

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 59

1984

N° 4

© Masson, Paris, 1983.

Ann. Parasitol. Hum. Comp.,
1984, t. 59, n° 4, pp. 331-333.

MÉMOIRES ORIGINAUX

ÉCOLOGIE DES LEISHMANIOSES DANS LE SUD DE LA FRANCE

18. Identification enzymatique de *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, isolé de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 spontanément infesté en Cévennes.

J.-A. RIOUX*, D. M. JARRY*, G. LANOTTE*, R. MAAZOUN* et R. KILLICK-KENDRICK**1

RÉSUMÉ. Pour la première fois deux souches de Leishmanies, isolées en Cévennes d'une population naturelle de *Phlebotomus ariasi*, sont identifiées par la méthode enzymatique. Elles se rapportent toutes deux au zymodème 1, caractéristique de *Leishmania infantum* s. st.

Ecology of leishmaniasis in the south of France. 18. Enzymatic identification of *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, isolated from *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921, spontaneously infected in the Cévennes.

SUMMARY. Out of 187 female *Phlebotomus ariasi* caught in the Cévennes focus of leishmaniasis 3 were found naturally infected with *Leishmania*. The infection in one of the three had spread from the midgut to the pharynx and proboscis. Stocks of *Leishmania* were isolated from two of the flies and 8 isoenzymes were examined. The newly isolated parasites were found to be indistinguishable from zymodeme 1 of *Leishmania infantum* s. st.

Si l'implication de *Phlebotomus ariasi* dans le cycle de la leishmaniose viscérale est démontrée depuis plusieurs années (J.-A. Rioux et coll., 1969, 1972a, b et c, 1973, 1979), la détermination précise des parasites observés *in natura* n'avait pu être

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

** *Medical Research Council (External Staff), Department of Pure and Applied Biology, Imperial College, London Sw 7 2 AZ (England).*

1. External Staff, Medical Research Council, London.

Accepté le 15 octobre 1983.

établie jusqu'ici. Fort heureusement, les méthodes d'identification biochimique sont venues combler cette lacune. Grâce à elles, il nous est aujourd'hui possible de rapporter à *Leishmania infantum* s. st. deux souches isolées en dehors de tout contexte leishmanien connu.

Durant l'été 1982, nous avons eu l'occasion d'étudier l'infestation d'une population de *Phlebotomus ariasi* dans une zone à haut risque des Cévennes méridionales, la montagne de l'Oiselette. La station de prélèvement, le Mas d'Arboux (L. 48, 863 G, l. 1, 490 G E, alt. 320 m, exp. S, commune de Roquedur-le-Bas, Gard), est située sur le versant sud-ouest du massif, à 50 km au nord de Montpellier. Les quelques maisons du hameau, ainsi que l'école désaffectée, sont occupées temporairement durant la belle saison. Aux alentours, en dehors de rares terrasses cultivées, s'étend la forêt mixte de Chênes verts (*Quercus ilex*) et de Chênes blancs (*Quercus pubescens*). Le Châtaignier (*Castanea vulgaris*) végète, sous forme de taillis, sur les affleurements schisteux, dans les zones fraîches d'exposition nord.

Depuis 1967, ce site est l'objet d'études régulières (J.-A. Rioux et coll., 1980 ; R. Killick-Kendrick et coll., 1981). Par ailleurs, plusieurs cas de leishmaniose canine ont été dépistés dans les environs et un cas de kala-azar infantile a été observé dans le hameau même, en 1962 (F. Valentin, 1981).

Matériel et technique

Les Phlébotomes, récoltés au capteur-nasse contre les murs des habitations, entre 21 h et 23 h, sont transportés au laboratoire et maintenus en survie durant l'étude.

La dissection proprement dite se pratique après anesthésie au CO₂, dans une goutte d'eau chlorurée à 6 ‰, additionnée de pénicilline. A l'aide de deux aiguilles stériles, la tête est d'abord séparée du thorax et placée dans une nouvelle goutte, pour examen de la cavité pharyngienne, du cibarium et de la trompe. L'ensemble thorax-abdomen est alors repris : le tube digestif est extrait par traction lente et continue sur les deux derniers segments abdominaux, le thorax restant immobilisé par une pression ferme de l'autre aiguille.

Après exérèse, l'intestin est séparé des derniers segments. Ceux-ci, contenant les ovaires et les spermathèques, sont placés dans une troisième goutte, aux fins de détermination spécifique et d'identification des stades ovariens.

Avant même l'ouverture de la paroi digestive, les exemplaires positifs se reconnaissent généralement à l'aspect dilaté de l'intestin thoracique. Pour plus de précaution, le matériel est alors transféré dans une nouvelle goutte d'eau chlorurée. Une discrète boutonnière, pratiquée dans la paroi, permet de confirmer la présence de promastigotes. Le tube digestif dans son ensemble est alors prélevé à l'aiguille stérile, broyé dans un mortier de Potter etensemencé dans 5 tubes de milieu NNN. Le reste de la goutte, contenant encore de nombreux parasites, est aspiré à la pipette Pasteur etensemencé à son tour. En cas de négativité, chaque tube fait l'objet de quatre repiquages successifs.

Résultats

Deux séries de captures, réalisées les 22.VII et 10.VIII, permettent de mener à bien la dissection de 187 femelles, appartenant toutes à l'espèce *Phlebotomus ariasi*. Trois d'entre elles (1,6 %) sont infestées : deux dans la première série, une dans la seconde. Dans ce dernier cas, les promastigotes s'observent en abondance dans l'intestin moyen, en particulier sur la valve œsophagienne, et se retrouvent dans le pharynx et la trompe.

Deux souches sont obtenues en culture. Leur identification enzymatique est réalisée à l'aide des huit systèmes suivants : MDH (1.1.1.37), ME (1.1.1.40), ICD (1.1.1.42), PGD (1.1.1.44), Gd (1.1.1.49), GOT (2.6.1.1), PGM (2.7.5.1) et GPI (5.3.1.9). Toutes deux se rapportent au zymodème 1, correspondant à *Leishmania infantum* s. st. Aucune structure hétérozygote n'est observée.

Ainsi, pour la première fois, le parasite de la leishmaniose viscérale, isolé d'une population naturelle de *Phlebotomus ariasi*, est formellement identifié. Aussi bien, et sans minimiser les difficultés de la démarche suivie, il serait important qu'en d'autres foyers, d'autres espèces bénéficient d'une telle approche, par exemple *Phlebotomus perniciosus*, vecteur probable de la leishmaniose viscérale dans le sud-est de la France, en Italie et en Afrique du Nord.

BIBLIOGRAPHIE

- KILLICK-KENDRICK R., RIOUX J.-A. : The Cévennes focus of leishmaniasis in Southern France and the biology of the vector *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. In : Canning E.U., Parasitological Topics. Special publ. n° 1, *Society of Protozoologists*, 1981, 136-145.
- RIOUX J.-A., CROSET H., ABOULKER J. P., PAPIEROK B. : Écologie des leishmanioses dans le sud de la France. 4. Infestation d'une population naturelle de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1972a, 47, 325-330.
- RIOUX J.-A., GOLVAN Y. J., CROSET H., TOUR S., HOUIN R., ABONNENC E., PETITDIDIER M., VOLLHARDT Y., DEDET J. P., ALBARET J. L., LANOTTE G., QUILICI M. : Épidémiologie des leishmanioses dans le sud de la France. *Monographie INSERM*, 1969, 37, 223 p.
- RIOUX J.-A., KILLICK-KENDRICK R., LEANEY A. J., YOUNG C. J., TURNER D. P., LANOTTE G., BAILLY M. : Écologie des leishmanioses dans le sud de la France. 11. La leishmaniose viscérale canine : succès de la transmission expérimentale Chien-Phlébotome-Chien par la piqûre de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 401-407.
- RIOUX J.-A., KILLICK-KENDRICK R., PÉRIÈRES J., TURNER D. P., LANOTTE G. : Écologie des leishmanioses dans le Sud de la France. 13. Les sites de « flanc de coteau », biotopes de transmission privilégiés de la leishmaniose viscérale en Cévennes. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1980, 55, 445-453.
- RIOUX J.-A., LANOTTE G., CROSET H., DEDET J. P. : Écologie des leishmanioses dans le sud de la France. 5. Pouvoir infestant comparé de diverses formes de leishmaniose canine vis-à-vis de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1972b, 47, 413-419.
- RIOUX J.-A., LANOTTE G., CROSET H., HOUIN R., GUY Y., DEDET J. P. : Écologie des leishmanioses dans le sud de la France. 3. Réceptivité comparée de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921, et de *Rhipicephalus turanicus* Pomerancev et Matikasvili, 1940, vis-à-vis de *Leishmania infantum* (Laveran et Mesnil, 1903). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1972c, 47, 147-157.
- RIOUX J.-A., LANOTTE G., PÉRIÈRES J., CROSET H. : Écologie des leishmanioses dans le sud de la France. 6. Première mention de l'infestation spontanée de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1973, 48, 519-522.
- VALENTIN F. : Évolution à moyen et long termes de la leishmaniose viscérale traitée. *Thèse Fac. Médecine*, Montpellier, 1981.