



C. R. Acad. Sci. Paris, t. 307, Série III, p. 279-282, 1988

Parasitologie animale/Animal Parasitology

Leishmaniose en Bolivie. III. *Psychodopygus carrerai carrerai* (Barretto, 1946) nouveau vecteur de *Leishmania braziliensis braziliensis* en milieu sylvatique de région subandine basse

François LE PONT, Frédérique S. BRENIÈRE, Jean MOUCHET et Philippe DESJEU

Résumé — L'utilisation d'un anticorps monoclonal spécifique de *Leishmania braziliensis braziliensis* a permis de mettre en évidence la présence de ce parasite chez quatre spécimens de *Psychodopygus carrerai carrerai* (2 496 dissections), espèce de phlébotome sylvatique anthropophile, très abondante en région subandine basse (Bolivie). Les auteurs discutent ici l'importance épidémiologique de cette espèce vectrice dans la transmission de « l'espundia », en milieu sylvatique. Ils soulignent son rôle dans la contamination très fréquente des colons nouvellement installés.

Leishmaniasis in Bolivia. III. *Psychodopygus carrerai carrerai* (Barretto, 1946), new sylvatic vector of *Leishmania braziliensis braziliensis* in lowland subandean region

Abstract — A monoclonal antibody specific for *L. b. braziliensis* was used to identify the parasite found in sylvatic anthropophilic sandflies from the low subandean region. Four specimens of *P. c. carrerai* among the 2,496 dissected were found infected by *L. b. braziliensis*. This anthropophilic sandfly species is the most abundant and widespread in the subandean lowlands and Amazonian Basin. Its epidemiological importance as a sylvatic vector of tegumentary leishmaniasis is emphasized; it is responsible of infecting newly established farmers who clear the forest.

1. INTRODUCTION. — La région de l'Alto Beni, où se sont déroulées les études, se situe dans les derniers contreforts andins à une altitude moyenne de 250 m. Elle est recouverte de forêt primaire tropicale mais de nombreux colons venant des hauts Plateaux Andins y ont été réinstallés au cours des cinq dernières années. Dès qu'ils défrichent la forêt, plus de 50% d'entre eux contractent l'« espundia », nom espagnol de la leishmaniose à *Leishmania braziliensis braziliensis* (*L.b.b.*), qui peut évoluer vers des formes cutanéomuqueuses mutilantes ([1] et [2]).

Des enquêtes menées en 1985 avaient mis en évidence le rôle vecteur de deux espèces de phlébotomes, *Psychodopygus yucumensis* et *P. Ilanosmartinsi* ([3] et [4]) mais le parasite n'avait pas été identifié chez l'espèce la plus abondante *P.c. carrerai* Barretto [5].

En août 1987, pendant la saison sèche, nous avons effectué un transect SE/NW de 210 km entre Yucumo et Ixiamas. Plus de 4 000 phlébotomes ont été capturés dans six stations (tableau I). La quasi-totalité des spécimens ont été disséqués. Les promastigotes dont ils étaient éventuellement porteurs ont été identifiés par des anticorps monoclonaux (tableau II).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les phlébotomes, capturés sur appât humain protégé [6], sont disséqués sur le champ dans une solution de NaCl 0,5 M. S'ils sont porteurs de promastigotes de leishmanies, on note la position du parasite par rapport au pyllore, l'intensité de l'infection et la présence de sang dans le tube digestif de l'insecte. La lame qui a servi à la dissection est conservée pour examen morphologique des parasites après coloration. Une suspension de parasites est déposée sur une autre lame qui est séchée et transférée au laboratoire pour identification par un anticorps monoclonal. Les dépouilles chitineuses des phlébotomes sont conservées pour confirmer l'identification de l'espèce sur des critères morphologiques.

Note présentée par Jean-François BACII.

0249-6313/88/03070279 \$ 2.00 © Académie des Sciences

TABLEAU I

Phlébotomes disséqués en août 1987 dans 6 stations de forêt sur le transect Yucumo-Ixiamas
(entre parenthèses nombre de spécimens infectés).

Sandflies dissected (August 1987) from 6 forest stations on the transect: Yucumo-Ixiamas
(in brackets number of infected sandflies).

Stations	PK 6 Rio Caripou	PK 12 Institut de Colonisation	PK 60 et 70 Playa ancha et Asunta	PK 88	PK 160 Rio Enadebe	PK 198 Rio Tequeje	TOTA 146
Nb. heures de captures	40	10	45	11	30	10	
Espèces :							
<i>P.c. carrerai</i>	1343(5+)	170(1+)	203	36	531(1+)	213(1+)	2496
<i>P. yucumensis</i>	211(1+)	192	146	117	95	3	764
<i>P. llanosmartinsi</i>	25	2			56	25	108
<i>P. nocticola</i>	3	1			1		5
<i>P. h. hirsuta</i> and <i>P.</i> <i>amazonensis</i>	9	1	9	2	73	1	95
<i>P. davisi</i>	14	6		3	4	1	28
Proche « <i>L. shawi</i> »	167	8	209(1+)	1	16	22(2+)	423
<i>L. yuilli</i>	1						1
<i>L. flaviscutellata</i>	1						1
<i>Gr. Verrucarum</i> (*)	38				30	2	70
<i>L. sherlocki</i>	2				1		3
<i>Gr. Shannoni</i> (*)	25	1	1	1	58	6	92
TOTAL	1839	381	568	160	865	273	4086

(*) Le groupe *Verrucarum* comprend 2 espèces : *L. serrana* et *L. nevesi*; le groupe *Shannoni* comprend également 2 espèces : *L. shannoni* et *L. dendrophyla*.

The *Verrucarum* group contains 2 species: *L. serrana* and *L. nevesi*; the *Shannoni* group contains also 2 species: *L. shannoni* et *L. dendrophyla*.

Au laboratoire, les lames sont fixées à l'acétone pendant 20 mn puis incubées pendant 30 mn avec un anticorps monoclonal B 18 (Clonc XIV-2A5-A10) spécifique de *L.b. braziliensis*, dilué au 1/40 [7]. Le conjugué (anti-IgG de souris marqué à la fluorescéine) est utilisé à la dilution de 1/50. La positivité du test se traduit par une fluorescence aux UV des leishmanies. Sa spécificité est contrôlée à l'aide de deux souches de référence : *L.b. braziliensis* (MHOM/BR/68/M-2903) et *L. donovani chagasi* (MHOM/BR/74/M-2682) [8].

3. RÉSULTATS. — 4086 phlébotomes, provenant de six stations, ont été disséqués. Ils se répartissaient en 15 espèces (tableau I). *P. carrerai carrerai* constituait 61% de l'échantillon.

12 spécimens étaient infectés : huit *P.c. carrerai*, un *P. yucumensis* et trois d'une espèce proche de *Lutzomyia shawi*. Toutes les infections étaient massives, s'étendaient du pylore au proventricule et se prolongeaient dans les pièces buccales. Seuls deux *P.c. carrerai* présentaient une infection limitée à la région pylorique.

Les tests d'immunofluorescence avec l'anticorps monoclonal ne confirmaient la présence de *L.b. braziliensis* que dans cinq spécimens : un *P. yucumensis* et quatre *P.c. carrerai*; parmi ces derniers, les deux spécimens présentant une infection des pièces buccales contenaient aussi des résidus de sang noir dans l'estomac (tableau II).

4. DISCUSSION. — L'utilisation d'anticorps monoclonaux a considérablement simplifié l'identification des promastigotes chez les vecteurs [9]. Cette méthode s'insère tout naturellement dans les enquêtes épidémiologiques ([10] à [16]). Au cours de ce travail elle a

TABLEAU II

Caractérisation à l'aide d'un anticorps monoclonal de *L.b. braziliensis*
dans le tractus digestif de phlébotomes infectés.

Characterization with a monoclonal antibody of *L.b. braziliensis*
in the digestive tractus of infected sandflies.

Espèces :	Nombre de spécimens examinés	Situation de l'infection			Résultats du test d'immunofluorescence
		Pièces buccales	Estomac	Pylore	
<i>P.c. carrerai</i>	2	+	+(+SN) (*)	+	+
<i>P.c. carrerai</i>	2	-	-	+	+
<i>P.c. carrerai</i>	4	-	+	+	-
<i>F. yucumensis</i>	1	+	+	+	+
Proche <i>L. shawi</i>	3	+	+	+	-

(*) SN = Sang noir.

permis de mettre en évidence, pour la première fois, le rôle vecteur de *P.c. carrerai* et de confirmer celui de *P. yucumensis* dans la transmission de *L.b. braziliensis* [4].

P.c. carrerai répond à tous les critères d'une espèce vectrice [17]; il est anthropophile et présente des infections massives du tube digestif, sur un mode péripylorique, et de la région buccopharyngée (proboscis, cibarium, pharynx). Ce sont précisément les critères qui avaient été pris en compte pour assigner à *P. wellcomei* le statut de vecteur de *L.b. braziliensis* dans l'Amazonie brésilienne [18].

La non-reconnaissance par l'anticorps monoclonal des parasites de quatre des huit spécimens infectés, suggère soit que les promastigotes appartenaient à d'autres leishmanies soit une variation de l'épitope ou la présence de substances bloquantes [9].

Seuls deux spécimens de *P.c. carrerai*, sur les quatre infectés, présentaient des parasites au niveau des pièces buccales et étaient donc susceptibles de les transmettre. Les deux autres infections purement pyloriques semblent résiduelles. Les deux spécimens infectants contenaient, dans leur tube digestif, des résidus noirs de leur repas de sang. De semblables observations avaient été faites sur des spécimens infectants de *P. yucumensis* et *P. Ilanosmartinsi*, à la même époque de l'année et dans la même région [4]. Ceci suggère que les infections massives par les leishmanies pourraient perturber la digestion du repas de sang des phlébotomes et écourter leur cycle gonotrophique.

En Bolivie, dans l'Alto Beni, *P.c. carrerai* est l'espèce anthropophile très largement dominante (tableau I). Ce phlébotome pique, en plein jour, les agriculteurs qui défrichent le sous-bois. Comme beaucoup d'espèces sud-américaines il est très sensible à l'effet d'intrusion [19] provoqué par l'homme qui pénètre dans son biotope. Son aire de répartition recouvre celle de l'« espundia » à transmission sylvatique [2] dont il pourrait être le vecteur principal dans la région subandine basse de 250 à 1 000 m d'altitude. Ce phlébotome a donc une très grande importance socio-économique, à un moment où la mise en culture de la forêt tropicale est l'alternative à la récession des activités minières. Au Brésil on avait déjà noté la très vaste répartition de *P.c. carrerai*, au cours d'un transect de 2 000 km le long de la route transamazonienne [20]. Son comportement était très voisin de celui de *P. wellcomei* et il n'est pas exclu qu'il puisse être impliqué dans la transmission de *L.b. braziliensis* en Amazonie.

Cette étude a pu être réalisée grâce à des subventions du Ministère des Relations extérieures (service de la Coopération et du Développement), du P.N.U.D. Banque Mondiale, O.M.S. (programme spécial pour la

recherche et la formation en maladies tropicales) et du programme « Santé et Développement » de la Commission des Communautés européennes.

Les auteurs remercient le Dr Diane MacMahon-Pratt pour l'anticorps monoclonal qu'elle a bien voulu leur fournir.

Note reçue le 12 janvier 1988, acceptée le 6 avril 1988.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] P. DESJEUX, F. LE PONT, S. MOLLINEDO et M. TIBAYRENC, *Leishmania* : taxonomie et phylogénèse; Applications éco-épidémiologiques, *Colloque International C.N.R.S./I.N.S.E.R.M.*, 1984, I.M.E.E.E. éd., Montpellier, déc. 1986, p. 401-410.
- [2] P. DESJEUX, S. MOLLINEDO, F. LE PONT, A. PAREDES et G. JURGATE, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81, 1987, p. 742-746.
- [3] F. LE PONT, T. CAILLARD, M. TIBAYRENC, J. P. DUJARDIN et P. DESJEUX, *C. R. Acad. Sci. Paris*, 300, série III, 1985, p. 479-481.
- [4] F. LE PONT et P. DESJEUX, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 81, (3), 1986, p. 311-318.
- [5] M. P. BARRETTO, *Anais Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 22, 1946, p. 279-293.
- [6] F. LE PONT et F. X. PAJOT, *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. Méd. et Parasitol.*, 18, 1980, p. 359-382.
- [7] D. MCMAHON-PRATT, E. BENNETT et J. R. DAVID, *Journal of Immunology*, 129, 1982, p. 926-927.
- [8] O.M.S., *Les leishmanioses*. Rapport d'un comité d'experts O.M.S., 1984, Ser. Rapp. Tech. n° 701.
- [9] J. J. SHAW, R. LAINSON, L. RYAN, R. R. BRAGA, D. MCMAHON-PRATT et J. R. DAVIS, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81, 1987, p. 69-72.
- [10] M. C. A. MARZOCHI, S. G. COUTINHO, W. J. S. DE SOUZA, L. M. DE TOLEDO, G. GRIMALDI Jr, H. MOMEN, R. S. PACHECO, P. C. SABROZA, M. A. DE SOUZA, F. B. RANGEL Jr, et N. C. TRAMONTANO, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80, (3), 1985, p. 349-357.
- [11] E. F. RANGEL, L. RYAN, R. LAINSON et J. J. SHAW, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80 (3), 1985, p. 373-374.
- [12] A. FALQUETO, J. R. COURA, G. C. BARROS, G. GRIMALDI Jr., P. A. SËSSÅ, V. R. D. CARIAS, A. C. DE JESUS et J. T. A. DE ALENCAR, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81, (2), 1986, p. 155-163.
- [13] M. P. OLIVEIRA NETO, G. GRIMALDI Jr, H. MOMEN, R. S. PACHECO, M. C. A. MARZOCHI et D. MCMAHON PRATT, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81, (3), 1986, p. 303-309.
- [14] J. A. VEXENAT, A. C. BARRETTO et A. DE C. ROSA. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81, (1), 1986, p. 125-126.
- [15] L. RYAN, R. LAINSON et J. J. SHAW, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81, 1987, p. 353-359.
- [16] G. GRIMALDI Jr., J. R. DAVID et D. MCMAHON PRATT, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 36, (2), 1987, p. 270-287.
- [17] R. KILLICK KENDRICK et R. D. WARD, *Parasitology*, 82, 1981, p. 143-152.
- [18] R. LAINSON, J. J. SHAW, R. D. WARD et H. FRAIHA, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 67, 1973, p. 184-196.
- [19] M. GERMAIN, J. P. EOZAN, L. FERRARA et J. P. BUTTON, *Cah. O.R.S.T.O.M., Ser. Ent. Méd. Parasitol.*, 9, 1973, p. 127-146.
- [20] H. FRAIHA, R. D. WARD, J. J. SHAW et R. LAINSON, *Bol. of Sanit. Panam.*, 84, (2), 1978, p. 134-139.

F. L. P. et F. S. B. : *Instituto Boliviano de Biología de Altura (I.B.B.A.)*, La Paz, Bolivie
et *Institut français de Recherche scientifique et Technique pour le Développement en Coopération*
(O.R.S.T.O.M.), 213, rue Lafayette, 75010, Paris;

J. M. : O.R.S.T.O.M., 213, rue Lafayette, 75010 Paris;

P. D. : I.B.B.A./Institut Pasteur, Paris.

Adresse actuelle : O.M.S., P.D.P./T.R.Y., 1211 Genève 27, Suisse.