

Écologie des Leishmanioses dans le sud de la France

II. La Leishmaniose viscérale canine : succès de la
transmission expérimentale " Chien → Phlébotome → Chien "
par la piqûre de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921

par J.-A. RIOUX (1), R. KILLICK-KENDRICK * (2), A. J. LEANEY (2),
C. J. YOUNG (3), D. P. TURNER (2), G. LANOTTE (1) et M. BAILLY (1)

(1) Laboratoire d'Ecologie médicale et Pathologie parasitaire (Pr J.-A. Rioux),
Faculté de médecine, 34000 Montpellier (France).

(2) Department of Zoology and Applied Entomology, Imperial College, London (England).

(3) Department of Medical Protozoology, London School of Hygiene
and Tropical Medicine, London (England).

Résumé.

Poursuivant leur programme d'étude sur la leishmaniose viscérale en Cévennes, les auteurs réalisent avec succès le cycle parasitaire complet « Chien → Vecteur → Chien ». Le rôle de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921, suspecté depuis les premières enquêtes, est confirmé. Vingt individus femelles, contaminés sur un chien malade 23 ± 2 jours auparavant, sont placés en contact avec un chien sain. Celui-ci réalise, 15 mois après, une forme viscéro-cutanée évolutive. La dissection des Phlébotomes, effectuée immédiatement après le contact infestant, montre qu'un seul d'entre eux s'est réellement gorgé. Les 17 exemplaires disséqués présentent des promastigotes dans l'intestin moyen, 10 d'entre eux renferment également des formes immobiles dans la cavité pharyngienne. L'exemplaire gorgé montre au surplus des parasites dans la trompe, occurrence considérée par plusieurs auteurs comme liée nécessairement au pouvoir infestant.

Summary.

Ecology of leishmaniasis in the south of France. II. Canine leishmaniasis : successful experimental transmission from dog to dog by the bite of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921.

As part of a study of visceral leishmaniasis in the Cévennes in southern France, an infection was transmitted from dog to dog by the bite of a single sandfly, *Phlebotomus ariasi*

(*) External staff, Medical Research Council, London.

Accepté le 5 juin 1979.

Tonnoir, 1921. The role of this species as a vector, suspected from earlier studies, is, therefore, confirmed. Twenty female sandflies, which had engorged on a naturally infected dog 23 ± 2 days previously were put with a healthy dog which, after an incubation period of 15 months, developed viscerocutaneous leishmaniasis. In dissections of the sandflies immediately after contact with the experimental dog, it was found that only one had engorged. All of 17 sandflies dissected had midgut infections: 10 of these also had infections in the pharynx. The engorged specimen additionally had parasites in the proboscis, a condition thought by many workers to be necessary for the parasite to be transmitted by bite.

Depuis 1961, date de nos préenquêtes sur la transmission de la leishmaniose viscérale dans les Cévennes (11), les preuves, directes et indirectes, impliquant *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 n'ont cessé de se renforcer. Parmi les arguments indirects, d'ordre écologique, s'inscrivait, dès l'abord, l'affirmation du caractère cynoanthrophile de l'espèce (9). Plus tard, la mise en évidence d'une forte corrélation entre les densités vectorielles et les prévalences enzootiques venait appuyer les premières hypothèses (6, 8). Les arguments directs confirmaient peu à peu les précédents. En laboratoire, l'infestation vectorielle était obtenue sans difficulté à partir de chiens atteints de formes cutanéoviscérales (10, 12, 13). *In natura*, quelques individus prélevés dans une ferme du Lodévois, au voisinage d'un chien infesté, se révélaient positifs (14). Plus tard, le comportement intravectoriel du parasite était décrit et interprété: la découverte de formes paramastigotes et promastigotes dans le pharynx et de formes promastigotes dans la trompe accréditait le rôle vecteur de cette espèce (4).

Restait à « boucler » le cycle épidémiologique en provoquant la contamination d'un chien sain par la piqûre de *Phlebotomus ariasi* expérimentalement infesté. Cette étape est aujourd'hui franchie.

Matériel et méthode

Divers arguments, autécologiques et écophysiologiques, nous ont amenés à réaliser notre étude au sein même du foyer cévenol. Mentionnons, en particulier, la nécessité d'expérimenter sur des populations naturelles et les difficultés, bien connues des spécialistes, de maintenir en vie les Phlébotomes femelles ayant accompli en laboratoire un cycle gonotrophique complet.

Le site choisi correspondait à ces impératifs: il s'agit d'un hameau de quelques maisons, bâti à mi-pente (500 m) sur la rive droite de la moyenne vallée de l'Hérault (Laumède, Gard). La station proprement dite est constituée de deux maisons contiguës construites en pierres sèches selon la tradition cévenole. L'une sert d'hébergement et de laboratoire, l'autre de point de capture. L'ensemble comporte de

vastes caves et de nombreuses dépendances, utilisées jadis comme resserres et bergeries.

Les Phlébotomes sont très abondants dans la station : lors des soirées calmes et chaudes du plein été, la chasse à l'aspirateur-nasse (9, 10) permet en quelques heures de récolter plusieurs centaines d'exemplaires par piègeur. Il s'agit, en très grande majorité, de *Phlebotomus ariasi*. Les femelles capturées sont pares ou nullipares. Les ovocytes ne dépassent pas le stade II. En début d'expérience, un prélèvement témoin permet de confirmer l'absence d'infestation leishmanienne.

Le chien contaminant utilisé dans la présente étude est un Epagneul français ♀ de deux ans (Mirka). Il accuse une leishmaniose viscéro-cutanée évolutive avec amaigrissement, asthénie, dépilation et furfur. Les parasites sont présents dans les ganglions et la peau. Les anticorps fluorescents sont au 1/1280.

Le chien sain est un petit Epagneul breton de trois mois (Djinn) provenant d'un chenil des environs de Montpellier (Pérols). Initialement, il est dépourvu d'anticorps antileishmaniens. Durant la période passée à Laumède, Djinn sera protégé toutes les nuits par une moustiquaire à mailles fines (phlébotomaire).



Fig. 1. Chien Djinn. Leishmaniose viscérale au stade d'invasion cutanée. Noter l'œdème et la dépilation périoculaire

La contamination du vecteur est réalisée selon la technique de la phlébotomie (9). Du 6 au 14 août (tableau I), le chien infesté est introduit dans le dispositif avec quelques centaines de *Phlebotomus ariasi*. Les matins suivants, les individus gorgés sont récupérés, marqués à l'aide de la poudre fluorescente (3) et relâchés peu après sur le lieu de prélèvement. Les recaptures sont réalisées du 28 août au 11 septembre à l'aide d'une lampe U.V. L'intervalle moyen depuis l'infestation est de 23 ± 2 jours. Durant cette période, 20 individus sont placés en contact avec Djinn soit directement à l'aide d'un tube (10 exemplaires), soit à l'aide d'une phlébotomie (10 exemplaires). Après l'expérience les individus sont disséqués ; le tube digestif est examiné dans son intégralité. A la fin de l'expérience le chien est ramené à Montpellier et confié à l'un d'entre nous.

Résultats

Sur les 20 Phlébotomes récupérés, un seul est gorgé. Dix-sept d'entre eux, dont ce dernier, sont disséqués (*Phlebotomus ariasi*). Tous présentent des promastigotes dans l'intestin moyen. Dix d'entre eux renferment en outre des parasites dans le pharynx. Un seul, l'exemplaire gorgé, montre également des formes mobiles dans la trompe (tableau I).

Le chien Djinn, quant à lui, reste en bonne santé apparente jusqu'au 27 décembre 1978. En quelques jours se déclare alors un syndrome infectieux subaigu fait de fièvre, d'anorexie, d'amaigrissement et de diarrhée sanglante. L'examen cutané permet également de déceler une discrète dépilation périoculaire, symétrique (fig. 1). Le 8 janvier 1979, le parasite est observé dans le ganglion poplité (examen direct et culture). Le taux d'anticorps fluorescents est au 1/1280 le 3 janvier et au 1/2560 le 8 janvier. Un traitement anti-leishmanien (*Glucanthime*®, *Lomidine*®) est instauré le 20 janvier 1979, amenant une régression rapide des symptômes généraux et cutanés. La guérison se maintient 10 mois après.

Discussion et conclusion

Ainsi, l'infestation d'un chien sain a pu être réalisée par la piqûre d'un seul *Phlebotomus ariasi* ♀ gorgé, 23 jours auparavant, sur un chien leishmanien. Il s'agit effectivement d'une contamination par piqûre et non par ingestion, puisque la totalité du lot mis en contact avec l'animal a pu être récupérée. Par ailleurs, la protection nocturne du chien sain durant le séjour en zone endémique permet d'éliminer une contamination d'autre origine. Enfin, pendant la période prépatente, l'animal a vécu aux environs de Montpellier, dans le petit village de Grabels où aucun cas de leishmaniose canine n'a été signalé. Ce village est lui-même situé dans une strate nosocologique à risque réduit (8).

Tableau I. — Cycle de *Leishmania donovani* « Chien → *Phlebotomus ariasi* → Chien ». Les 20 *Phlébotomes* utilisés dans l'expérience ont été capturés et recapturés à des dates s'étendant du 6 août au 11 septembre 1977. La durée moyenne de l'infestation des vecteurs depuis leur contact avec le chien leishmanien (*Mirka*) jusqu'à leur recapture est de $22,65 \pm 1,98$ jours. Tous les exemplaires disséqués contiennent des parasites dans l'intestin moyen et le cardia. Une assez grande proportion en présente également dans le pharynx. Un seul d'entre-eux (n° 990) contient des formes promastigotes dans la trompe. Il s'agit précisément de l'unique exemplaire gorgé.

N°	Dates de l'infestation du vecteur	Dates du contact avec le chien sain	Jours écoulés depuis l'infestation	Sang dans le tube digestif	Parasite			
					Intestin moyen	Cardia	Pharynx	Trompe
984 ...	10-8-77	29-8-77	19	abs.	+++	++++	+ *	—
972 ...	9-8-77	29-8-77	20	abs.	+++	+++	—	—
973 ...	9-8-77	29-8-77	20	abs.	++++	++++	++	—
...	10-8-77	31-8-77	21	abs.		non disséqué		
953 ...	6-8-77	28-8-77	22	abs.	++++	++++	—	—
956 ...	6-8-77	28-8-77	22	abs.	++++	++++	—	—
986 ...	11-8-77	2-9-77	22	abs.	+++	+++	—	—
988 ...	11-8-77	2-9-77	22	abs. (1)	+++	++++	+	—
989 ...	11-8-77	2-9-77	22	abs.	+++	++++	+	—
990 ...	11-8-77	2-9-77	22	présence	+++	++++	++	+
985 ...	10-8-77	2-9-77	23	abs.	+++	++++	+	—
...	10-8-77	2-8-77	23	abs.		non disséqué		
1003 ...	14-8-77	6-9-77	23	abs.	++++	++++	+	—
1004 ...	14-8-77	6-9-77	23	abs.	++++	++++	non disséqué	
950 ...	6-8-77	30-8-77	24	abs.	++++	++++	—	—
952 ...	6-8-77	30-8-77	24	abs.	++++	++++	—	—
...	8-8-77	1-9-77	24	abs.		non disséqué		
987 ...	11-8-77	4-9-77	24	abs.	+++	++++	+++	—
1001 ...	14-8-77	8-9-77	25	abs.	+++	++++	+	—
1002 ...	14-8-77	11-9-77	28	abs.	++++	++++	++	—

(1) Cet exemplaire a essayé sans succès de se gorger.

Au plan de la transmission, deux points méritent d'être soulignés : le fort pourcentage d'infestation pharyngienne (10/17) et la présence de formes promastigotes dans la trompe de l'unique exemplaire gorgé. Cette occurrence, considérée comme déterminante (1) dans les processus d'infestation (1, 2, 16), est à mettre sur le compte du délai relativement long séparant l'infestation de la recapture. Il est vraisemblable que deux cycles gonotrophiques ont eu lieu pendant ce laps de temps (5).

Quoi qu'il en soit, le cycle parasitaire « Chien → Phlébotome → Chien » est « bouclé » avec *Phlebotomus ariasi* comme vecteur. Ce faisant, pour la première fois, la leishmaniose viscérale méditerranéenne est transmise expérimentalement par piqûre, au réservoir habituel : le Chien (2).

Bibliographie

1. Adler S. (1940) : Attempts to transmit visceral Leishmaniasis to man. Remarks on the histopathology of leishmaniasis. *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 33, 119-137.
2. Adler S., Theodor O. (1957) : Transmission of disease agents by phlebotomine sandflies. *Annu. Rev. Entomol.*, 2, 203-226.
3. Killick-Kendrick R., Leaney A. J., Rioux J. A., Turner D. P., Young C. J. et Lanotte G. (1977) : Marking sandflies with fluorescent powders. *Symposium proceedings Medical Entomology centenary of Patrick Manson, Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, p. 132.
4. Killick-Kendrick R., Molyneux D. H., Leaney A. J. et Rioux J. A. (1975) : Aspects of the life cycle of *Leishmania* in the sandfly. *Proc. 2nd. Europ. multicoll. Parasit., Trogir*, 89-95.
5. Killick-Kendrick R., Molyneux D. H., Leaney A. J., Rioux J. A. et Lanotte G. (1980) : *Leishmania* in phlebotomid sandflies. VI. The development of *L. infantum* in *Phlebotomus ariasi* a natural vector in the South of France (in press).
6. Lanotte G. (1975) : Le foyer de leishmaniose viscérale des Cévennes. Limite et structures. Essai méthodologique. *Thèse Biologie humaine*, Montpellier, 270 p.
7. Rioux J.-A., Croset H., Aboulker J.-P., Papierok B. (1972) : Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 4. Infestation d'une population naturelle de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 47, 325-330.
8. Rioux J.-A., Croset H., Lanotte G. (1974) : Ecologie des foyers méditerranéens de leishmaniose viscérale. Essai de modélisation. *Colloques internationaux du C.N.R.S.*, n° 239, 295-305.
9. Rioux J.-A., Golvan Y.-J., Croset H., Houin R., Juminer B., Bain O., Tour S. (1967) : Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 1. Les Phlébotomes. Echantillonnage. Ethologie. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 42, 561-603.
10. Rioux J.-A., Golvan Y.-J., Croset H., Tour S., Houin R., Abonnenc E., Petitdidier M., Volhardt Y., Dedet J.-P., Albaret J.-L., Lanotte G., Quilici M. (1969) : *Epidémiologie des leishmanioses dans le sud de la France*. Monographie INSERM, n° 37, 223 p.
11. Rioux J.-A., Golvan Y.-J., Maistre O. (1961) : Présence de *Phlebotomus (Laroussius) ariasi* Tonnoir, 1921, dans les départements de l'Aveyron, des Bouches-du-Rhône, du Gard, de l'Hérault, des Pyrénées-Orientales et du Vaucluse. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 36, 706-707.

(1) « ... sandflies can deposit flagellates into any object on which they feed if, and only if, the distal part of the epipharynx is infected » (S. Adler, 1940, p. 420).

(2) La transmission expérimentale de *Leishmania donovani* par la piqûre de Phlébotome a été réalisée en Chine, en Inde et au Brésil avec *Phlebotomus argentipes* (Homme, Hamster chinois, Hamster doré, Souris blanche), avec *Phlebotomus chinensis* (Hamster chinois), avec *Lutzomyia longipalpis* (Hamster doré) [Cf. R. Killick-Kendrick : Biologie of *Leishmania* in phlebotomine sandflies. In : *Biology of Kinetoplastida*. Vol. 2, 1979, Acad. Press. Londres, p. 397].

12. Rioux J.-A., Lanotte G., Croset H., Dedet J.-P. (1972) : Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 5. Pouvoir infestant comparé des diverses formes de leishmaniose canine vis-à-vis de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 47, 413-419.
 13. Rioux J.-A., Lanotte G., Croset H., Houin R., Guy Y. (1972) : Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 3. Réceptivité comparée de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 et *Rhipicephalus turanicus* Pomerancev et Matikasvili, 1940 vis-à-vis de *Leishmania donovani* (Laveran et Mesnil, 1903). *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 47, 147-157.
 14. Rioux J.-A., Lanotte G., Périères J., Croset H. (1973) : Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 6. Première mention de l'infestation spontanée de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 48, 519-522.
 15. Swaminath C. S., Shortt H. E., Anderson L. A. P. (1942) : The transmission of Kala-azar. *Indian J. med. Res.*, 30, 479-480.
 16. Wenyon C. M. (1926) : Protozoology. *Baillières, Tindall et Cassel Ltd, Publ.*, London, 1 563 p.
-