.

- HOMMEL M. : The genus *Leishmania* : biology of the parasites and clinical aspects. *Bull. Inst. Past.* 1978, 76, 5-102.
- HUNTER R. L., MARKERT C. L. : Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science*, 1957, 125, 1294-1295.
- JACCARD P. : Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 1908, 44, 223-270.
- LAISON R., SHAW J. J. : The role of animals in the epidemiology of South american leishmaniasis. In : Biology of the kinetoplastida, 2, 1-116. *Academic Press*, London, 1979.
- LANOTTE G., RIOUX J. A., CROSET H., VOLLHARDT Y. : Dépistage de la leishmaniose canine. Stratégie d'enquête utilisée dans le foyer des Cévennes méridionales. In : *Écologie des leishmanioses. Colloques Int. CNRS*, 1977, 239 117-128.
- LANOTTE G., RIOUX J. A., PRATLONG F. : Écologie des Leishmanioses dans le sud de la France. 14. Les leishmanioses humaines en Cévennes. Analyse clinique et biologique des formes viscérales et muqueuses. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1980, 55, 635-643.
- LEGENDRE L., LEGENDRE P. : Écologie numérique. 2. La structure des données écologiques. *Collection d'Écologie*, n° 13, 254 p. *Masson*, Paris, 1979.
- LUMSDEN W. H. R. : Biochemical taxonomy of *Leishmania*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1974, 68, 74-75.
- MAAZOUN R., LANOTTE G., RIOUX J. A., PASTEUR N., KILICK-KENDRICK R., PRATLONG F. : Signification du polymorphisme chez les Leishmanies. A propos de trois souches hétérozygotes de *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, *Leishmania tarentolae* Wenyon, 1921, et *Leishmania aethiopica* Bray, Ashford et Bray, 1973. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1981a, 56, 467-475.
- MAAZOUN R., LANOTTE G., PASTEUR N., RIOUX J. A., KENNOU M. F., PRATLONG F. : Écologie des Leishmanioses dans le sud de la France. 16. Contribution à l'analyse chimiotaxonomique des parasites de la leishmaniose viscérale méditerranéenne. A propos de 55 souches isolées en Cévennes, Côte d'Azur, Corse et Tunisie. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1981b, 56, 131-146.
- MAYR E. : Principles of Systematic Zoology, 428 p. *McGraw-Hill*, New York, 1969.
- NEI M. : Genetic distance between populations. *Amer. Nat.*, 1972, 106, 283-292.
- NEI M. : Molecular population genetics and evolution, 288 p. *North-Holland Publ. Co.*, Amsterdam, 1975.
- NICOLI R. M. : Le genre *Leishmania* R. Ross, 1903. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1963, 56, 408-416.
- OMS. Proposals for the nomenclature of salivarian trypanosomes and for the maintenance of reference collections. *Bull. Org. Mond. Santé*, 1978, 56, 467-480.
- PASTEUR G., PASTEUR N. : Les critères biochimiques et l'espèce animale. In : Les problèmes de l'espèce dans le règne animal. *Mém. Soc. Zool. Fr.*, 1980, 40, 99-150.
- READY P. D., MILES M. A. : Delimitation of *Trypanosoma cruzi* zymodemes by numerical taxonomy. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1980, 74, 238-242.
- RIOUX J. A., LANOTTE G., MAAZOUN R., PERELLO R., PRATLONG F. : *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, agent du bouton d'Orient autochtone. A propos de l'identification biochimique de deux souches isolées dans les Pyrénées-Orientales. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1980, 291, 701-703.
- SEYFRIED P. L. : An approach to the classification of lactobacilli using computer-aided numerical analysis. *Can. J. Microbiol.*, 1968, 14, 313-318.
- SNEATH P. H. A. : The application of computers to taxonomy. *J. Gen. Microbiol.*, 1957, 17, 201-226.
- SNEATH P. H. A. : New approaches to bacterial taxonomy : use of computers. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1964, 18, 335-346.
- SNEATH P. H. A., SOKAL R. R. : Numerical taxonomy. *Nature*, 1962, 193, 855-860.
- SNEATH P. H. A., SOKAL R. R. : Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification, 573 p. *Freeman*, San Francisco, 1973.
- SOKAL R. R., MICHENER C. D. : A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas Sci. Bull.*, 1958, 38, 1409-1438.
- SOKAL R. R., SNEATH P. H. A. : Principles of Numerical Taxonomy, 359 p. *Freeman*, San Francisco, 1963.
- SØRENSEN T. : A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Biol. Skr.*, 1948, 5, 1-34.
- TIBAYRENC M. : Application of the calculations of genetic distance for flagellate Systematics. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol.*, 1980, 18, 301-302.
- TIBAYRENC M., CARIOU M. L., SOLIGNAC M. : Interprétation génétique des zymogrammes de Flagellés des genres *Trypanosoma* et *Leishmania*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1981, 292, 623-625.
- VÉRON M. : Taxonomie numérique des Vibrions et de certaines bactéries comparables. I. Méthode et matériel taxométriques utilisés. *Ann. Inst. Pasteur*, 1966a, 111, 314-333.
- VÉRON M. : Taxonomie numérique des Vibrions et de certaines bactéries comparables. II. Corrélation entre les similitudes phénétiques et la composition en bases de l'ADN. *Ann. Inst. Pasteur*, 1966b, 111, 671-709.
- VÉRON M. : Taxonomie numérique et classification des bactéries. *Bull. Inst. Pasteur*, 1969, 67, 2739-2766.