

Données nouvelles  
sur l'élevage de *Phlebotomus perniciosus*  
Newstead, 1911 (*Diptera, Psychodidae*)  
au laboratoire <sup>(1)</sup>

Par Henrique RIBEIRO et Carlos SOARES de FONTES e SOUSA

### Introduction

*Phlebotomus perniciosus* est un Diptère qui peut présenter un grand intérêt pour l'étude de l'épidémiologie des leishmanioses au Portugal, étant donné qu'il est plus répandu que toute autre espèce du genre. Les auteurs se sont consacrés à l'étude des conditions expérimentales d'élevage, pour mieux connaître sa biologie.

### Matériel et méthodes

Les Insectes ont été capturés à Lisbonne, en 1960, durant les mois de juin à novembre inclus.

Pour le présent essai d'élevage, nous avons adopté la méthode déjà préconisée antérieurement par l'un de nous, avec quelques perfectionnements.

A leur arrivée au laboratoire, les femelles étaient introduites dans les dispositifs de ponte, pour l'obtention des œufs ; l'évolution ultérieure se déroulait dans des chambres climatisées, à une température de 25 à 30° C., humidité relative de 70-80 % et semi-obscurité. Le dispositif utilisé (fig. 1-a, b, c) est constitué par un vase en plâtre cylindrique de 6,5 cm. environ de diamètre extérieur et 3 cm. d'arête, creusé suivant un diamètre intérieur d'environ 5,5 cm. et de 2 cm. de fond, auquel on adapte un manchon de verre ouvert aux deux extrémités et d'environ 8 cm. de hauteur. Le fond de ce dispositif

(1) Communication présentée à la Société Portugaise de Biologie, Lisbonne, le 21 août 1961.

est alors recouvert de papier-filtre, et une fois la femelle introduite, en vue de la ponte, on recouvre l'extrémité libre du manchon de verre avec un morceau d'étamine sur lequel on place une boule de coton hydrophile imbibé d'une solution de dextrose à 10 %, renouvelée chaque jour, afin de satisfaire aux besoins hydriques et énergétiques de l'Insecte.

L'humidité nécessaire est obtenue à partir d'un système (fig. 1-d) constitué par une boîte en porcelaine de  $30 \times 12 \times 12$  cm. de dimensions extérieures, avec trois ouvertures circulaires de 7 cm. de diamètre sur une des plus grandes

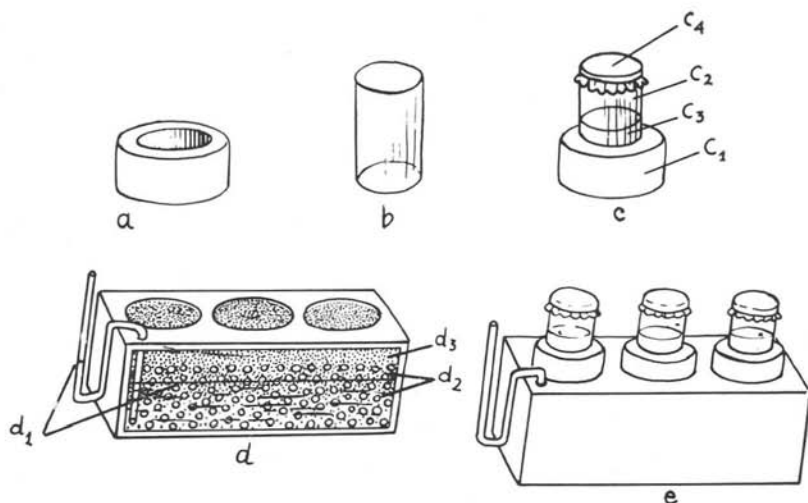


FIG. 1. — Matériel pour l'obtention de pontes : a) vase en plâtre ; b) manchon de verre ; c) dispositif de ponte monté : c<sub>1</sub>) vase en plâtre ; c<sub>2</sub>) manchon de verre ; c<sub>3</sub>) papier-filtre ; c<sub>4</sub>) étamine ; d) boîte pour l'obtention et le réglage de l'humidité : d<sub>1</sub>) niveau de l'eau ; d<sub>2</sub>) gros sable ; d<sub>3</sub>) sable fin ; e) appareil monté.

faces, la face supérieure. Un petit orifice est ménagé dans un coin pour l'introduction d'un tube fonctionnant comme indicateur de niveau. Chaque boîte est alors remplie de sable grossier jusqu'aux  $4/5^e$  de la hauteur, puis, jusqu'au niveau de la face supérieure, avec du sable fin. Par l'orifice du tube indicateur, on introduit alors l'eau, qui va s'accumuler dans la couche inférieure et de là s'élever par capillarité, à travers le sable fin, jusqu'à la surface de celui-ci, au niveau des orifices circulaires de la boîte. Sur le sable humide on place alors les dispositifs de ponte, trois par boîte (fig. 1-e), le degré d'humidité étant contrôlé par la hauteur du niveau de l'eau dans le tube indicateur.

Une fois obtenues les pontes individuelles, on procède à l'identification des Insectes progéniteurs. A cet effet, on soumet les femelles à un éclaircissement à petit feu, durant quelques minutes, dans du liquide de Marc André, et, après dissection de l'oropharynx, on procède au montage en liquide de Berlese.

L'identification est alors faite compte-tenu des caractéristiques morphologiques habituelles, internes et externes. La technique décrite permet de bien voir la morphologie des spermathèques.

Après avoir identifié les pontes de *P. perniciosus*, on enlève du dispositif le papier-filtre avec les œufs et on groupe ceux-ci sur un petit fragment du même papier humidifié. L'éclosion des œufs et le développement des larves ont lieu dans le même dispositif que pour les pontes, il suffit pour cela de remplacer le papier-filtre par un milieu de culture. Sur ce milieu, on dépose alors la face positive en bas, le fragment de papier-filtre où ont été groupés les œufs ; l'humidité du milieu est maintenue et contrôlée par le même système des boîtes décrit plus haut (fig. 2).

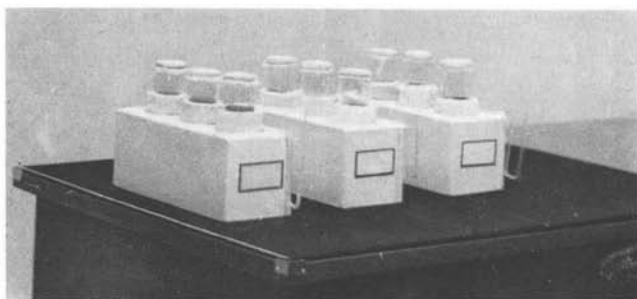


FIG. 2. — Matériel pour l'élevage des larves. Le papier-filtre a été remplacé par le milieu de culture. L'humidité est obtenue et réglée avec les mêmes boîtes.

Après avoir utilisé successivement divers milieux de culture, en nous efforçant d'en éliminer les différentes moisissures nocives pour les Insectes, nous avons finalement adopté, et avec assez de succès, les milieux « vieillis », suivant la technique proposée par P. A. Petrishcheva (1954). Suivant cette technique, le milieu, constitué par un mélange en poids égaux d'excréments de lapin et de feuilles fraîches de mûriers ou de trèfle, finement divisés, est conservé dans des récipients en argile poreuse, humidifié durant un mois ou deux, permettant ainsi la réalisation du processus de « vieillissement » biologique, et ce n'est qu'alors qu'il est utilisé.

Les adultes mâles et femelles une fois éclos sont placés dans des cages possédant un compartiment pour petits animaux et pourvues d'un petit flacon contenant du coton hydrophile imbibé dans une solution de dextrose à 10 %.

L'alimentation sur des animaux de grande taille, comme le porc, a été réalisée dans des appareils de contention appropriés, la tête de l'animal étant alors introduite dans une cage contenant les Insectes à alimenter.

Le chien s'est révélé comme un animal difficile. Le dispositif le plus efficace dans ce cas était constitué par une cage en grillage métallique, contenue dans

une autre plus grande en gaze, dans laquelle on introduisait un petit chien et où on libérait les Insectes. Cependant, les résultats obtenus ont été encore largement perturbés par le grand nombre de *Phlebotomus* tués par l'animal.

Les données les plus favorables ont été fournies par les essais sur l'homme. Bien que nous ayons réussi à alimenter quelques femelles par l'introduction de la main et de l'avant-bras nus dans une cage contenant les Insectes, nous avons cependant utilisé de préférence la technique décrite ci-dessous.

Nous introduisons les *Phlebotomus* à alimenter dans le manchon de verre d'un dispositif de ponte, fermé à l'une des extrémités par un morceau d'étamine et ouvert à l'autre, et que nous manipulions comme un tube de capture manuel. L'extrémité libre était alors appliquée sur la peau de la face interne de l'avant-bras. Etant donné sa simplicité, alliée aux bons résultats obtenus, nous avons donné la préférence à cette technique pour le maintien de l'élevage.

Les femelles alimentées étaient alors introduites dans le dispositif de ponte, et ainsi se trouvait complété le cycle biologique de l'Insecte.

## Résultats

Le présent essai de culture du *P. perniciosus* a été fait à partir de 431 femelles capturées, dont 258 ont pondu, soit 59,8 %. Le total d'œufs obtenus a été de 5.025, la moyenne par ponte étant de 19,5. Le nombre d'adultes éclos a été de 603, dont 327 mâles et 276 femelles ; il y a encore quelques dizaines d'Insectes au quatrième stade larvaire. Plus de 12 % des œufs pondus en captivité ont donc atteint le stade adulte ; le nombre moyen d'adultes obtenus pour 100 femelles capturées dans la nature a été de 139,9. Dans ces nombres sont englobés quelques dizaines d'Insectes de la deuxième génération (F<sub>2</sub>).

Sur les femelles nées en laboratoire, 252 ont été testées pour l'alimentation sur l'homme ou l'animal. Les 68 Insectes qui se sont alimentés, soit 26,9 % des femelles testées, ont été distribués entre les différents hôtes utilisés, suivant les chiffres indiqués sur le tableau ci-dessous.

## Conclusions

Les résultats obtenus nous amènent à conclure que les techniques d'élevage de *P. perniciosus* exposées dans le présent travail permettent déjà d'obtenir régulièrement un nombre suffisant d'Insectes en vue de travaux expérimentaux.

Bien que l'élevage ne nous ait pas encore fourni une population de *P. perniciosus* de caractère progressif, nous sommes convaincus que l'usage exclusif de milieux « vieillis », la défense des cultures contre la prolifération des Acares et l'alimentation des femelles exclusivement sur l'homme constituent des mesures suffisantes pour que la population acquière ce caractère.

	HÔTES	FEMELLES TESTÉES, X	FEMELLES GORGÉES, Y	Y/X
Données partielles	Hamster	25	0	0
	Cobaye	42	3	0,07
	Lapin	36	4	0,11
	Chien	51	7	0,14
	Porc	80	40	0,50
	Homme	18	14	0,78
	Données totales	6	252	68

## RÉSUMÉ

Dans le présent travail, les auteurs exposent les résultats d'un essai d'élevage de *P. perniciosus*, réalisé à partir d'Insectes recueillis à Lisbonne. Après avoir décrit la technique originale utilisée, ils analysent les résultats obtenus et concluent qu'il est possible, par la méthode proposée, de garantir la fourniture de Phlébotomes en quantité suffisante pour n'importe quel travail expérimental.

## Bibliographie

- ABONNENC (E.) et LARIVIÈRE (M.), 1957. — Observations sur la biologie de quelques Phlébotomes de la région éthiopienne en milieu expérimental. *Ann. Parasit. Hum. et Comp.*, vol 32, n° 1-2, 173-184.
- ADDIS (J. C.), 1955. — Laboratory rearing and life cycle of « *Phlebotomus (Dampfomyia) anthoporus* » Addis (*Diptera, Psychodidae*). *J. Parasit.*, vol. 31, n° 5, p. 319-321.
- ASHNER (M.), 1927. — Observations on the breeding of *Phlebotomus papatasi*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, vol. 20, n° 7, p. 452-454.
- AZEVEDO J. FRAGA DE, 1946. — Novos dados sobre a biologia das espécies de *Phlebotomus* de Lisboa e arredores. *Ann. Inst. Med. Trop.*, vol. 3, p. 3-7.
- DE TEIXEIRA A. W. GOMÈS, 1946. — Sobre as preferências hemáticas das espécies portuguesas de *Phlebotomus*. *Ann. Inst. Med. Trop.*, vol. 3, p. 159-181.

- BARRETO (M. P.), 1940. — Sobre a biologia de *F. intermedius* Lutz e Neiva, 1912 (*Diptera, Psychodidae*) em condições experimentais. *Ann. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, vol. 16, n° 1, p. 143-162.
- 1942. — Contribuição para o estudo da biologia dos Flebótomos em condições experimentais (*Diptera, Psychodidae*). *Tese de Doutorado, Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 162 pp.
- BIAGI (F. F.) et BIAGI A. M. <sup>4</sup>DE B., 1953. — Datos ecológicos de algunos Flebotomos mexicanos (*Diptera, Psychodidae*). *Ann. Inst. Biol. Univ. Nac. Mexico*, vol. 24, n° 2, p. 445-450.
- CHAGAS (A. W.), 1938. — Criação de Flebótomos em laboratório. Experiências sobre a transmissão da leishmaniose visceral americana. Nota n° 3. *O Hospital*, vol. 14, p. 1082-1087.
- 1940. — Criação de Flebótomos e transmissão experimental da leishmaniose visceral americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 35, n° 2, p. 327-334.
- CHRISTOPHERS (S. R.), SHORT (H. G.) et BARRAUD (P. J.), 1926. — Technique employed in breeding *Phlebotomus argentipes* in Assan. *Indian J. Med. Res. Mem.*, vol. 4, p. 173-175.
- COLAÇO A. T. FEIJO, 1950. — Os métodos de criação de *Phlebotomus*. *Ann. Inst. Med. Trop.*, vol. 7, p. 427-453.
- COLAS-BELCOUR (J.) (cité par PARROT), 1928. — Contribution à l'étude du développement et de la biologie des formes larvaires des Phlébotomes. *Thèse, Paris*.
- FERREIRA F. S. DA CRUZ, 1945. — A reacção das precipitinas aplicada aos dípteros do gener *Phlebotomus*. *Ann. Inst. Med. Trop.*, vol. 2, p. 187-196.
- et FERREIRA TIAGO, 1944. — Sobre a biologia das espécies de *Phlebotomus* de Lisboa e arredores. *Ann. Inst. Med. Trop.*, vol. 1, n° 2, p. 289-313.
- HERTIG MARSHALL, 1940. — Glass tubes for rearing *Phlebotomus* and other Insects. *Science*, vol. 92, n° 2.378, p. 91-92.
- HOWLETT (F. M.), 1913. — The breeding places of *Phlebotomus*. *J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 16, n° 16, p. 255-256.
- MARETT (P. J.), 1911. — The life history of *Phlebotomus*. *J. Royal Army Med. Corps*, vol. 17, p. 13-29.
- NAJERA (L. E.), 1940. — Descripción de un dispositivo nuevo para la cría de *Phlebotomus*. *Africa Médica*, vol. 6, n° 8, p. 187-198.
- 1950. — Nueva técnica para la creación y mantenimiento de colonias de *Phlebotomus*. *Rev. Sanit. Hyg. Publ.*, année 24, n° 1, p. 28-41.
- NICOLI (R. M.), 1952. — Phlébotomes de la Corse: biologie du *Phlebotomus perniciosus legeri* (J. Mansion, 1913). *C.R. Soc. Biol.*, vol. 146, n° 7-8, p. 578-580.
- PARROT (L.), 1931. — Observations biologiques sur *Ph. papatasi* (Scop.). *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, vol. 9, n° 3, p. 442-450.
- 1932. — Nouvelles observations sur la biologie de *Phlebotomus papatasi* (Scop.). *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, vol. 10, n° 3, p. 407-409.

- 1941. — Sur la nourriture des larves de Phlébotomes. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, vol. 19, n° 4, p. 435-436.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.), 1933. — Notes et réflexions sur la biologie de *Phlebotomus perniciosus* Newstead en Algérie. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, vol. 11, n° 2, p. 183-191.
- RIBEIRO HENRIQUE. — Sobre a cultura de Flebotomos no laboratório. Apresentação de uma nova técnica de criação. *Communication présentée à la Soc. Port. de Biologie*, Lisbonne, le 28 ju'n 1960.
- PETRISHCHEVA (P. A.), 1954. — Field methods of investigating sandflies and anti-sandfly measures (*en russe*), Moscow.
- ROUBAUD (E.) et COLAS-BELCOUR (J.), 1927. — Recherches biologiques sur les Phlébotomes de la Tunisie du Nord. Méthode d'isolement cellulaire pour l'éducation sélectionnée des espèces. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, vol. 16, n° 1, 1927, p. 59-80.
- SHERLOCK (I. A.), 1957. — Sobre o *Phlebotomus renei* Martins, Falcão e Silva 1956. *Rev. Brasil. Biol.*, vol. 17, n° 4, 1957, p. 547-556.
- SIMIC (T.), 1930. — Etude comparative de la biologie de *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus papatasi* en Macédoine. *Ann. Parasit. Hum. et Comp.*, vol. 8, n° 2, p. 179-182.
- SMITH (R. O. A.), 1925. — A note on a simple method of breeding sandflies. *Indian J. Med. Res.*, vol. 12, 1925, p. 41.
- 1927. — The breeding of sandflies in nature and in the laboratory. *Trans. 7th Congr. Brit. India*, vol. 3, 1927, p. 182-185.
- TEIXEIRA A. W. GOMÈS, 1947. — A propósito da criação experimental de *Phlebotomus*. *Ann. Inst. Med. Trop.*, vol. 4, n° 1, p. 107-148.
- UNSWORTH (K.) and GORDON (R. M.), 1946. — The maintenance of a colony of *Phlebotomus papatasi* in Great Britain. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, vol. 40, n° 2, p. 219-227.
- WATTERSTON (J.), 1922. — A contribution to the knowledge of bionomics of sandflies. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, vol. 16, n° 1, p. 69-92.
- WENYON (C. M.), 1913. — The length of life of *Phlebotomus* in captivity. A note on a method of keeping flies alive for experimental work. *J. London School Trop. Med.*, vol. 2, p. 170-171.
- WHITTINGHAM (H. E.) and ROOK (A. F.), 1922-1923. — Demonstration of the life-history of *Phlebotomus papatasi* and its maintenance in captivity. In: Proceedings of a Laboratory Meeting of the Royal Soc. Trop. Med. Hyg. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, vol. 16, n° 5-6, p. 262-263.

Institut de Médecine tropicale, Chaire d'Entomologie et d'Helminthologie  
(Directeur : Professeur J. Fraga de Azeredo)