LEISHMANIA TROPICA AU MAROC

IV — DIVERSITÉ ISOZYMIQUE INTRAFocale¹

F. PRATLONG*, J.-A. RIOUX*, J. DEREURE*, J. MAHJOUR**, M. GALLEGRO***,
E. GUILVARD*, G. LANOTTE*, J. PERIERES*, A. MARTINI*, A. SADDIKI**

RÉSUMÉ

L'analyse écoépidémiologique d'un foyer marocain de leishmaniose cutanée à *Leishmania tropica* a permis d'observer un important polymorphisme enzymatique. Sept zymodèmes, appartenant à ce complexe, ont été identifiés sur la base de 149 souches, isolées de l'Homme, du Chien et du vecteur *Phlebotomus sergenti*. Les parasites se répartissent en trois sous-groupes dont deux composés

de trois zymodèmes « petits variants ». Cette diversité paraît en rapport avec l'ancienneté de l'infestation qui aurait permis la colonisation d'un même foyer par des zymodèmes d'origines géographiques différentes. La diversification en « petits variants » serait due à des mutations récentes, éventuellement assorties d'échanges génétiques.

SUMMARY: *Leishmania tropica* in Morocco. IV — Enzymatic diversity within a focus.

Ecoepidemiological analysis of a Moroccan focus of leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* revealed considerable enzymatic diversity. Seven zymodemes belonging to the complex were identified in 149 strains isolated from humans, dogs, and the vector *Phlebotomus sergenti*. Three distinct subgroups were identifiable, two of which were in turn, composed of three « small variant »

zymodemes. The diversity appears to be related to the age of the focus, which may have allowed colonization by zymodemes of different geographic origins. Diversification into « small variants » is apparently the result of recent mutation, possibly associated with genetic exchange.

Depuis 15 ans, la technique d'électrophorèse est utilisée avec succès dans l'analyse enzymatique du genre *Leishmania*. De la sorte, une importante diversité génétique a pu être constatée au sein de nombreux complexes (4, 5, 15). Bien plus, cette diversité a été observée à l'intérieur d'un même foyer, par exemple en Catalogne où *L. infantum* est représenté par sept zymodèmes dont certains circulent en condition syntopique, chez le vecteur ou le vertébré (10, 12, 13, 14). Quant à la signification écogénétique du phénomène, on en est réduit pour l'instant à de simples hypothèses : coexistence de zymodèmes totalement isolés ou présence concomitante de zymodèmes génétiquement dépendants (échanges).

A l'occasion de l'analyse écoépidémiologique d'un foyer de leishmaniose à *L. tropica* dans le Centre et le Sud du

Maroc, nous avons pu identifier sept zymodèmes, présents, pour la plupart, en conditions sympatriques. C'est de l'analyse de cette diversité et de ses corollaires dont il est question dans le présent article.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été réalisée au Maroc central et méridional, dans une zone de 40 000 km² comprenant les Provinces d'Azilal, d'Essaouira, d'Agadir et de Guelmin (fig. 1). Elle a intéressé le Haut-Atlas, le Souss et l'Anti-Atlas et s'est étendue sur les étages bioclimatiques semi-aride, aride et periaride.

A la suite du cas *princeps* (8), 164 souches ont été isolées de l'Homme (68 isolats), du Chien (7 isolats) et du vecteur, *Phlebotomus sergenti* (89 isolats). Chez les vertébrés, les isolements ont été réalisés par ponction-biopsie cutanée et mise en culture sur milieu NNN. Chez le vecteur, le parasite a été obtenu, après dissection, par culture directe du contenu intestinal. Certaines souches ont fait l'objet de clonage par dilution, sous contrôle au microscope.

L'électrophorèse isoenzymatique a été effectuée en gel épais d'amidon. L'identification a porté sur 149 souches² (tableau I). Les 15 systèmes suivants ont été utilisés : malate déshydrogénase (MDH); enzyme malique (ME); isocitrate déshydrogénase (ICD); 6-phosphogluconate déshydrogénase (PGD); glucose-6-phosphate

1. Enquête écoépidémiologique soutenue par le programme « Science et Technique au service du Développement » de la Commission des Communautés Européennes (Contrat n° TS2-058-F).

* Laboratoire d'Écologie médicale et de Pathologie parasitaire (Pr J.-A. Rioux), 163, rue Auguste-Broussonnet, 34000 Montpellier. France.

** Ministère de la Santé publique, Rabat, Maroc.

*** Laboratorio de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

Accepté le : 18 juin 1991.

2. Sur les 89 souches isolées de *P. sergenti*, 15 sont encore à l'étude.

Fig. 1. — *Leishmania tropica*. Répartition géographique des zymodèmes sur l'ensemble du foyer marocain. Dans le mésofoyer de Tanant, prospecté à plusieurs reprises, les zymodèmes et les souches correspondantes (entre parenthèses) sont nombreux. Les foyers de Smimou et de Taghijit, peu prospectés, n'ont révélé pour l'instant qu'une faible variabilité. Remarquons également que le zymodème MON-113 n'est représenté que dans le mésofoyer de Smimou et que le zymodème MON-107 est présent aux deux poles géoclimatiques du foyer, à Tanant (Nord semi-aride) et à Taghijit (Sud peraride).

déshydrogénase (G6PD); glutamate déshydrogénase (GLUD); NADH diaphorase (DIA); purine nucléoside phosphorylase (NP₁, NP₂); glutamate oxaloacétate transaminase (GOT₁, GOT₂); phosphoglucomutase (PGM); fumarate hydratase (FH); mannose phosphate isomérase (MPI); glucose phosphate isomérase (GPI) (7, 15).

RÉSULTATS

Au total, les 149 souches définitivement identifiées se rapportent au complexe *L. tropica*. Elles se distribuent parmi les sept zymodèmes suivants : MON-102, MON-107, MON-109, MON-112, MON-113, MON-122, MON-123 (tableau II) que la classification automatique situe dans trois des quatre sous-groupes phénétiques de ce même complexe (15). Le zymodème MON-113 s'intègre dans le sous-groupe afro-asiatique IIb, lui-même composé de 17 zymodèmes. Les trois zymodèmes MON-102, MON-109, MON-112 rejoignent le sous-groupe IIc comprenant six zymodèmes. Quant aux trois autres, ils constituent un sous-groupe nouveau (II_d) se distinguant par cinq isoenzymes diagnostiques : ME⁸⁰,

PGD⁹⁴, G6PD⁸⁵, NP1⁴²⁰, GPI⁸⁸. Une telle différence pourrait d'ailleurs remettre en cause l'appartenance de ces zymodèmes au complexe *L. tropica* s.st. Au sein du foyer marocain, les zymodèmes du sous-groupe IIc s'individualisent de ceux du sous-groupe II_d par 11 électromorphes (tableau II); MON-113 se différencie des premiers par huit électromorphes et des seconds, par 13 électromorphes. Au surplus, dans chacun des sous-groupes IIc et II_d, les trois zymodèmes marocains se comportent comme de « petits variants » ne se distinguant que par un système enzymatique sur les 15 utilisés : la phosphogluconate déshydrogénase (PGD⁹⁵, PGD¹⁰², PGD¹⁰⁸) ou la malate déshydrogénase (MDH¹⁰⁰, MDH¹⁰⁴, MDH¹¹⁶). Dans les deux cas, l'électromorphe intermédiaire est toujours plus épais, même après clonage (fig. 2 et 3). Le nombre moyen d'allèles par locus est de 2,5 (9). Seule l'isocitrate déshydrogénase est monomorphe (ICD¹⁰⁰).

Chez l'Homme, les zymodèmes MON-102 (47 cas), MON-107 (3 cas), MON-109 (1 cas), MON-112 (7 cas) et MON-113 (10 cas) ont été observés. Chez le Chien (2), il

TABLEAU I. — *Le complexe Leishmania tropica au Maroc.*
Sigles des souches et des zymodèmes.

Homme			
MHOM/MA/88/LEM1462	MON-102	MHOM/MA/88/LEM1464	MON-102
MHOM/MA/88/LEM1465	MON-102	MHOM/MA/88/LEM1466	MON-102
MHOM/MA/88/LEM1467	MON-102	MHOM/MA/88/LEM1468	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1592	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1593	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1594	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1595	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1596	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1597	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1601	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1602	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1603	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1604	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1610	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1611	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1612	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1619	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1621	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1623	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1624	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1627	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1644	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1664	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1665	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1666	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1667	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1670	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1689	MON-102	MHOM/MA/89/LEM1696	MON-102
MHOM/MA/89/LEM1782	MON-102	MHOM/MA/90/LEM2013	MON-102
MHOM/MA/90/LEM2014	MON-102	MHOM/MA/90/LEM2015	MON-102
MHOM/MA/90/LEM2016	MON-102	MHOM/MA/90/LEM2017	MON-102
MHOM/MA/90/LEM2018	MON-102	MHOM/MA/90/LEM2019	MON-102
MHOM/MA/90/LEM2020	MON-102	MHOM/MA/90/LEM2021	MON-102
MHOM/MA/90/LEM2022	MON-102	MHOM/MA/90/LEM2023	MON-102
MHOM/MA/90/LEM2027	MON-102	MHOM/MA/90/LEM2143	MON-102
MHOM/MA/90/LEM2152	MON-102	MHOM/MA/88/LEM1452	MON-107
MHOM/MA/89/LEM1613	MON-107	MHOM/MA/90/LEM2156	MON-107
MHOM/MA/89/LEM1781	MON-109	MHOM/MA/88/LEM1451	MON-112
MHOM/MA/89/LEM1600	MON-112	MHOM/MA/89/LEM1605	MON-112
MHOM/MA/89/LEM1609	MON-112	MHOM/MA/89/LEM1668	MON-112
MHOM/MA/90/LEM2024	MON-112	MHOM/MA/90/LEM2028	MON-112
MHOM/MA/89/LEM1777	MON-113	MHOM/MA/89/LEM1778	MON-113
MHOM/MA/89/LEM1779	MON-113	MHOM/MA/90/LEM2010	MON-113
MHOM/MA/90/LEM2011	MON-113	MHOM/MA/90/LEM2142	MON-113
MHOM/MA/90/LEM2144	MON-113	MHOM/MA/90/LEM2145	MON-113
MHOM/MA/90/LEM2146	MON-113	MHOM/MA/90/LEM2159	MON-113
Chien			
MCAN/MA/88/LEM1472	MON-102	MCAN/MA/89/LEM1590	MON-102
MCAN/MA/90/LEM2007	MON-102	MCAN/MA/90/LEM2008	MON-113
MCAN/MA/90/LEM2009	MON-113	MCAN/MA/90/LEM2147	MON-113
MCAN/MA/90/LEM2148	MON-113		
Phlébotome			
ISER/MA/89/LEM1728	MON-102	ISER/MA/89/LEM1686	MON-107
ISER/MA/89/LEM1687	MON-107	ISER/MA/89/LEM1691	MON-107
ISER/MA/89/LEM1692	MON-107	ISER/MA/89/LEM1734	MON-107
ISER/MA/89/LEM1735	MON-107	ISER/MA/89/LEM1736	MON-107
ISER/MA/89/LEM1738	MON-107	ISER/MA/89/LEM1739	MON-107
ISER/MA/89/LEM1740	MON-107	ISER/MA/89/LEM1741	MON-107
ISER/MA/89/LEM1742	MON-107	ISER/MA/89/LEM1743	MON-107
ISER/MA/89/LEM1744	MON-107	ISER/MA/89/LEM1745	MON-107
ISER/MA/89/LEM1747	MON-107	ISER/MA/89/LEM1750	MON-107
ISER/MA/89/LEM1752	MON-107	ISER/MA/89/LEM1753	MON-107
ISER/MA/89/LEM1754	MON-107	ISER/MA/89/LEM1755	MON-107
ISER/MA/89/LEM1757	MON-107	ISER/MA/89/LEM1758	MON-107
ISER/MA/89/LEM1759	MON-107	ISER/MA/89/LEM1760	MON-107
ISER/MA/89/LEM1761	MON-107	ISER/MA/89/LEM1794	MON-107
ISER/MA/89/LEM1795	MON-107	ISER/MA/89/LEM1796	MON-107
ISER/MA/89/LEM1797	MON-107	ISER/MA/89/LEM1798	MON-107
ISER/MA/89/LEM1801	MON-107	ISER/MA/89/LEM1803	MON-107
ISER/MA/89/LEM1806	MON-107	ISER/MA/89/LEM1807	MON-107
ISER/MA/89/LEM1808	MON-107	ISER/MA/89/LEM1809	MON-107
ISER/MA/89/LEM1811	MON-107	ISER/MA/89/LEM1812	MON-107
ISER/MA/89/LEM1813	MON-107	ISER/MA/89/LEM1814	MON-107
ISER/MA/89/LEM1815	MON-107	ISER/MA/89/LEM1816	MON-107
ISER/MA/89/LEM1817	MON-107	ISER/MA/89/LEM1818	MON-107
ISER/MA/89/LEM1819	MON-107	ISER/MA/89/LEM1823	MON-107
ISER/MA/89/LEM1832	MON-107	ISER/MA/89/LEM1833	MON-107
ISER/MA/89/LEM1835	MON-107	ISER/MA/89/LEM1836	MON-107
ISER/MA/89/LEM1837	MON-107	ISER/MA/89/LEM1839	MON-107
ISER/MA/89/LEM1841	MON-107	ISER/MA/89/LEM1845	MON-107
ISER/MA/89/LEM1846	MON-107	ISER/MA/89/LEM1828	MON-122
ISER/MA/89/LEM1844	MON-122	ISER/MA/89/LEM1694	MON-123
ISER/MA/89/LEM1749	MON-123	ISER/MA/89/LEM1751	MON-123
ISER/MA/89/LEM1799	MON-123	ISER/MA/89/LEM1802	MON-123
ISER/MA/89/LEM1805	MON-123	ISER/MA/89/LEM1820	MON-123
ISER/MA/89/LEM1821	MON-123	ISER/MA/89/LEM1822	MON-123
ISER/MA/89/LEM1826	MON-123	ISER/MA/89/LEM1827	MON-123
ISER/MA/89/LEM1834	MON-123	ISER/MA/89/LEM1838	MON-123
ISER/MA/89/LEM1840	MON-123	ISER/MA/89/LEM1842	MON-123

FIG. 2. — *Leishmania tropica*. Foyer marocain. Les zymodèmes « petits variants » MON-102, MON-109 et MON-112 (s. groupe IIc), s'individualisent par la phosphogluconate déshydrogénase. De gauche à droite :1 : PGD⁹⁵ (MHOM/MA/90/LEM2015),2 : PGD¹⁰² (MHOM/MA/90/LEM2024),3 : PGD¹⁰⁸ (MHOM/MA/89/LEM1781),4 : PGD⁹⁵ (MHOM/MA/90/LEM2016),5 : PGD¹⁰² (MHOM/MA/89/LEM1600).En 2, l'électromorphe intermédiaire PGD¹⁰² constitue une tache plus épaisse. FIG. 3. — *Leishmania tropica*. Foyer marocain. Les zymodèmes « petits variants » MON-107, MON-122 et MON-123 (s. groupe IIId), se caractérisent par la malate déshydrogénase. De gauche à droite :1 : MDH¹¹⁶ (ISER/MA/89/LEM1834),2 : MDH¹⁰⁰ (ISER/MA/89/LEM1828),3 : MDH¹⁰⁴ (ISER/MA/89/LEM1798),4 : MDH¹¹⁶ (ISER/MA/89/LEM1840),5 : MDH¹⁰⁰ (ISER/MA/89/LEM1844),6 : MDH¹⁰⁴ (ISER/MA/89/LEM1809),7 : MDH¹¹⁶ (ISER/MA/89/LEM1805).En 6, noter l'épaisseur plus importante de l'électromorphe intermédiaire MDH¹⁰⁴.

s'agissait de MON-102 (3 cas) et MON-113 (4 cas), chez le vecteur (3) de MON-102 (1 cas), MON-107 (56 cas), MON-122 (2 cas) et MON-123 (15 cas). Au Nord-Est du foyer, dans la Province d'Azilal (circonscription de Tanant), tous les zymodèmes identifiés étaient présents, à l'exception de MON-113 (7 souches) qui n'a été observé pour l'instant que le long de la côte océanique (Essaouira) (fig. 1).

TABLEAU II. — *Le complexe Leishmania tropica au Maroc*. Les sept zymodèmes identifiés se répartissent dans trois sous-groupes phénétiques, I Ib, I Ic et I Id. Dans le foyer étudié, le sous-groupe I Ib est réduit à un seul zymodème. Les sous-groupes I Ic et I Id sont constitués chacun de trois zymodèmes « petits variants », respectivement pour la PGD et la MDH.

Sous-groupes phénétiques	Enz. Zym.	MDH	ME	ICD	PGD	G6PD	GLUD	DIA	NP ₁	NP ₂	GOT ₁	GOT ₂	PGM	FH	MPI	GPI
I Ib	MON-113	112	95	100	95	82	95	100	450	100	128	90	108	100	101	76
I Ic	MON-102	118	95	100	95	82	80	120	450	90	130	70	108	110	100	76
	MON-112	118	95	100	102	82	80	120	450	90	130	70	108	110	100	76
	MON-109	118	95	100	108	82	80	120	450	90	130	70	108	110	100	76
I Id	MON-122	100	80	100	94	85	80	120	420	110	135	90	109	110	110	88
	MON-107	104	80	100	94	85	80	120	420	110	135	90	109	110	110	88
	MON-123	116	80	100	94	85	80	120	420	110	135	90	109	110	110	88

COMMENTAIRES

Depuis le travail *princeps* de Lanotte et coll., en 1981 (4), plusieurs études ont confirmé la diversité isozymique du complexe *L. tropica*. En 1986, 17 zymodèmes étaient déjà identifiés (11). En 1990, un travail complémentaire portait ce nombre à 28 (15). *Leishmania tropica* apparaissait ainsi comme le plus polymorphe des complexes leishmaniens de l'Ancien Monde. A l'étranger, des travaux similaires mettaient l'accent sur cette même diversité, en insistant sur sa distribution intrafocale : cinq zymodèmes étaient ainsi observés en Arabie Saoudite, cinq en Irak (1, 6).

Au demeurant, si la réalité du phénomène est à présent indiscutable, sa signification biologique, tant génétique qu'épidémiologique ou taxonomique, reste toujours du domaine des hypothèses : 1) les trois sous-groupes de zymodèmes seraient issus de zones géographiques distinctes et auraient atteint le foyer à différentes périodes. La différenciation en « petits variants » se serait produite postérieurement à la colonisation, 2) dans les sous-groupes I Ic et I Id, l'électromorphe intermédiaire, plus épais (PGD¹⁰², MDH¹⁰⁴), traduirait un état hétérozygote, témoin d'échanges génétiques, 3) la diversité enzymatique serait la conséquence d'un état d'équilibre hypoendémique : un zymodème unique, plus virulent, prédominerait en période hyperendémique ou épidémique, 4) l'existence du zymodème MON-102 dans des localités distantes de plusieurs centaines de kilomètres, telles que Tanant (Province d'Azilal), Smimou (Province d'Essaouira) et Imouzer (Province d'Agadir) ainsi que la présence concomitante de MON-107 au Nord du Haut-Atlas (Tanant, Fom Jemâa) et au Sud de l'Anti-Atlas (Taghijit) seraient en faveur d'une dispersion anthropogène.

Ainsi la méthode enzymatique démontre une nouvelle fois son intérêt en recherche fondamentale et son efficacité en pratique épidémiologique. Elle permet non seulement de dépister rapidement les vecteurs, les réservoirs et les sites d'infection, mais au-delà, de mettre en évidence la diversité parasitaire intrinsèque et d'en rechercher la signification. Nul doute qu'à l'avenir, d'autres foyers ne puissent bénéficier d'une telle approche.

RÉFÉRENCES

1. Al-Zahrani M. A., Peters W., Evans D. A., Smith V., Ching Chin I. : *Leishmania* infecting man and wild animals in Saudi Arabia. 6. Cutaneous leishmaniasis of man in the south-west. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, 83, 621-628.
2. Dereure J., Rioux J.-A., Gállego M., Périères J., Pratlong F., Mahjour J. Saddiki A. : *Leishmania* in Morocco. II. Infection in dogs. *Trans. R Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1991 (sous presse).
3. Guilvard E., Rioux J.-A., Gállego M., Pratlong F., Mahjour J., Martinez-Ortega E., Dereure J., Saddiki A., Martini A. : *Leishmania tropica* au Maroc. III. Rôle vecteur de *Phlebotomus sergenti*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1991, 66, 96-99.
4. Lanotte G., Rioux J.-A., Maazoun R., Pasteur N., Pratlong F., Lepart J. : Application de la méthode numérique à la taxonomie du genre *Leishmania* Ross, 1903. A propos de 146 souches originaires de l'Ancien Monde. Utilisation des allozymes. Corollaires épidémiologiques et phylétiques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1981, 56, 575-592.
5. Le Blancq S. M., Cibulskis R. E., Peters W. : *Leishmania* in the Old Word : 5. Numerical analysis of isoenzyme data. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1986, 80, 517-524.
6. Le Blancq S. M., Peters W. : *Leishmania* in the Old Word : 2. Heterogeneity among *L. tropica* zymodemes. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1986, 80, 113-119.
7. 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. Parasit. Hum. Comp.*, 1981, 56, 131-146.
8. Marty P., Le Fichoux Y., Pratlong F., Rioux J.-A., Rostain G., Lacour J. P. : Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a young Moroccan child observed in Nice, France. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, 83, 510.
 9. Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J., Britton-Davidian J. : Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. *Technique et Documentation (Lavoisier)* éd., 217 pp.
 10. Portús M., Gállego J., Rioux J.-A., Pratlong F., Moreno G., Fisa R., Gállego M., Muñoz C., Riera C., Sanchez F., Serra T. : Enzymatic heterogeneity among strains of *Leishmania infantum* from human visceral and cutaneous leishmaniasis in Catalonia (Spain). *Rev. Ibér. Parasitol.*, 1989, 49, 287-289.
 11. Pratlong F., Lanotte G., Ashford R. W., Rioux J.-A. : Le complexe *Leishmania tropica*. A propos de l'analyse numérique de 29 souches identifiées par la méthode enzymatique. In : *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques. J.-A. Rioux éd., IMEEE, Montpellier, 1986, 129-137.
 12. Pratlong F., Portús M., Rispail P., Moreno G., Bastien P., Rioux J.-A. : Présence simultanée chez le Chien de deux zymodèmes du complexe *Leishmania infantum*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1989, 64, 312-314.
 13. Rioux J.-A., Guilvard E., Gállego J., Moreno G., Pratlong F., Portús M., Rispail P., Gállego M., Bastien P. : *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 et *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911, vecteurs du complexe *Leishmania infantum* dans un même foyer. Infestations par deux zymodèmes syntopiques. A propos d'une enquête en Catalogne (Espagne). In : *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques. J.-A. Rioux éd., IMEEE, Montpellier, 1986, 439-444.
 14. Rioux J.-A., Lanotte G., Pratlong F., Dereure J., Jarry D., Moreno G., Killick-Kendrick R., Perières J., Guilvard E., Belmonte A., Portús M. : La leishmaniose cutanée autochtone dans le Sud-Est de la France. Résultats d'une enquête éco-épidémiologique dans les Pyrénées-Orientales. *Med. Mal. Inf.*, 1985, 11, 650-656.
 15. Rioux J.-A., Lanotte G., Serres E., Pratlong F., Bastien P., Perières J. : Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1990, 65, 111-125.