

16. ROCHE (S.) & ROBIN (Y.). — Infections humaines par le virus Chikungunya à Rufisque (Sénégal) octobre-novembre 1966. *Bull. Soc. Med. Afr. Noire Lgue Fr.*, 1967, 12, 490-496.
17. ROSS (R. W.). — The Newala epidemic. III. The virus: isolation pathogenic properties and relationship to the epidemic. *J. Hyg.*, 1956, 52, 651-656.
18. SALUZZO (J. F.). — Laboratoire des arbovirus. In: *Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Bangui pour l'année 1978.*
19. SUREAU (P.). — In: *Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Bangui pour l'année 1975.*
20. WEINBREN (M. P.), HADDOW (A. J.) & WILLIAMS (M. C.). — The occurrence of Chikungunya virus in Uganda. *Trans. roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1958, 52, 253-262.

ÉCOLOGIE DU VIRUS SOLDADO :
ABSENCE APPARENTE D'UN INHIBITEUR DU VIRUS
DANS LES TISSUS DE LA TIQUE VECTRICE
ORNITHODOROS (ALECTOROBIUS) MARITIMUS
VERMEIL ET MARGUET 1967

Par C. CHASTEL & G. ROGUÈS (*) (**) (***)

INTRODUCTION

Le virus Soldado est un arbovirus du groupe Hughes inféodé à des oiseaux de mer et à leurs tiques. Il a une répartition géographique mondiale qui recouvre cinq des grandes zones biogéographiques du monde : zone néotropicale où ce virus fut isolé pour la première fois, en 1963, à Soldado Rock, un îlot proche de Trinidad (9), zone éthiopienne avec l'Éthiopie (7), les îles Seychelles (4), l'Afrique du Sud et le Sénégal, zone néarctique avec le Texas (11), zone paléarctique avec le Pays de Galles (5), l'Irlande (10) et la France (2), zone australienne enfin avec les îles Hawaï (15).

Dans tous les cas, il provenait de tiques *Ornithodoros* du sous-genre *Alectorobius* : *Ornithodoros (A.) denmarki* (9), *O. (A.) capensis* (4, 7, 9, 11, 15) et *O. (A.) maritimus* (2, 5, 10).

Aux îles Seychelles (4, 6), on a mis en évidence le pouvoir pathogène du virus Soldado pour les oiseaux de mer et l'écologie de ce virus a été étudiée en 1974-1975, à Puffin Island, détroit de Menai, dans le nord du Pays de Galles (8). Là, la prévalence de l'infection virale a été déterminée, d'une part, par la recherche directe du virus chez les tiques *O. (A.) maritimus* et dans le sang des oisillons parasités et, d'autre part, par l'étude des anticorps neutralisants chez les oiseaux.

(*) Laboratoire de Virologie, Faculté de Médecine, BP 815, 29279 Brest Cedex, France.

(**) Travail réalisé avec l'aide financière de l'I. N. S. E. R. M. [CL 80 80 03].

(***) Séance du 2 juillet 1980.

Aucun virus n'a été isolé du sang des oisillons (*Larus argentatus* et *Phalacrocorax aristotelis*), tandis que deux sérums neutralisaient le virus Soldado (8).

Par contre, de nombreuses souches de virus Soldado ont été isolées à partir de tiques, mais il a été montré que le rendement en isollements positifs était nettement meilleur lorsque l'on inoculait des tiques traitées individuellement que lorsque l'on partait de lots constitués de plusieurs individus (jusqu'à 10). Entre autres hypothèses destinées à expliquer ce phénomène, JOHNSON et coll. (8) ont pensé qu'il pourrait exister un inhibiteur du virus Soldado dans les tissus des tiques, par analogie avec ce qui avait été décrit pour des tissus de moustiques et d'autres arbovirus. En effet, YUILL (4) avait montré que des suspensions de différentes souches d'*Aedes aegypti*, *Culex tritaeniorhynchus* et *C. gelidus* réduisaient de façon appréciable le nombre de plages formées en cellules LLC-MK₂ par le virus Chikungunya, les virus de la dengue et le virus de l'encéphalite japonaise. Par inoculation au souriceau nouveau-né l'effet était moins net.

Nous avons essayé de mettre en évidence, au laboratoire, l'existence d'un tel inhibiteur, ceci ayant un intérêt théorique évident, mais pouvant aussi déboucher éventuellement sur l'isolement de substances naturelles ayant une action antivirale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1) Difficultés de la mise en évidence d'un tel inhibiteur.

Lors des tentatives d'isolement du virus Soldado utilisant le souriceau nouveau-né comme réactif, les tissus de tiques *O. (A.) maritimus* réunis en lots pouvaient avoir interféré avec la multiplication virale par différents mécanismes :

a) présence dans les tissus d'une ou plusieurs substances naturelles inhibitrices du développement viral ;

b) présence d'anticorps spécifiques anti-Soldado, reliquat d'un repas sanguin pris sur un oiseau immun, ou encore d'inhibiteurs non spécifiques d'origine sérique ;

c) présence du virus Soldado lui-même, en très faible quantité, ou d'autres virus (ou arbovirus) de tiques capables d'interférer entre eux, par différents mécanismes. On sait en effet que lorsque l'on établit des lignées de cellules d'arthropodes, elles contiennent fréquemment un ou plusieurs virus à l'état latent.

Nous ne pouvions donc utiliser pour une expérimentation destinée à révéler de tels inhibiteurs des exemplaires sauvages de *O. (A.) maritimus* provenant des différentes stations explorées (Cap Fréhel, Essaouira, Cap Sizun), car toutes nous avaient fourni des isollements positifs de virus Soldado ou d'autres virus, évidemment inutilisables pour l'expérimentation. Quant aux lots de tiques provenant de ces stations et qui avaient été classés comme « négatifs », ils pouvaient tout de même contenir des virus sous une forme ou en quantités telles qu'ils n'avaient pas été décelés par inoculation au souriceau, réactif relativement peu sensible. Enfin beaucoup de ces lots étaient constitués de spécimens gorgés ou semi-gorgés.

Nous nous sommes donc adressés au Professeur C. VERMEIL ⁽¹⁾ qui dispose dans son laboratoire d'un élevage d'*O. (A.) maritimus* établi par lui-même il y a plus de quinze ans, à partir de spécimens provenant de l'île Dumet, d'où il a décrit pour la première fois cette tique (12, 13).

Nous pensions ainsi pouvoir éliminer, au moins en partie, le facteur *b* (pour ce qui concerne les anticorps spécifiques) puisque les tiques sont nourries sur des poussins sains ou de jeunes pigeons et le facteur *c* (pour les arbovirus latents chez la tique) car il y avait peu de chances qu'un arbovirus se soit maintenu dans cet élevage pendant plus de quinze ans.

2) Préparation d'un extrait de tissus de tiques (ETT).

Nous avons reçu du Professeur C. VERMEIL 7 nymphes vivantes qui ont été broyées et mises en suspension dans des conditions standard, comme si elles étaient destinées à une tentative d'isolement de virus.

Une partie de ETT a été congelée à -70°C jusqu'à l'expérimentation proprement dite, tandis qu'une autre partie était inoculée, par voie IC, à deux portées de souriceaux âgés de 24 heures et à des cultures cellulaires, en vue de s'assurer que cet extrait ne contenait pas de virus. Les souriceaux ont été conservés pendant un mois de façon à ne pas laisser échapper une souche virale à incubation longue, supérieure au délai classique d'observation de 21 jours comme c'est parfois le cas pour le virus Soldado.

Aucun symptôme n'a été noté chez les souriceaux inoculés; aucun effet cytopathogène n'a été décelé dans les cultures de rein de singe Vervet et de fibroblastes diploïdes MRC 5.

3) Essai de mise en évidence d'un inhibiteur du virus Soldado.

Nous avons mis en contact pendant une heure à la température du laboratoire, d'une part 0,25 ml de dilution au 1/2, au 1/20 et au 1/200 d'ETT en milieu de Eagle à 2 % de sérum de veau et, d'autre part, 0,25 ml d'une suspension du virus Soldado, souche de référence TR 52 214, représentant environ 200 DL 50-souriceau. Un mélange témoin, ne contenant pas ETT, a été préparé par contact de la même dose de virus (0,25 ml) et de milieu de Eagle à 2 % de sérum de veau (0,25 ml).

Après contact, chacun des mélanges a été inoculé, par voie IC, à des portées homogènes de 8 souriceaux âgés de 48 heures.

La mortalité dans chaque lot a été appréciée au 21^e jour après l'inoculation et l'on a noté les délais écoulés entre l'inoculation et les décès, pour chaque groupe de souriceaux. Il était prévu de répéter l'expérience en cas de résultat positif ou douteux.

RÉSULTATS

Ils sont exposés dans le tableau I. Aucune différence n'a été enregistrée entre les souriceaux témoins et ceux qui avaient été inoculés avec le virus après contact avec les dilutions de ETT : mortalité et délais d'apparition des décès sont superposables.

⁽¹⁾ que nous remercions très sincèrement de son aide.

TABLEAU I

*Mortalité et délais d'apparition des décès
chez des souriceaux inoculés par voie IC avec 100 DL₅₀ du virus Soldado,
après contact ou non avec un extrait tissulaire de O. (A.) maritimus (ETT).*

| | Mortalité | Délais d'apparition des décès (en jours) |
|--|-----------|---|
| Après contact avec ETT au 1/2. | 7/8 | 8-18 |
| Après contact avec ETT au 1/20. | 8/8 | 11-19 |
| Après contact avec ETT au 1/200. | 8/8 | 15-19 |
| Témoins | 7/8 | 15-17 |

COMMENTAIRES

Il est clair que, au moins en ce qui concerne les nymphes d'*O. (A.) maritimus* provenant d'un élevage artificiel, leurs tissus ne semblent contenir aucun inhibiteur du virus Soldado. Évidemment, nous ne savons pas si des extraits de larves ou d'adultes de cette même tique, testés dans les mêmes conditions, n'auraient pas eu un effet inhibiteur. Toutefois, les nymphes, stade examiné ici, représentent une part très importante des spécimens étudiés virologiquement tant à Puffin Island (8) que dans nos propres enquêtes sur les tiques du Cap Fréhel (2, 3). Il est donc vraisemblable que ce n'est pas un inhibiteur tissulaire qui peut, à lui seul, expliquer le phénomène observé.

Pour notre part, nous avons noté, au Cap Fréhel, des différences sensibles dans le rendement en isollements positifs suivant l'année de récolte et suivant les stades entrant dans la composition des lots inoculés aux souriceaux :

- 8 souches isolées en 1977, pour un total de 92 tiques inoculées, dont presque la moitié de femelles (48 %) ;
- 4 souches isolées en 1978, pour un total de 164 tiques inoculées, dont une proportion moindre de femelles (28 %) ;
- 5 souches isolées en 1979, pour un total de 206 tiques inoculées, dont très peu de femelles (12 %). Les lots étaient constitués de 5 à 6 individus pour les adultes ou les grosses nymphes, de 10 à 12 individus pour les petites nymphes et les larves.

D'une manière générale, nous avons isolé beaucoup plus de souches à partir de lots d'adultes que de lots d'immatures, ce qui a déjà été observé à Puffin Island (8), mais aussi plus de souches à partir des lots de femelles que des lots de mâles, une distinction qui n'a pas été faite dans les enquêtes réalisées à Puffin Island.

Dans un autre ordre d'idées, en 1978, nous avons isolé simultanément au Cap Fréhel des souches typiques de virus Soldado et d'autres souches qui appa-

raissaient différentes par la structure antigénique et par un pouvoir pathogène plus faible pour les souriceaux et les souris (3). Une de ces souches, Brest/Ar/T 101, a été adressée au Y. A. R. U., pour complément d'identification, et une correspondance récente du Docteur J. CASALS (1) vient de nous apprendre qu'il s'agit d'un *sous-type antigénique* du virus Soldado. Il est possible que la circulation de tels variants, irrégulièrement pathogènes pour les souriceaux, puisse influencer d'une année à l'autre, sur le rendement apparent en isolements positifs. On notera en effet, que JOHNSON et coll. (8) ont mis en évidence le phénomène qu'ils décrivent, en comparant des isolements de 1974 et des isolements de 1975.

CONCLUSIONS

Il paraît peu probable qu'un inhibiteur du virus Soldado, présent dans les tissus des tiques, puisse rendre compte à lui seul des différences observées dans le rendement en isolements positifs des enquêtes virologiques, suivant que l'on inocule des lots constitués de plusieurs tiques ou des individus traités isolément. En tout cas, un tel inhibiteur semble absent des tissus de nymphes d'*O. (A.) maritimus*.

D'autres facteurs doivent être pris en considération dans l'interprétation des résultats des enquêtes virologiques sur le virus Soldado :

- la composition des lots de tiques en fonction de leur stade et, pour les adultes, de leur sexe ;
- la nature des souches circulant, à un moment donné, dans les populations de tiques et d'oiseaux de mer ;
- peut-être également, le statut immunologique des oiseaux parasités, lors des enquêtes.

RÉSUMÉ

Lors des tentatives d'isolements du virus Soldado à partir de la tique vectrice *O. (A.) maritimus*, certains auteurs ont observé des différences sensibles dans les taux d'isolements, suivant que l'on partait de lots constitués de plusieurs tiques ou d'individus traités isolément. Une des explications possibles était que les tiques pouvaient contenir un inhibiteur tissulaire du virus.

Or, le contact d'un extrait de nymphes d'*O. (A.) maritimus* provenant d'un élevage de laboratoire, avec le virus Soldado, n'a aucun effet sur le pouvoir pathogène de ce virus pour le souriceau nouveau-né. L'existence d'un tel inhibiteur apparaît donc improbable.

D'autres facteurs intervenant dans l'écologie du virus Soldado et pouvant influencer sur les taux d'isolements du virus à partir de matériel naturellement infecté sont brièvement discutés.

Mots-clés : VIRUS SOLDADO, « ORNITHODOROS (A.) MARITIMUS », ÉCOLOGIE, INHIBITEUR DU VIRUS.

SUMMARY

Ecology of Soldado virus: apparent lack of viral inhibitor in the tissues of the vector tick, *Ornithodoros (Alectorobius) maritimus*

VERMEIL et MARGUET 1967.

It was previously postulated by others that suspensions of ticks *O. (A.) maritimus* may contain virucidal material (viral inhibitor) for Soldado virus leading to observe different infection rates according as the ticks were tested individually or in pools.

In order to test this hypothesis, suspensions of nymphs of this species originating from a laboratory breeding stock, were mixed with Soldado virus before inoculation to suckling mice. No difference in mortality was observed between the mice receiving the virus exposed to tick suspensions and the controls. So, it seems unlike a viral inhibitor was responsible for the phenomenon.

Others factors involved in Soldado virus ecology and possibly influencing the virus isolation efficiency are briefly discussed.

Key-words : SOLDADO VIRUS, « ORNITHODOROS (A.) MARITIMUS », ECOLOGY, VIRAL INHIBITOR.

BIBLIOGRAPHIE

1. CASALS (J.). — Com. person. (mai 1980).
2. CHASTEL (C.), LAUNAY (H.), ROGUÈS (G.) & BEAUCOURNU (J. C.). — Isolement en France du virus Soldado (arbovirus, groupe Hughes) à partir d'*Ornithodoros (A.) maritimus* Vermeil et Marguet 1967. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1979, 288, 559-561.
3. CHASTEL (C.), LAUNAY (H.), ROGUÈS (G.), LE GOFF (F.) & BEAUCOURNU (J. C.). — Arbovirus infections in Brittany, France. Intern. Symp. New aspects in Ecology of Arboviruses, Smolenice, 11-15 juin 1979.
4. CONVERSE (J. D.), HOOGSTRAAL (H.), MOUSSA (M. I.), FEARE (C. J.) & KAISER (M. N.). — Soldado virus (Hughes group) from *Ornithodoros (Alectorobius) capensis* (Ixodoidea; Argasidae) infesting sooty tern colonies in the Seychelles, Indian Ocean. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1975, 24, 1010-1018.
5. CONVERSE (J. D.), HOOGSTRAAL (H.), MOUSSA (M. I.) & EVANS (D. E.). — Soldado virus from *Ornithodoros (Alectorobius) maritimus* (Ixodoidea; Argasidae) infesting herring gull nests on Puffin Islands, Northern Wales. *Acta Virol.*, 1976, 20, 243-246.
6. FEARE (C. J.). — Desertion and abnormal development in a colony of sooty terns (*Sterna fuscata*) infested by virus-infected ticks. *Ibis*, 1976, 118, 112-115.
7. HOOGSTRAAL (H.), KAISER (M. N.) & EASTON (E. R.). — *Ornithodoros (Alectorobius) capensis* Neumann (Ixodoidea, Argasidae) parasitizing a human and birds nesting on islands on East African lakes. *J. med. Ent.*, 1976, 12, 703-704.
8. JOHNSON (B. K.), CHANAS (A. C.), SHOCKLEY (P.), SQUIRES (E. J.), VARMA (M. G. R.), LEAKE (C. J.) & SIMPSON (D. I. H.). — Investigations of the ecology of Soldado virus on Puffin Island, North Wales. *Acta Virol.*, 1979, 12, 428-432.
9. JONKERS (A. H.), CASALS (J.), AITKEN (T. H. G.) & SPENCE (L.). — Soldado virus, a new agent from Trinidadian *Ornithodoros* ticks. *J. med. Entomol.*, 1973, 10, 517-519.

10. KEIRANS (J. E.), YUNKER (C. E.), CLIFFORD (C. M.), THOMAS (L. A.), WALTON (G. A.) & KELLY (T. C.). — Isolation of a Soldado-like virus (Hughes group) from *Ornithodoros maritimus* ticks in Ireland. *Experientia*, 1976, **32**, 453.
11. KING (K. A.), BLANKINSHIP (D. R.), PAUL (R. T.) & RICE (R. C. A.). — Ticks as a factor in the 1975 nesting failure of Texas brown pelicans. *The Wilson Bull.*, 1977, **89**, 157-158.
12. VERMEIL (C.) & REHEL (H.). — Sur la présence dans les îles de Basse-Bretagne d'un ornithodore parasite des oiseaux de mer appartenant au complexe *coniceps-capensis*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1964, **57**, 958-960.
13. VERMEIL (C.) & MARGUET (S.). — Sur le diagnostic des larves d'Ornithodores du complexe *coniceps-capensis* (*Acarina* ; *Argasidæ*) ; *Ornithodoros coniceps* (Canestrini 1970) *maritimus* n. ssp. prévaut dans les îles de Basse-Bretagne. *Acarologia*, 1967, **9**, 557.
14. YUILL (T. M.). — Reduction of arbovirus plaque numbers by suspensions of normal mosquitoes. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1969, **18**, 609-613.
15. YUNKER (C. E.). — Tick-borne viruses associated with seabirds in North America and related islands. *Med. Biology*, 1975, **53**, 302-311.

EXISTE-T-IL DES SOUCHES HÉPATOTROPES D'ENTAMOEBIA HISTOLYTICA ?

Par G. CHARMOT (*) (**)

Cette question a été posée depuis longtemps par des cliniciens et des parasitologues, et, à ce jour, n'a pas reçu de réponse nette. Cependant, des données cliniques, parasitologiques et expérimentales apportent des présomptions en faveur de l'existence de telles populations d'*E. histolytica*. Avant de les examiner, il convient peut-être de souligner que les amibes possèdent la propriété de reconnaissance du soi et du non-soi et que dans l'évolution du système immunitaire cette propriété pourrait être l'anticipation des compatibilités tissulaires. Dans l'amibiase hépatique le protiste phagocyte des hépatocytes nécrosés (par les enzymes protéolytiques et du fait des oblitérations veineuses) et se multiplie en réalisant dans le foie une véritable colonie de cellules étrangères, sans rencontrer apparemment de défense immunitaire efficace.

EXPOSÉ DES FAITS

1. Données cliniques

Depuis longtemps, les cliniciens ont remarqué que l'abcès amibien du foie se présentait le plus souvent comme une manifestation primitive du parasitisme, c'est-à-dire sans manifestation colitique concomitante, ni même ancienne, au

(*) Hôpital de l'Institut Pasteur, 213, rue de Vaugirard, Paris 15^e.

(**) Séance du 2 juillet 1980.