

## LEISHMANIA TROPICA AU MAROC IV — DIVERSITÉ ISOZYMIQUE INTRAFocale<sup>1</sup>

188217

F. PRATLONG\*, J.-A. RIOUX\*, J. DEREURE\*, J. MAHJOUR\*\*, M. GALLEGO\*\*\*,  
E. GUILVARD\*, G. LANOTTE\*, J. PERIERES\*, A. MARTINI\*, A. SADDIKI\*\*

### RÉSUMÉ

L'analyse écoépidémiologique d'un foyer marocain de leishmaniose cutanée à *Leishmania tropica* a permis d'observer un important polymorphisme enzymatique. Sept zymodèmes, appartenant à ce complexe, ont été identifiés sur la base de 149 souches, isolées de l'Homme, du Chien et du vecteur *Phlebotomus sergenti*. Les parasites se répartissent en trois sous-groupes dont deux composés

de trois zymodèmes « petits variants ». Cette diversité paraît en rapport avec l'ancienneté de l'infestation qui aurait permis la colonisation d'un même foyer par des zymodèmes d'origines géographiques différentes. La diversification en « petits variants » serait due à des mutations récentes, éventuellement assorties d'échanges génétiques.

SUMMARY: *Leishmania tropica* in Morocco. IV — Enzymatic diversity within a focus.

Ecoepidemiological analysis of a Moroccan focus of leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* revealed considerable enzymatic diversity. Seven zymodemes belonging to the complex were identified in 149 strains isolated from humans, dogs, and the vector *Phlebotomus sergenti*. Three distinct subgroups were identifiable, two of which were in turn, composed of three « small variant »

zymodemes. The diversity appears to be related to the age of the focus, which may have allowed colonization by zymodemes of different geographic origins. Diversification into « small variants » is apparently the result of recent mutation, possibly associated with genetic exchange.

Depuis 15 ans, la technique d'électrophorèse est utilisée avec succès dans l'analyse enzymatique du genre *Leishmania*. De la sorte, une importante diversité génétique a pu être constatée au sein de nombreux complexes (4, 5, 15). Bien plus, cette diversité a été observée à l'intérieur d'un même foyer, par exemple en Catalogne où *L. infantum* est représenté par sept zymodèmes dont certains circulent en condition syntopique, chez le vecteur ou le vertébré (10, 12, 13, 14). Quant à la signification écogénétique du phénomène, on en est réduit pour l'instant à de simples hypothèses : coexistence de zymodèmes totalement isolés ou présence concomitante de zymodèmes génétiquement dépendants (échanges).

A l'occasion de l'analyse écoépidémiologique d'un foyer de leishmaniose à *L. tropica* dans le Centre et le Sud du

Maroc, nous avons pu identifier sept zymodèmes, présents, pour la plupart, en conditions sympatriques. C'est de l'analyse de cette diversité et de ses corollaires dont il est question dans le présent article.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été réalisée au Maroc central et méridional, dans une zone de 40 000 km<sup>2</sup> comprenant les Provinces d'Azilal, d'Essaouira, d'Agadir et de Guelmin (fig. 1). Elle a intéressé le Haut-Atlas, le Souss et l'Anti-Atlas et s'est étendue sur les étages bioclimatiques semi-aride, aride et peraride.

A la suite du cas *princeps* (8), 164 souches ont été isolées de l'Homme (68 isolats), du Chien (7 isolats) et du vecteur, *Phlebotomus sergenti* (89 isolats). Chez les vertébrés, les isolements ont été réalisés par ponction-biopsie cutanée et mise en culture sur milieu NNN. Chez le vecteur, le parasite a été obtenu, après dissection, par culture directe du contenu intestinal. Certaines souches ont fait l'objet de clonage par dilution, sous contrôle au microscope.

L'électrophorèse isoenzymatique a été effectuée en gel épais d'amidon. L'identification a porté sur 149 souches<sup>2</sup> (tableau 1). Les 15 systèmes suivants ont été utilisés : malate déshydrogénase (MDH); enzyme malique (ME); isocitrate déshydrogénase (ICD); 6-phosphogluconate déshydrogénase (PGD); glucose-6-phosphate

1. Enquête écoépidémiologique soutenue par le programme « Science et Technique au service du Développement » de la Commission des Communautés Européennes (Contrat n° TS2-058-F).

\* Laboratoire d'Écologie médicale et de Pathologie parasitaire (P<sup>r</sup> J.-A. Rioux), 163, rue Auguste-Broussonnet, 34000 Montpellier. France.

\*\* Ministère de la Santé publique, Rabat, Maroc.

\*\*\* Laboratorio de Parasitologia, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

Accepté le : 18 juin 1991.

2. Sur les 89 souches isolées de *P. sergenti*, 15 sont encore à l'étude.

4. Dereure J., Rioux J.-A., Gállego M., Périères J., Pratlong F., Mahjour J., Saddiki A. : *Leishmania tropica* in Morocco. II. Infection in dogs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1991 (sous presse).
5. Marty P., Le Fichoux Y., Pratlong F., Rioux J.-A., Rostain G., Lacour J.-P. : Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a young Moroccan child observed in Nice, France. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, 83, 510.
6. Nadim A., Javadian E., Noushin M. K., Nayil A. K. : Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Afghanistan. *Bull. Soc. Pathol. Ex.*, 1979, 5-6, 461-466.
7. Pratlong F., Rioux J.-A., Dereure J., Mahjour J., Gállego M., Guilvard E., Lanotte G., Périères J., Martini A., Saddiki A. : *Leishmania tropica* au Maroc. IV. Diversité isozymique intra-focale. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1991, 66, 100-104.
8. Rioux J.-A., Guilvard E., Dereure J., Lanotte G., Denial M., Pratlong F., Serres E., Belmonte A. : Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786) par *Leishmania major* MON-25. A propos de 28 souches isolées dans un foyer du Sud-Marocain. In : *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques. J.-A. Rioux éd., IMEEE, Montpellier, 1986, 471-480.
9. Rioux J.-A., Lanotte G., Serres E., Pratlong F., Bastien P., Périères J. — Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1990, 65, 111-125.
10. Rioux J.-A., Velez I.-D., Denial M., Dereure J., Périères J., Lanotte G., El Moulki W. : Présence au Maroc de *Phlebotomus (Paraphlebotomus) kazeruni* Theodor et Mesghali, 1964. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986, 61, 473-481.

rière en gel épais d'amidon. Les quinze systèmes enzymatiques suivants ont été utilisés : MDH, ME, ICD, PGD, G6PD, GLUD, DIA, NP<sub>1</sub>, NP<sub>2</sub>, GOT<sub>1</sub>, GOT<sub>2</sub>, PGM, FH, MPI, GPI (9).

## RÉSULTATS

Les 7 907 Plébotomes ♀, capturés et disséqués, se sont répartis en deux genres, cinq sous-genres et onze espèces (1, 10) :

Genre *Phlebotomus*— Sous-genre *Larroussi*

<i>P. ariasi</i> Tonnoir, 1921 .....	10 ♀
<i>P. longicuspis</i> Nitzulescu, 1930 .....	1 575 ♀
<i>P. perniciosus</i> Newstead, 1911 .....	75 ♀

— Sous-genre *Paraphlebotomus*

<i>P. alexandri</i> Sinton, 1928 .....	2 ♀
<i>P. chabaudi</i> Croset, Abonnenc et Rioux, 1970	4 ♀
<i>P. sergenti</i> Parrot, 1917 .....	4 491 ♀

— Sous-genre *Phlebotomus*

<i>P. papatasi</i> (Scopoli, 1786) .....	487 ♀
--	-------

Genre *Sergentomyia*— Sous-genre *Sergentomyia*

<i>S. antennata</i> (Newstead, 1912) .....	3 ♀
<i>S. fallax</i> (Parrot, 1921) .....	737 ♀
<i>S. minuta</i> (Rondani, 1845) .....	514 ♀

— Sous-genre *Grassomyia*

<i>S. dreyfussi</i> (Parrot, 1933) .....	9 ♀
--	-----

Durant l'enquête, l'infestation par *L. tropica* a été constatée uniquement chez *P. sergenti*. Seules les stations 2, 6 et 7, parmi les neuf piégées, ont donné un résultat positif. Sur 4 491 *P. sergenti* ♀ examinées, 89 souches ont été isolées. Toutes appartenaient au complexe phénétique *L. tropica*. La fréquence du parasitisme, nulle en juin, a augmenté significativement ( $\epsilon = 11,37$ ), du mois d'août (1,3 %) au mois d'octobre (9,9 %) (tableau I).

Sur les 89 isolats, 74 ont pu être rapportés avec exactitude aux quatre zymodèmes suivants : MON-102 (une souche), MON-107 (56 souches), MON-122 (deux souches), MON-123 (15 souches). Les zymodèmes MON-107, MON-122 et MON-123, « petits variants » pour la seule MDH, constituent à eux seuls le sous-groupe IId, du complexe phénétique *L. tropica* (9). Par contre, MON-102 se distingue nettement des trois autres zymodèmes par 11 systèmes enzymatiques : MDH<sup>118</sup>, ME<sup>95</sup>, PGD<sup>95</sup>, G6PD<sup>82</sup>, NP<sub>1</sub><sup>450</sup>, NP<sub>2</sub><sup>90</sup>, GOT<sub>1</sub><sup>130</sup>, GOT<sub>2</sub><sup>70</sup>, PGM<sup>108</sup>, MPI<sup>100</sup>, GPI<sup>76</sup>. Il se situe dans le sous-groupe IIc. Ses « petits variants », MON-109 et MON-112, observés uniquement chez l'Homme, n'ont pas été retrouvés chez le vecteur (7).

## DISCUSSION. CONCLUSION

— *P. sergenti* a été souvent suspecté dans les foyers de LCH à *L. tropica* (2, 6). Son identification, en qualité de « vrai vecteur », ne date cependant que de 1988 où deux souches, déterminées par la méthode enzymatique, ont été isolées en Arabie Saoudite (3). La présente observation confirme donc ce rôle vecteur.

— Quatre zymodèmes de *L. tropica*, sur les six observés dans les sites marocains, se rencontrent chez le vecteur. Les zymodèmes MON-122 et MON-123, « petits variants » du sous-groupe IId, n'ont pas été retrouvés chez l'Homme. Inversement, les « petits variants » MON-109 et MON-112 (sous-groupe IIc), observés chez l'Homme, n'ont pas été isolés chez le vecteur ou le Chien. Chez ce dernier, seul MON-102 a été identifié (4).

— Dans la localité d'Aït Ali Ben Salam où 62 souches du sous-groupe IId ont été isolées de *P. sergenti*, le seul cas de LCH constaté sur place, pendant toute la durée de piégeage, était dû à MON-102 (sous-groupe IIc). Dans cette même station, aucun chien n'était infecté. Cette observation évoque l'existence d'un réservoir animal autre que l'Homme et le Chien, au moins pour le sous-groupe IId.

— L'infestation vectorielle a augmenté significativement au cours de la saison chaude. Nulle en juin, elle est passée de 1,3 % en août, à 9,9 % en octobre (tableau I). La période à risque maximal se situe ainsi en début d'automne.

Au-delà de ces observations, nombre de questions restent pour l'instant sans réponse : 1) comment circulent les zymodèmes MON-102, MON-107 et leurs « petits variants »? 2) que signifie la haute fréquence, chez l'Homme, du zymodème MON-102, par rapport à sa rareté chez le vecteur, la situation inverse étant constatée pour MON-107? 3) *P. sergenti* est-il la seule espèce vectrice? 4) les observations réalisées dans la province d'Azilal sont-elles représentatives de l'ensemble du foyer, en particulier des sites éloignés de Tanant, tels qu'Essaouira à l'ouest et Taghijjt au sud?

Des réponses à ces questions dépendront l'élaboration et l'application des meilleures stratégies de lutte et de prévention.

## RÉFÉRENCES

1. Abonnenc E. : Les Phlébotomes de la région éthiopienne (Diptera, Psychodidae). *Mem. ORSTOM* n° 55, 1972, 289 p.
2. Adler S., Theodor O. : The distribution of sandflies and leishmaniasis in Palestine, Syria and Mesopotamia. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1929, 23, 269-306.
3. Al-Zahrani M. A., Peters W., Evans D. A., Smith V., Ching Chin I. : *Leishmania* infecting man and wild animals in Saudi Arabia. 6. Cutaneous leishmaniasis of man in the south-west. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, 83, 621-628.

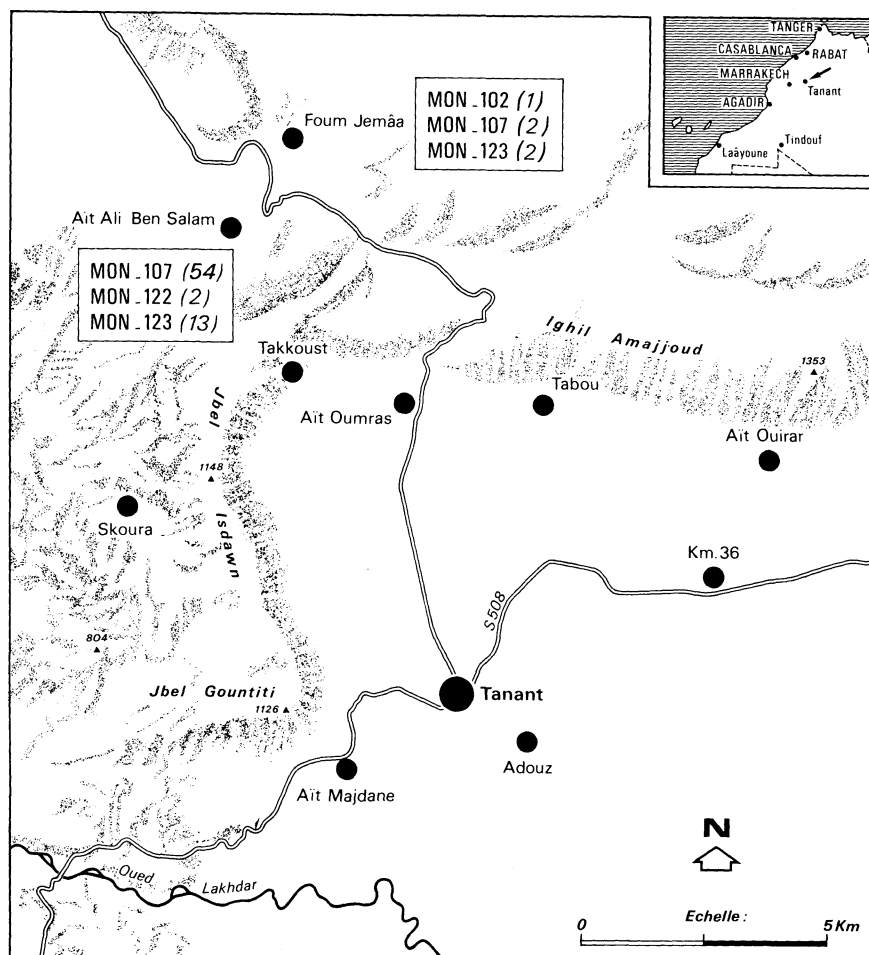


Fig. 1. — *Leishmania tropica* au Maroc. Zymodèmes et nombre de souches isolées de *Phlebotomus sergenti* dans la zone de Tanant, Foug Jemâa. Trois stations, sur les neuf piégées, ont permis d'isoler le parasite : Aït Ali Bem Salam, Foug Jemâa et Skoura. Dans le site de Skoura, les deux seules souches isolées ont été rapportées à un « petit variant », non encore codifié, du sous-groupe phénétique *L. tropica* II d.

Station 2 : Aït Ali Ben Salam. Coord. :  $131^{\circ}58'$ ,  $L 6^{\circ}59'30''$ . Alt. 950 m. Lias inférieur. Semi-aride. 34 N/P (24-31 août). 21 N/P (2-9 octobre).

Station 3 : Aït Madjane. Coord. :  $131^{\circ}51'$ ,  $L 6^{\circ}58'$ . Alt. 860 m. Lias sup. continental. Semi-aride. 45 N/P (17-20 juin). 14 N/P (7-10 octobre).

Station 4 : Aït Oumras. Coord. :  $131^{\circ}55'$ ,  $L 6^{\circ}57'42''$ . Alt. 920 m. Lias sup. cont. Semi-aride. 45 N/P (26-28 juin). 14 N/P (7-8 octobre).

Station 5 : Aït Ourar. Coord. :  $131^{\circ}54'30''$ ,  $L 6^{\circ}52'30''$ . Alt. 1 020 m. Jurassique moyen. Semi-aride. 13 N/P (10 août).

Station 6 : Foug Jemâa. Coord. :  $131^{\circ}57'30''$ ,  $L 6^{\circ}59'$ . Alt. 850 m. Lias inf. Semi-aride. 194 N/P (7-18 août).

Station 7 : Skoura. Coord. :  $131^{\circ}53'10''$ ,  $L 7^{\circ}0'57''$ . Alt. 780 m. Lias inf. Semi-aride. 80 N/P (20-25 juin), 27 N/P (11-12 août), 6 N/P (5 octobre).

Station 8 : Tabou. Coord. :  $131^{\circ}55'8''$ ,  $L 6^{\circ}55'35''$ . Alt. 960 m. Lias sup. cont. Semi-aride. 26 N/P (29-30 juin).

Station 9 : Takkoust. Coord. :  $131^{\circ}55'24''$ ,  $L 6^{\circ}59'$ . Alt. 940 m. Lias sup. cont. Semi-aride. 33 N/P (8-9 août).

TABLEAU I. — *Leishmania tropica* au Maroc. Fréquence du parasitisme chez *Phlebotomus sergenti*, en juin, août et octobre, dans le foyer de Tanant, Foug Jemâa (Province d'Azilal).

Dates de capture	Phlebotomus sergenti		Fréquences de l'infestation
	disséquées	parasitées	
Juin (17-30)	1 044	0	0 %
Août (07-31)	2 931	38	1,3 %
Octobre (02-09)	516	51	9,9 %

Les Phlébotomes ♀, récoltés durant une nuit de capture, ont été disséqués le lendemain. L'isolement du parasite a été obtenu par culture sur milieu NNN du contenu intestinal, après extraction et dilacération du tube digestif (8). La détermination de l'Insecte a été effectuée extemporanément à l'aide des spermathèques, du pharynx et du cibarium.

L'identification des *Leishmania* a été réalisée par électropho-