LES HOTES NATURELS DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN GUYANE FRANÇAISE.

Endémicité élevée du zymodème 1 chez les Marsupiaux sauvages¹

J. P. DEDET*, J. P. CHIPPAUX**, P. GOYOT*, F. X. PAJOT**, M. TIBAYRENC***,
B. GEOFFROY**, H. GOSSELIN* et P. JACQUET-VIALET*

Collaboration technique : G. CHATENAY

RÉSUMÉ. A l'occasion d'une étude épidémiologique sur la leishmaniose en Guyane française, trois espèces de Marsupiaux ont été trouvées infectées par *Trypanosoma cruzi*, avec des taux de prévalence élevés (30,8 % pour *Didelphis marsupialis*). Six espèces de réduves ont été rencontrées, dont cinq sont des vecteurs connus de maladie de Chagas.

La caractérisation iso-enzymatique de 22 souches isolées (16 de *D. marsupialis*, 3 de *Philander opossum* et 3 de *Rhodnius prolixus*) a montré qu'elles étaient toutes apparentées au zymodème 1 de Miles.

L'existence d'un cycle sylvatique endémique dans les divers faciès forestiers de Guyane française est ainsi démontrée. La colonisation d'habitations du village forestier de Cacao par *Rhodnius pictipes* et le haut degré d'infestation des *D. marsupialis* capturés dans le village, amènent à suspecter l'installation d'un cycle peridomestique dans cet établissement humain récent. De même, la découverte de colonies de *R. prolixus* dans certaines maisons de l'agglomération de Cayenne met l'accent sur le risque d'extension de la maladie de Chagas en Guyane française.

Natural hosts of Chagas' disease in French Guiana. High frequency of *Trypanosoma cruzi* zymodeme 1 in wild Marsupialia.

SUMMARY. During an epidemiological survey in French Guiana, three species of Marsupialia were found infected by *Trypanosoma cruzi* with high infection rates (30,8 % for *Didelphis marsupialis*). Six Triatomine bug species were recorded, five of them being well known vectors of Chagas' disease. Iso-enzyme characterization of 22 stocks isolated (16 from *D. marsupialis*, 3 from *Philander opossum* and 3 from *Rhodnius prolixus*) revealed that they were all related to zymodeme 1 of Miles.

* Institut Pasteur de la Guyane française, 97306 Cayenne Cedex, Guyane française.

** Centre ORSTOM de Cayenne, BP 165, 97305 Cayenne Cedex, Guyane française.

*** Instituto Boliviano de Biología de Altura, c/o Embajada de Francia, Casilla 824, La Paz, Bolivia.

1. Ce travail a bénéficié du support financier du Ministère de l'Industrie et de la Recherche au programme « Épidémiologie de la Leishmaniose tégumentaire en Guyane française ».

Accepté le 15 mai 1984.

The silvatic cycle is endemic in the various ecotopes studied. The high prevalence rates of infection in *D. marsupialis* in the human settlement of Cacao and the finding in this locality of domestic breeding of *Rhodnius pictipes* lead to suspect the occurrence of a peridomestic cycle in this village. The evidence of *R. prolixus* colonizing houses in the vicinity of Cayenne emphasizes the risk of Chagas' disease in French Guiana.

Introduction

La présence en Guyane française de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas 1909, a été rapportée dès 1941 : le parasite était mis en évidence chez deux espèces de tatous et chez l'opossum *Didelphis marsupialis* par Floch et Lajudie (1941, 1942) ainsi que chez les réduves *Rhodnius prolixus*, *R. pictipes* et *Triatoma rubrofasciata* (Floch et Lajudie, 1945). Les méthodes biochimiques de caractérisation des Trypanosomatides n'existant pas à cette époque, les seuls critères d'identification des parasites consistaient dans l'étude de la morphologie en microscopie optique et du pouvoir pathogène expérimental chez la souris. La confirmation de l'existence de *T. cruzi* en Guyane française était toutefois fournie par la découverte de cas autochtones de maladie de Chagas : entre 1940 et 1956, huit cas diagnostiqués dans le pays furent publiés dans les *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane et du Territoire de l'Inini* (Floch et Boulan, 1956).

A l'occasion d'une enquête sur l'épidémiologie de la leishmaniose tégumentaire en Guyane française, nous avons eu l'opportunité d'isoler entre octobre 1981 et décembre 1983, 28 souches de *Trypanosoma cruzi* à partir de divers opossums sauvages et d'une espèce de réduves, et ce dans les divers écosystèmes prospectés, mettant en évidence la très grande fréquence de cette zoonose sauvage en Guyane française.

Matériel et méthodes

1 - Localisation des captures

Les captures de mammifères ont été réalisées dans les quatre sites principaux suivants :

- une zone de forêt primaire située à une trentaine de kilomètres à l'ouest de Cayenne (station FRG, Montsinery) ;
- une zone de forêt secondaire fortement remaniée par l'homme à environ 20 km de Cayenne (Paramana) ;
- une zone de forêt primaire en bordure d'une vaste aire de déforestation entourant elle-même un village d'agriculteurs H'mongs réfugiés des hauts plateaux Laotiens (Acarouany) ;
- à l'intérieur même d'un second village d'agriculteurs H'mongs (Cacao) installé à la limite de la forêt, en bordure d'une vaste zone de déforestation.

2 - Captures des Triatomes

Les espèces sauvages ont été récoltées à l'aide de pièges à lumière noire et par recherche dans les terriers et les nids de mammifères dans environ 10 sites de forêt primaire. La recherche systématique de Triatomes a été menée dans les habitations des deux villages forestiers (Acarouany et Cacao). Des récoltes occasionnelles ont également été pratiquées dans 2 autres agglomérations du pays : Maripasoula (993 habitants, sur le haut Maroni) et Cayenne (la capitale du département 38 093 habitants, sur la côte Atlantique).

3 - Captures de mammifères

Les rongeurs et opossums ont été capturés vivants dans des pièges métalliques (Tomahawk live trap. Co) appâtés avec différents fruits locaux (mangue, aouara, banane). Les édentés ont été achetés à des chasseurs locaux.

4 - Identification des animaux

La détermination spécifique des mammifères réalisée sur place d'après les caractères morphologiques retenus par Husson (1978) a été contrôlée au Service de Zoologie (mammifères) du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris (Pr F. Petter). L'identification des réduves a été réalisée selon les critères taxonomiques de Lent et Wygodzinsky (1979).

5 - Isolement des souches de *T. cruzi*

Chez les mammifères, le sang cardiaque, la moelle osseuse et des broyats de foie et rate ont été ensemencés sur milieu NNN et sur milieu RPMI (Gibco) supplémenté de 15 % de sérum de veau fœtal (Flow).

Chez les triatomes, après désinfection externe à l'alcool à 70° C. (Tibayrenc et coll., 1982), le segment postérieur de l'abdomen était sectionné et le contenu de l'ampoule rectale examiné entre lame et lamelle. Les prélèvements positifs étaient immédiatement transférés sur milieux de culture NNN et LIT.

Les tubes ensemencés étaient examinés chaque semaine pendant 2 mois. Les cultures positives étaient conservées sur NNN et LIT, régulièrement repiquées jusqu'au typage, puis conservées dans l'azote liquide à -196° C.

6 - Typage isoenzymatique des souches

Les électrophorèses ont été réalisées sur plaques d'acétate de cellulose (laboratoires Helena), en utilisant comme souches de référence : C8 clone 1 (zymodème 1 bolivien) et alternativement C 50 et SC 43 clone 1 (zymodème 2 bolivien) (Tibayrenc et coll. 1983). Les six systèmes enzymatiques suivants ont été testés : phosphoglucomutase (E.C. 2.7.5.1., PGM), Malate déshydrogénase (oxaloacétate décarboxylase

(Nad⁺) (E.C. 1.1.1.40, ME), Isocitrate déshydrogénase (E.C. 1.1.1.42, ICD), Glucose phosphate isomérase (E.C. 5.3.1.9., GPI), 6 phosphogluconate déshydrogénase (E.C. 1.1.1.44, 6 PG) et glutamate déshydrogénase (Nadp⁺) (E.C. 1.2.1.4., GD).

La méthode précédemment décrite (Tibayrenc et coll., 1983) a été généralement utilisée. Pour certaines souches (A92, A97, A98, A99, A88 et A55), des modifications ont été apportées à la technique : le tampon HR (laboratoires Hélène) de force ionique 0.075 a été choisi comme tampon cellulaire pour PGM, ME, ICD, auquel était ajouté 1 mM de MgCl₂. Le tampon de membrane a été le tampon cellulaire dilué à parties égales, pour PGM, et au quart pour ME et ICD. La révélation de la glutamate déshydrogénase (Nad⁺) (E.C. 1.2.1.2., GD) a eu lieu en même temps que celle de la GD (Nadp⁺) en ajoutant simplement 5 mg de Nad à chaque dose de révélation.

Résultats

1 - Infection des mammifères

Sur 205 mammifères examinés (*tableau I*), 3 espèces de Marsupiaux ont été trouvées infectées par *Trypanosoma cruzi*. L'une d'entre elles, *Didelphis marsupialis* la sarrigue commune, localement appelée « Pian, » présente un fort pourcentage d'infection (30,8 %). La prévalence d'infection chez l'espèce *Philander opossum* est de 6,1 %. L'infection a été rencontrée également chez l'unique *Caluromys philander* piégé dans les zones d'étude.

Des exemplaires infectés de *Didelphis marsupialis* ont été rencontrés dans chacune des 4 zones de piégeage, avec des indices de prévalence variables, allant de 22,8 % en forêt primaire à 42,8 % à l'intérieur même du village forestier de Cacao et 50 % en zone de forêt secondaire fortement anthropisée (*tableau II*).

La souche a pu être isolée chez 25 des 26 animaux trouvés infectés. Les cultures positives provenaient du sang (13 fois), de la moelle osseuse (4 fois), du foie et de la rate (1 fois), du sang et de la moelle osseuse (3 fois) et à la fois du sang, du foie et de la rate (4 fois).

2 - Captures de Triatomes

En forêt, 5 espèces de Triatomes toutes connues comme vectrices de maladie de Chagas ont été capturées principalement au piège lumineux, ce sont :

- *Eratyrus mucronatus* (9 exemplaires),
- *Rhodnius pictipes* (11 exemplaires),
- *Panstrongylus geniculatus* (41 exemplaires),
- *Panstrongylus lignarius* (1 exemplaire),
- *Panstrongylus rufotuberculatus* (8 exemplaires)

Cinq exemplaires de *P. geniculatus* ont également été récoltés dans des terriers de tatous et des creux d'arbres.

TABLEAU I. — Mammifères sauvages examinés entre octobre 1981 et décembre 1983.

Ordres	Espèces	Nb. examinés
Marsupiaux	<i>Didelphis marsupialis</i>	68
	<i>Philander opossum</i>	65
	<i>Caluromys philander</i>	1
	<i>Marmosa murina</i>	1
	<i>Metachirus nudicaudatus</i>	3
Édentés	<i>Choloepus didactylus</i>	8
	<i>Bradypus tridactylus</i>	10
Rongeurs	<i>Proechimys</i> sp.	46
	<i>Echimys armatus</i>	3

 TABLEAU II. — Détail des nombres de Marsupiaux examinés (1), et des nombres (2) et pourcentages (3) de porteurs de *Trypanosoma cruzi* dans les divers écotopes étudiés.

Espèces	FRG			Paramana			Acarouany			Cacao			Total		
	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)
<i>Didelphis marsupialis</i>	35	8	22,8	10	5	50,0	9	2	22,2	14	6	42,8	68	21	30,8
<i>Philander opossum</i>	47	2	4,2	3	1	—	0	—	—	15	1	6,6	65	4	6,1
<i>Caluromys philander</i>	1	1	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—	1	1	—

Dans les habitations, seulement 3 espèces ont été rencontrées : *P. geniculatus* (4 exemplaires), *Rhodnius pictipes* (7 exemplaires) et *Rhodnius prolixus* (8 exemplaires). A l'Acarouany, aucun Triatome n'a été rencontré dans les habitations ; à Cacao, en revanche 2 colonies de *R. pictipes* ont été découvertes. A Cayenne, sur 30 habitations prospectées, 1 colonie de *R. pictipes* et 2 colonies de *R. prolixus* ont été découvertes. Enfin, des exemplaires de *P. geniculatus* attirés par la lumière ont été récoltés de nuit dans des maisons de Cacao, Maripasoula et Cayenne, sans que des colonies n'aient été rencontrées.

3 - Infestation de Triatomes

Sur 48 réduves disséquées, 35 présentaient une infection de l'ampoule rectale par des flagellés trypanosomatides.

Trois souches ont été isolées d'exemplaires de *R. prolixus* capturés à Cayenne.

4 - Caractérisation des souches isolées

Le typage isoenzymatique de 19 souches de mammifères (16 de *Didelphis marsupialis* et 3 de *Philander opossum*) et des 3 souches isolées de *R. prolixus* a montré qu'elles étaient toutes apparentées au zymodème 1 individualisé par Miles et coll. (1980), et étaient en majorité homozygotes. Des variations mineures ont été observées vis-à-vis des enzymes MEI et GD Nadp+, sur le détail desquelles nous reviendrons ailleurs.

Discussion

Miles et coll., (1981) ont montré qu'existait au Venezuela d'une part, et dans l'État du Pará au Brésil d'autre part, un cycle sylvatique très actif de *T. cruzi* zymodème 1, dont les réservoirs sont représentés par les opossums terrestres et arboricoles. Les observations que nous rapportons de Guyane ajoutent un trait d'union géographique entre ces deux zones et permettent d'entrevoir que la zoonose s'étend à l'ensemble du Bassin Nord Amazonien.

En Guyane française même, sa distribution apparaît très large, sur le territoire, les deux localités extrêmes où des mammifères ont été capturés et trouvés infectés sont distantes de plus de deux cents kilomètres (Cacao et Acarouany). De plus, elle n'est pas limitée à un seul faciès écologique, puisqu'elle intéresse aussi bien une zone de forêt primaire peu influencée par l'homme, que des zones de forêts primaire ou secondaire très fortement dégradées ou même qu'un établissement humain. La prévalence d'infection chez les réservoirs sauvages est élevée, surtout dans le cas de *Didelphis marsupialis* (30,8 %), témoignant d'une importante activité de la zoonose.

Parmi les cinq espèces de Triatomes capturées en forêt, trois (*E. mucronatus*, *R. pictipes* et *P. geniculatus*) ont été démontrées vectrices dans l'État du Pará par Miles et coll. (1981). La fréquence de *P. geniculatus* dans nos captures en forêt, son éclectisme trophique connu de l'État du Pará (Miles et coll., 1981) et constaté au cours du présent travail, font de cette espèce un vecteur possible pour le cycle sylvatique de *T. cruzi* en Guyane française.

Dans le village forestier de Cacao, la prévalence particulièrement élevée de *T. cruzi* chez les *D. marsupialis* vivant en commensaux à l'intérieur même du village, et la mise en évidence dans les habitations de deux colonies de *R. pictipes*, espèce que l'on sait très liée à *D. marsupialis* (Miles et coll., 1981), rendent probable l'existence à cet endroit, d'un cycle péri-domestique de maladie de Chagas. Semblable constatation nécessite une surveillance rigoureuse et la prise éventuelle de mesures prophylactiques pour éviter l'infection de cette population récemment introduite (1977) de zones indemnes.

De même, la découverte de colonies de *R. prolixus* dans l'agglomération de Cayenne et la mise en évidence de l'infestation de trois exemplaires par *T. cruzi* zymodème 1, impose une surveillance épidémiologique de l'affection dans la capitale

même du département où l'on sait que *D. marsupialis* abonde. *R. prolixus* constitue, en effet, l'une des principales espèces vectrices domestiques de maladie de Chagas, aussi bien en Amérique du Sud que Centrale (Sherlock, 1979).

REMERCIEMENTS. Nous remercions le Professeur F. Petter et messieurs M. Guillotin et M. Tranier qui ont bien voulu examiner les exemplaires de mammifères que nous leur avons transmis et en confirmer la détermination spécifique. Nous sommes reconnaissants vis-à-vis de la population du village de Cacao pour son aide efficace et spontanée au cours des séances de captures de mammifères et Triatomes. Nous tenons à remercier Monsieur Ho A Chuck, Maire de oura, le R.P. Charrier, le Docteur Lefait, médecin de secteur, Monsieur Ya Ma et Monsieur et Madame Robin, ainsi que Monsieur G. Tavakilian.

BIBLIOGRAPHIE

- CHAGAS C. : Nova tripanosomiase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homen. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1909, 1, 159-218.
- FLOCH H., LAJUDIE P. : Recherches sur la trypanosomiase humaine américaine en Guyane française. *Inst. Pasteur Guyane et Territoire Inini*, 1941, 21, 6 p.
- FLOCH H., LAJUDIE P. : *Cabassus lugubris* et *Didelphis cancrivora* naturellement infectés par *S. cruzi* en Guyane française. *Triatoma rubrofasciata* vecteur naturel. *Inst. Pasteur Guyane et Territoire Inini*, 1942, 45, 4 p.
- FLOCH H., LAJUDIE P. : Recherches sur la trypanosomiase humaine américaine en Guyane française. *Rhodnius prolixus* et *Rhodnius pictipes* vecteurs naturels de choix de *S. cruzi*. *Inst. Pasteur Guyane et Territoire Inini*, 1945, 117, 5 p.
- FLOCH H., BOULAN S. : Sur deux nouveaux cas de schizotrypanosomiase humaine américaine en Guyane française. *Arch. Inst. Pasteur Guyane franç.*, 1956, 412, 5 p.
- HUSSON A. M. : The mammals of Suriname. *E. J. Brill Ed.*, Leiden, 1978, 569 p.
- LENT H., WYGODZINSKY P. : Revision of *Triatominae* (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vector of Chagas' disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 1979, 163, 520 p.
- MILES M. A., LANHAM S. M., SOUZA A. A., POVOA M. : Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1980, 74, 221-237.
- MILES M. A., POVOA M. M., PRATA A., CEDILLOS R. A., SOUZA A. A., MACEDO V. : Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian form of Chagas' disease. *Lancet*, 1981, 1, 1338-1340.
- MILES M. A., SOUZA A. A., POVOA M. : Chagas' disease in the Amazon Basin : III. Ecotopes of ten Triatomine bug species (Hemiptera Reduviidae) from the vicinity of Belem, Pará state, Brazil. *J. Med. Entomol.*, 1981, 18, 266-278.
- SHERLOCK I. A. : Vectores. In *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas (Z. Brener e Z. Andrade Ed.), Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1979, 42-88.
- TIBAYRENC M., ECHALAR L., DESJEUX P. : Une méthode simple pour obtenir directement des isolats de *Trypanosoma cruzi* à partir du tube digestif du Triatome vecteur. *Cah. ORSTOM, Série Ent. Med. Parasit.*, 1982, 20, 187-188.
- TIBAYRENC M., ECHALAR L., LE PONT F., DESJEUX P. : Présence en Bolivie de 7 nouveaux variants iso-enzymatiques de *Trypanosoma cruzi*. Considérations taxonomiques et épidémiologiques. Discussion sur la valeur antigénique potentielle de certaines iso-enzymes. *Cah. ORSTOM, Sér. Ent. Med. Parasitol.*, 1983, 21 (sous presse).
- TIBAYRENC M., ECHALAR L., BRENIERE F., LEMESTRE J. L., BARNABE C., DESJEUX P. : Sur le statut taxonomique et médical des souches iso-enzymatiques de *Trypanosoma cruzi*. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1983, 296 (sous presse).