

## SPIROPLASMES ET ARTHROPODES HÉMATOPHAGES ; PERSPECTIVES EN PATHOLOGIE TROPICALE

Par Claude CHASTEL <sup>(1)</sup>, Marie-Louise ABALAIN-COLLOC <sup>(1)</sup>, Bruno GILÔT <sup>(2)</sup>,  
Francette LE GOFF <sup>(1)</sup>, Raymond GRUFFAZ <sup>(3)</sup>, Anne-Marie SIMITZIS <sup>(1)</sup>

### RÉSUMÉ

*Les spiroplasmes sont des mollicutes, organismes procaryotes dépourvus de paroi, mais présentant cependant une forme spiralée tout en demeurant déformables et mobiles. On en connaît 23 sérogroupe et de nombreux sérotypes. Jusqu'à présent, ils ont intéressé surtout les phytopathologistes parce qu'ils sont responsables de maladies de plantes transmises par des arthropodes vecteurs ; c'est le cas de Spiroplasma citri, l'agent du « stubborn » des agrumes. D'autres sont pathogènes pour certains arthropodes : drosophiles, abeilles et coléoptères. D'autres enfin ont été isolés d'arthropodes hématophages : tiques, moustiques et Tabanidae. Ces derniers pourraient avoir une grande importance en Pathologie Tropicale.*

**Mots-clés :** SPIROPLASMES, IXODIDAE, CULICIDAE, TABANIDAE, INTERACTIONS VIRUS/VECTEUR.

### SUMMARY

Spiroplasmas and hematophagous arthropods; prospects in tropical pathology.

*Spiroplasmas are original wall-free prokaryotes which exhibit motility and a helical shape although lacking any cell wall or motile apparatus. They are known by phytopathologists because some of them are responsible for severe arthropod-borne plant diseases, such as Spiroplasma citri, the etiologic agent of « citrus stubborn disease ». Other spiroplasmas are pathogenic for a number of insects: drosophils, bees and beetles. More recently spiroplasmas were also isolated from ticks, mosquitoes, horse-flies and deer-flies opening a new chapter in medical pathology. These agents are of possible great significance in Tropical Medicine.*

**Key-words :** SPIROPLASMAS, IXODIDAE, CULICIDAE, TABANIDAE, VIRUS-VECTOR INTERACTIONS.

<sup>(1)</sup> Département de Microbiologie et Santé Publique, Faculté de Médecine, B. P. 815, 29285 Brest Cedex, France.

<sup>(2)</sup> I. N. S. E. R. M. Laboratoire « Écologie et Biogéographie des Grands Systèmes Montagneux » de l'Université de Grenoble I, associé au C. N. R. S. (LA 242) et Laboratoire de Biologie Végétale, B. P. 68, 38402 Saint-Martin-d'Hères, France.

<sup>(3)</sup> Entente Interdépartementale pour la démoustication, Préfecture de la Savoie, B. P. 2, 73310 Chindrieux, France.



## INTRODUCTION

Les spiroplasmés sont de curieux micro-organismes appartenant à la classe des mollicutes (7, 42). Malgré l'absence d'une paroi rigide de type bactérien et d'un appareil locomoteur figuré, ils parviennent à conserver une morphologie spiralée et à réaliser des mouvements actifs voisins de ceux des spirochètes.

Jusqu'à présent ils ont surtout retenu l'attention des phytopathologistes car ils peuvent déterminer des maladies redoutables telles que le « stubborn » des agrumes (6, 7). Ils peuvent aussi être simplement présents à la surface de nombreuses fleurs (12, 17, 41) où les insectes peuvent se contaminer.

Ils sont susceptibles d'infecter de nombreux insectes et certains de ces arthropodes (cicadelles) jouent le rôle de vecteurs actifs ou de disséminateurs de maladies des végétaux. D'autres spiroplasmés, ou les mêmes, sont pathogènes pour les insectes, soit naturellement, soit dans les conditions expérimentales (12, 13, 23, 27, 40, 46). Enfin, quelques spiroplasmés isolés de tiques sont pathogènes pour les jeunes rongeurs de laboratoire ou l'embryon de poulet (11, 34, 36, 38).

L'intervention de spiroplasmés en Pathologie Humaine ou Animale demeure hypothétique. Toutefois, si l'on fait un parallèle entre les maladies des plantes transmises par des insectes suceurs de suc végétaux et leurs correspondants en Pathologie Animale où différents agents pathogènes empruntent des mécanismes voisins de transmission, à travers le repas sanguin d'un arthropode hématophage, il n'est pas illogique de postuler l'existence chez l'homme ou chez l'animal d'infections à spiroplasmés.

De ce point de vue, l'isolement de spiroplasmés à partir de tiques (8, 11, 26, 32, 34, 35, 36, 38) puis plus récemment à partir de moustiques (10, 30) et de Tabanidae (14), tous capables de piquer l'homme, pose clairement le problème.

STRUCTURE, PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES  
ET CLASSIFICATION DES SPIROPLASMES

Les spiroplasmés sont des procaryotes appartenant à la classe des mollicutes, ordre des mycoplasmatales, famille des Spiroplasmataceae qui ne comprend qu'un seul genre : *Spiroplasma* (43). L'espèce type est *Spiroplasma citri*, l'agent du « stubborn ».

En milieu liquide, et au moins lors de la phase logarithmique de croissance, ils apparaissent comme des hélices mobiles de 3 à 12  $\mu\text{m}$  de long sur 100 à 160 nm de large, aisément observables au microscope à fond noir. Ils traversent les filtres de porosité 0,22  $\mu\text{m}$ , ce qui a pu les faire prendre pour des virus.

La plupart se multiplie aisément *in vitro*, dans des milieux relativement riches et complexes (7, 42). Nous utilisons le milieu SP4 (37).

Au point de vue structural, leur paroi est dépourvue de peptidoglycane, ce qui les rend totalement résistants à la pénicilline. Le cytoplasme est limité par une membrane plasmique de 6,7-8,7 nm d'épaisseur et contient de petits ribosomes d'environ 17 nm de diamètre. Les spiroplasmés sont dépourvus de



filament axial, ce qui les distingue aussi des spirochètes avec lesquels ils peuvent être confondus lors de l'examen au fond noir (26).

Leur génome est constitué d'un ADN de PM  $1,0 \times 10^9$  daltons dont le G + C % se situe entre 26 et 31. De nombreuses protéines membranaires ont été décelées chez *Sp. citri* dont la plus abondante, la spiraline, semble spécifique des spiroplasmés sérologiquement apparentés à cette espèce (groupe I-1) (44).

La motilité des spiroplasmés qui resterait inexplicée en l'absence d'un appareil locomoteur figuré, pourrait être due à des microfibrilles associées à la membrane plasmique (9, 31, 33, 45).

La classification des spiroplasmés reste en pleine évolution. Au sein du genre *Spiroplasma*, la notion d'espèce n'est pas encore clairement définie. Pour le moment, on les classe en groupe sérologiques désignés par des chiffres romains et, éventuellement, en sous-groupes désignés par des chiffres arabes. On peut définir au moins 23 groupes sérologiques et il existe une bonne corrélation entre les regroupements obtenus par la sérologie et par d'autres méthodes plus fondamentales : G + C %, hybridation moléculaire de l'ADN, protéines membranaires, etc.

#### SPIROPLASMES ET VIRUS

Les spiroplasmés, comme les autres procaryotes, peuvent héberger des plasmides et de très nombreux types de virus (2, 7, 15, 16, 18, 19, 24, 25, 28, 31). Des infections virales doubles ou triples sont possibles. Ces *Spiroplasmavirus* peuvent conférer aux spiroplasmés des propriétés nouvelles, comme par exemple diminuer le pouvoir pathogène de certaines souches de *Sp. citri* (2). De ce fait, on a pu envisager de les utiliser dans la lutte biologique contre les maladies végétales à spiroplasmés (2). Récemment, on a montré que la surinfection expérimentale d'un spiroplasmé de drosophile, déjà infecté par un virus endogène Spv-1, au moyen d'un deuxième virus HIV provenant d'un autre spiroplasmé de drosophile modifiait profondément les propriétés de surface du spiroplasmé doublement virosé (24).

#### SPIROPLASMES ET TIQUES

Actuellement 5 souches de spiroplasmés appartenant à 3 groupes sérologiques distincts ont été isolées à partir de tiques de la famille des Ixodidae (38) et toutes aux U. S. A. (tableau I).

1. *Les souches de Sp. mirum.* — Trois de ces souches ont été isolées en Georgie et dans le Maryland, à partir d'*Haemaphysalis leporispalustris*. Elles sont étroitement apparentées par leurs propriétés sérologiques, biochimiques et pathologiques. Elles induisent chez les jeunes rongeurs de laboratoire des atteintes dégénératives du cristallin et du système nerveux central (32, 34, 38).



TABLEAU I  
*Spiroplasma* isolés de tiques.

Souche	Espèce	Hôte naturel	Géographie	Groupe et sous-groupe sérologique	Écologie
SMC A	<i>Spiroplasma mirum</i>	<i>Haemaphysalis leporispalustris</i>	Georgie	V	Probablement liée à l'hôte
GT 48	<i>Sp. mirum</i>	<i>H. leporispalustris</i>	Georgie	V	Probablement liée à l'hôte
TP 2	<i>Sp. mirum</i>	<i>H. leporispalustris</i>	Maryland	V	Probablement liée à l'hôte
277 F	?	<i>H. leporispalustris</i>	Montana	I-4	Association à l'hôte incertaine
Y 32	?	<i>Ixodes pacificus</i>	Oregon	VI	Probablement liée à l'hôte

— La souche SMC A, l'agent de la cataracte du souriceau, a été isolée initialement par inoculation de lots d'*H. leporispalustris* dans l'œuf de poule embryonné et il fut d'abord pris pour un virus (11). Sa vraie nature ne fut reconnue que 12 ans plus tard (34).

— La souche GT 48 a été isolée de Géorgie dans les mêmes conditions.

— La souche TP 2 par contre a été isolée directement en milieu artificiel SP4 sans passer par l'œuf, toujours de la même tique, mais récoltée dans le Maryland (32).

Comme *Sp. mirum* a été isolé de façon répétée de la tique *H. leporispalustris*, et que les 3 souches forment un groupe sérologique particulier (le groupe V), on pense que ce spiroplasma est bien lié, sur le plan écologique, à cette tique et à ses hôtes : petits rongeurs, oiseaux, lapins sauvages (38).

2. La souche 277 F provient également de tiques *H. leporispalustris* récoltées dans l'Ouest du Montana (26). Son isolement avait été obtenu par inoculation à l'œuf de poule embryonné et il fut d'abord confondu avec un spirochète, avant que sa véritable nature ne soit reconnue quelques années plus tard (8). Ce spiroplasma a été transmis expérimentalement à *Ornithodoros moubata*, tique argasidae chez laquelle il se multiplie intensément dans tous les tissus (8). Les passages chez *O. moubata*, et peut-être les clonages réalisés sur cette souche, lui ont fait perdre son pouvoir pathogène initial pour l'embryon de poulet (26) et pour le raton nouveau-né (31).

Ce spiroplasma a des affinités sérologiques avec *Sp. citri* (il appartient au groupe I-4), ce qui fait que son association bio-écologique avec *H. leporispalustris* est incertaine ; ce pourrait être un contaminant des tissus externes de la tique, acquis au contact du support végétal (42).

3. La souche Y 32 a été isolée en 1980 à partir d'*Ixodes pacificus* (35). Le milieu SP 4 a été utilisé pour les isolements qui ont également été possibles en lignées continues de cellules de *Dermacentor variabilis* RML-15 et RML-19. Ce spiroplasma appartient au groupe sérologique VI. Les spécimens d'*I. pacificus* récoltés entre mars et mai sont les seuls à héberger des spiroplasma (38).



4. *Résultats négatifs.* — Parmi les autres tiques chez lesquelles la présence de spiroplasmés a été recherchée sans succès aux U. S. A. figurent : *Ixodes dammini*, *I. spinipalpis*, *Dermacentor andersoni*, *D. variabilis*, *Argas cooleyi*, *Ornithodoros concanensis* et *O. rostratum* (38).

En France, notre équipe a testé sans succès 454 tiques appartenant à divers stades d'*Ornithodoros maritimus*, *Argas macrostigmatus*, *Dermacentor reticulatus* et *Ixodes ricinus*. Quelques exemplaires de *Rhipicephalus sanguineus* femelles récoltés au Gabon ont également été négatifs.

#### SPIROPLASMES ET MOUSTIQUES

Nos connaissances sur les spiroplasmés de moustiques sont relativement moins développées que pour les tiques et elles sont plus récentes. On dispose d'informations parcellaires provenant des U. S. A. (30) et de France (10).

1. *La souche AES-1* représente le premier isolement d'un spiroplasmé à partir de moustiques (30). Elle a été isolée dans le New Jersey en 1981 à partir de lots d'*Aedes sollicitans*. Ce moustique de marais salants est réputé pour les nuisances qu'il entraîne, mais aussi comme vecteur du virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEE) et de la filariose du chien à *Dirofilaria immitis*.

La souche AES-1 appartient à un groupe sérologique particulier : le groupe X (46). Par ailleurs, des plantes en fleurs provenant des mêmes marais et dont le nectar constitue très probablement pour ce moustique la première source d'énergie disponible après émergence, n'étaient pas infectées par ce spiroplasmé (30).

Les auteurs qui ont découvert AES-1 posent clairement le problème de son pouvoir pathogène éventuel à la fois pour l'homme qui est piqué et pour les plantes, étant donné les contacts étroits qui existent entre les fleurs et les moustiques. De plus, ils s'interrogent sur le retentissement éventuel de l'infection spiroplasmique sur la compétence vectorielle d'*Ae. sollicitans* pour le virus EEE (30).

2. *Souches isolées de moustiques en France.* — A partir de lots de moustiques récoltés en 1983 en Savoie, 6 souches de spiroplasmés ont été isolées par ensemencement en milieu SP 4 (10). Une souche provenait d'un lot mixte d'*Aedes sticticus/vexans* et 5 souches de lots d'*Aedes* du groupe *cantans* <sup>(1)</sup>. Tous ces moustiques sont susceptibles de piquer l'homme, mais l'on ignore si leurs spiroplasmés peuvent être pathogènes pour lui ou pour les animaux (10).

La caractérisation de ces 6 souches s'est poursuivie à Brest (tableau II) avec l'aide du Laboratoire de R. F. WHITCOMB à Beltsville, Maryland, pour la sérologie, et de celui de J. M. BOVÉ à Pont-de-la-Maye, pour l'étude de l'ADN.

Nous savons maintenant que ces 6 souches appartiennent à au moins deux groupes sérologiques différents, dont le groupe XIII entièrement nouveau, avec comme représentant AR 1343 (*sticticus/vexans*) dont le G + C %

<sup>(1)</sup> *Aedes cantans* et *Ae. annulipes*.



TABLEAU II

*Spiroplasmes isolés de moustiques et actuellement suffisamment caractérisés.*

Souche	G + C % <sup>(1)</sup>	Hôte naturel	Géographie	Groupe sérologique <sup>(2)</sup>
AES-1	26	<i>Aedes sollicitans</i>	New Jersey, U. S. A.	X
Ar 1343	30	<i>Aedes sticticus/vexans</i>	Savoie, France	XIII
Ar 1357	25,5	<i>Aedes</i> groupe <i>cantans</i>	Savoie, France	?

(<sup>1</sup>) J. M. BOVÉ, 1985. (<sup>2</sup>) R. F. WHITCOMB, 1985.

est de 30, et un autre groupe sérologique restant à déterminer, avec pour représentant Ar 1357 (groupe *cantans*) dont le G + C % est de 25,5. De plus la sensibilité à divers antibiotiques des 6 souches a été déterminée : toutes les souches sont résistantes à la rifampicine et, pour les autres antibiotiques, leur sensibilité se rapproche de celle des mycoplasmes habituellement rencontrés en Pathologie Humaine (1).

Parallèlement, notre équipe s'intéresse aux aspects écologiques de l'infection des moustiques par ces spiroplasmes. L'examen de moustiques récoltés en 1984 dans quatre stations différentes de la même région de Savoie, nous a confirmé la grande diffusion de ces agents parmi les populations culicidiennes, puisque 14 souches de spiroplasmes (ou de mycoplasmes) ont été isolées. De plus, deux espèces nouvelles de moustiques, *Aedes* groupe *cinereus* (2) et *Coquillettidia richiardii*, ont été trouvées infectées, en même temps que 3 souches de virus en cours de caractérisation étaient isolées.

## SPIROPLASMES ET TABANIDAE

Les Tabanidae d'intérêt médical ont relativement moins d'importance en Pathologie Humaine (la loase mise à part) qu'en Pathologie Vétérinaire. En effet, ils sont capables de transmettre à l'animal un nombre incroyable d'agents pathogènes (21) et entraînent des nuisances considérables, avec des répercussions économiques se chiffrant en millions de dollars, en lait et en viande, par simple effet irritatif.

Aussi l'isolement de spiroplasmes à partir de Tabanidae appartenant à différents genres, dans le Maryland et la Caroline du Nord, a-t-il soulevé un intérêt particulier, avec la possibilité ultérieure de les utiliser pour la lutte biologique contre ces dangereux diptères (14).

Chez les Tabanidae, les spiroplasmes sont localisés au niveau de l'hémolymphe et du tube digestif, mais seuls ceux présents au niveau du tube digestif ont pu être cultivés.

(2) *Ae. cinereus* et *Ae. geminus*.



Pour le moment, il semble qu'au moins trois nouveaux sérogroupes de spiroplasmes peuvent se rencontrer dans le tube digestif de Tabanidae appartenant à 7 espèces différentes : *Tabanus sulcifrons*, *T. calens*, *T. catenatus*, *T. nigrovittatus*, *Hybomitra lasiophthalma* et *Chrysops* sp. (14).

TABLEAU III

*Spiroplasmes isolés de Tabanidae et actuellement suffisamment caractérisés.*

Souche	G + C % <sup>(1)</sup>	Hôte naturel	Géographie	Groupe sérologique <sup>(2)</sup>
DF-1 (Derm fly spiroplasma)	29	<i>Chrysops</i> sp.	U. S. A.	XVII
TN-1 (Tabanid spiroplasma)	25	<i>Tabanus nigrovittatus</i>	U. S. A.	XVIII
HL-1 à HL-14	?	<i>Hybomitra lasiophthalma</i>	U. S. A.	IV

(<sup>1</sup>) J. M. BOVÉ, 1985. (<sup>2</sup>) R. F. WHITCOMB, 1985.

Dans le tableau III sont rassemblées les informations dont nous disposons concernant la caractérisation biochimique et sérologique de ces agents. Sur le plan écologique, beaucoup de travail reste à faire. Toutefois, on peut remarquer que la microscopie électronique a permis de les visualiser dans les tissus de l'hôte (hémostase, cellules adipeuses, cellules hypodermiques) et que les Tabanidae se nourrissent occasionnellement de nectar, tout comme le font les moustiques (14).

#### PERSPECTIVES EN PATHOLOGIE TROPICALE

Des spiroplasmes ont été isolés de diptères hématophages (Culicidae, Tabanidae) et de tiques (Ixodidae). Il y a donc au moins trois familles d'arthropodes hématophages concernées. Mais il est évident que l'on doit pouvoir en trouver également chez d'autres arthropodes d'importance médicale : glossines, simulies, phlébotomes, eulicoïdes et autres Ceratopogonidae, siphonaptères, etc. rencontrés sous les tropiques.

Des recherches en ce sens seraient justifiées par les considérations suivantes :

1. *Chez l'homme et chez l'animal*, le pouvoir pathogène naturel des spiroplasmes demeure hypothétique, mais il est vraisemblable.

Des inclusions ressemblant à des spiroplasmes, parfois étroitement associées à des particules de type viral, ont été mises en évidence par la microscopie électronique dans l'encéphale de plusieurs malades atteints de maladie de CREUTZFELD-JAKOB (3, 4, 20). Chez les rats nouveau-nés, les lésions vacuolaires induites dans l'encéphale par inoculation de *Sp. mirum* sont très voisines de celles que l'on observe dans la maladie de CREUTZFELD-JAKOB (5, 34).



Bien sûr, chez d'autres malades, il n'a pas été possible de déceler par culture du tissu cérébral la présence de spiroplasmes ou d'autres mycoplasmes, ni de mettre en évidence des anticorps sériques vis-à-vis de plusieurs souches de spiroplasmes (22). Toutefois, on remarquera que toutes les souches de spiroplasmes ne sont pas cultivables et qu'il n'est pas évident que les souches utilisées dans les tests sérologiques correspondaient forcément aux éléments hypothétiques observés dans le cerveau des malades. De plus, ces spiroplasmes pourraient ne pas jouer un rôle direct dans l'apparition des lésions mais seulement celui de véhicules de virus qui restent à caractériser.

2. *Au niveau des vecteurs animés*, la « compétence vectorielle » vis-à-vis des agents de maladies tropicales : virus, protozoaires, rickettsies ou helminthes, pourrait être plus ou moins affectée par la présence de spiroplasmes dans les tissus du vecteur. Cette éventualité a été évoquée à propos du complexe *Aedes sollicitans*/virus EEE (30).

3. *Les possibilités de lutte biologique antivectorielle* au moyen de spiroplasmes (13) dépendent en partie des résultats des recherches biologiques et écologiques conduites sur ces agents dans leur milieu naturel. Nous avons vu que vis-à-vis des Tabanidae, l'emploi de spiroplasmes est très sérieusement envisagé (14).

4. *Enfin, lors d'enquêtes de prévalence*, effectuées chez des vecteurs hématophages par examen direct (fond noir, contraste de phase) la confusion est possible et elle a déjà été faite, entre spiroplasmes et spirochètes (38).

#### CONCLUSIONS

Les spiroplasmes apparaissent extrêmement répandus dans la nature où ils peuvent se comporter soit en symbiontes, soit en redoutables phytopathogènes et/ou entomopathogènes.

Sur le plan médical, leur importance est vraisemblablement sous-estimée. En effet, on a mis en évidence chez plusieurs arthropodes hématophages appartenant aux familles des Ixodidae, des Culicidae et des Tabanidae. Pour le moment, ces observations proviennent uniquement des régions tempérées du Globe.

Les spiroplasmes sont suspectés, de plus, d'être pathogènes pour l'homme chez lequel ils pourraient intervenir dans l'étiologie d'affections dégénératives du système nerveux central, comme la maladie de CREUTZFELD-JACOB.

Il apparaît donc nécessaire d'étudier maintenant ces micro-organismes dans les régions tropicales, à la recherche d'une pathologie ignorée, mais surtout comme facteurs biologiques endogènes chez les vecteurs impliqués dans la transmission vectorielle de certaines endémies tropicales. L'analyse et la compréhension du retentissement global de l'infection spiroplasmique sur la vie de l'arthropode et sur sa compétence vectorielle, sont des préalables essentiels à leur utilisation éventuelle pour la lutte biologique contre certains vecteurs dangereux.



## REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié de l'aide de la Fondation Langlois, Rennes, et de l'I. N. S. E. R. M., Paris (CRE 85 80 08).

## BIBLIOGRAPHIE

1. ABALAIN-COLLOC (M. L.), LE GOFF (F.), ABALAIN (J. H.) & CHASTEL (C.). — Sensibilité à divers antibiotiques de six souches de spiroplasmes isolées de moustiques en France. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse, Paris, 5 décembre 1985.
2. ALIVIZATOS (A. S.), TOWNSEND (R.) & MARKHAM (P. G.). — Effects of infection with a spiroplasma virus on the symptoms produced by *Spiroplasma citri*. *Ann. Appl. Biol.*, 1982, **101**, 85-91.
3. BASTIAN (F. O.). — Spiroplasma-like inclusions in Creutzfeld-Jakob disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1979, **103**, 665-669.
4. BASTIAN (F. O.), HART (M. N.) & CANCELLA (P. A.). — Additional evidence of spiroplasma in Creutzfeld-Jakob disease. *Lancet*, 1981, **1**, 660.
5. BASTIAN (F. O.), PURNELL (D. M.) & TULLY (J. G.). — Neuropathology of spiroplasma infection in the rat brain. *Amer. J. Pathology*, 1984, **114**, 496-514.
6. BOVE (J. M.), SAGLIO (P.), TULLY (J. G.), FREUNDT (A. E.), LUNZ (Z.), PILLOT (J.) & TAYLOR-ROBINSON (D.). — Characterization of the mycoplasma-like organism associated with « stubborn » disease in citrus. *Ann. N. Y. Acad. Sciences*, 1973, **225**, 462-470.
7. BOVE (J. M.). — Les spiroplasmes, nouveaux mycoplasmes pathogènes des végétaux et des animaux. In « Les Maladies des Plantes », Troisièmes Journées Françaises d'Études et d'informations. *Extraits Acta*, 1982, 379-447.
8. BRINTON (L. P.) & BURGDORFER (W.). — Cellular and subcellular organisation of the 277 F agent, a spiroplasma from the rabbit tick. *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari; Ixodidae). *Intern. J. Syst. Bact.*, 1976, **26**, 554-560.
9. CHARBONNEAU (D. L.) & GHIORSE (W. C.). — Ultrastructure and location of cytoplasmic fibrils in *Spiroplasma floricola* OBMG. *Current Microbiol.*, 1984, **10**, 65-72.
10. CHASTEL (C.), GILOT (B.), LE GOFF (F.), GRUFFEY (R.) & ABALAIN-COLLOC (M. L.). — Isolement de spiroplasmes en France (Savoie, Alpes du Nord) à partir de moustiques du genre *Aedes*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1985, **300**, 262-266.
11. CLARK (H. F.). — Suckling mouse cataract agent. *J. Infect. Dis.*, 1964, **114**, 476-487.
12. CLARK (T. B.). — Honey bee spiroplasmiasis, a new problem for bee keepers. *Am. Bee J.*, 1978, **118**, 18-19.
13. CLARK (T. B.) & WHITCOMB (R. F.). — Pathogenicity of mollicutes for insects: possible use in biological control. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 1984, **135 A**, 141-150.
14. CLARK (T. B.), PETERSON (B. V.), WHITCOMB (R. F.), HENEGAR (R. B.), HACKETT (K. J.) & TULLY (J. G.). — Spiroplasmas in the Tabanidae. *Israel J. Med. Sci.*, 1984, **20**, 1002-1005.
15. COLE (R. M.), TULLY (J. G.), POPKIN (T. J.). — Virus-like particles in *Spiroplasma citri*. *Colloq. Inst. Nat. Santé Rech. Med.*, 1974, **33**, 125-132.
16. COLE (R. M.), MITCHELL (W. O.) & GARON (C. F.). — Spiroplasmaviruscitri 3: propagation, purification proteins and nucleic acid. *Science*, 1977, **198**, 1262-1263.



17. DAVIS (R. E.). — Spiroplasma associated with flowers of the tulip tree (*Liriodendron tulipifera* L.). *Can. J. Microbiol.*, 1978, **24**, 954-959.
18. DICKINSON (M. J.), TOWNSEND (R.) & CURSON (S. J.). — Characterization of a virus infecting the wall-free prokaryote *Spiroplasma citri*. *Virology*, 1984, **135**, 524-535.
19. DICKINSON (M. J.) & TOWNSEND (R.). — Characterization of the genome of a rod-shaped virus infecting *Spiroplasma citri*. *J. Gen. Virol.*, 1984, **65**, 1607-1610.
20. GRAY (A.), FRANCIS (R. J.) & SCHOLTZ (C. L.). — Spiroplasma and Creutzfeld-Jakob disease. *Lancet*, 1980, **2**, 152.
21. KRINSKY (W. L.). — Animal disease agents transmitted by horse flies and deer flies. *J. Med. Ent.*, 1976, **13**, 225-274.
22. LEACH (R. H.), MATTHEWS (W. B.) & WILL (R.). — Creutzfeld-Jakob disease; failure to detect spiroplasmas by cultivation and serological tests. *J. Neurol. Sci.*, 1983, **59**, 349-353.
23. MOUCHES (C.), BOVE (J. M.) & ALBISETTI (J.). — Pathogenicity of *Spiroplasma apis* and other spiroplasmas for honey-bees in South-Western France. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 1984, **135 A**, 151-155.
24. OISHI (K.), POULSON (D. F.) & WILLIAMSON (D. L.). — Virus-mediated change in clumping properties of *Drosophila* SR spiroplasmas. *Current Microbiol.*, 1984, **10**, 153-155.
25. OTA (T.), KAWABE (M.), OISHI (K.) & POULSON (D. F.). — Non-male-killing spiroplasmas in *Drosophila hydei*. *The Journal of Heredity*, 1979, **70**, 211-213.
26. PICKENS (E. G.), GERLOFF (R. K.) & BURGDORFER (W.). — Spirochete from the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard). *J. Bact.*, 1968, **95**, 291-299.
27. POULSON (D. F.) & SAKAGUCHI (B.). — Nature of « sex ratio » agent in *Drosophila*. *Science*, 1961, **133**, 1489-1490.
28. RENAUDIN (J.), PASCAREL (M. C.), GARNIER (M.), CARLE-JUNCA (P.) & BOVE (J. M.). — Spv 4, a new spiroplasma virus with circular, single-stranded DNA. *Ann. Virol.*, 1984, **135 E**, 343-361.
29. SAGLIO (P.), LHOSPITAL (M.), LAFLÈCHE (D.), DUPONT (G.), BOVE (J. M.), TULLY (J. G.) & FREUNDT (E. A.). — *Spiroplasma citri*, gen. and sp. n.: a mycoplasma-like organism associated with « stubborn-disease » of citrus. *Inter. J. System. Bact.*, 1973, **23**, 191-204.
30. SLAFT (M.) & CHEN (T. S.). — The isolation of a spiroplasma from *Aedes sollicitans* (Walker) in New Jersey. *J. Florida Anti-Mosquito Association*, 1982, **53**, 19-21.
31. STALHEIM (O. H. V.), RICHIE (A. E.) & WHITCOMB (R. F.). — Cultivation, serology, ultrastructure and virus-like particles of spiroplasma 277 F. *Current Microbiol.*, 1978, **1**, 365-370.
32. STILLER (D.), WHITCOMB (R. F.), COAN (M. E.) & TULLY (J. G.). — Direct isolation in cell-free medium of a spiroplasma from *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari; Ixodidae) in Maryland. *Current Microbiol.*, 1981, **5**, 339-342.
33. TOWNSEND (R.), ARCHER (D. B.) & PLASKITT (K. A.). — Purification and preliminary characterization of spiroplasma fibrils. *J. Bacteriol.*, 1980, **142**, 694-700.
34. TULLY (J. G.), WHITCOMB (R. F.), WILLIAMSON (D. L.) & CLARK (H. F.). — Suckling-mouse cataract agent is a helical wallfree prokaryote (*Spiroplasma*) pathogenic for vertebrates. *Nature*, 1976, **259**, 117-120.
35. TULLY (J. G.), ROSE (D. L.), YUNKER (C. E.), CORY (J.), WHITCOMB (R. F.) & WILLIAMSON (D. L.). — Helical mycoplasmas (spiroplasmas) from *Ixodes* ticks. *Science*, 1981, **212**, 1043-1044.
36. TULLY (J. G.), WHITCOMB (R. F.), ROSE (D. L.) & BOVE (J. M.). — *Spiroplasma mirum*, a new species from the rabbit tick (*Haemaphysalis leporispalustris*). *Int. J. System. Bact.*, 1982, **32**, 92-100.



37. TULLY (J. G.). — Composition and preparation of Mycoplasma culture media. International Organization for Mycoplasmaology. Mycoplasma Techniques Course (I. O. M.), Bordeaux, June 20-July 6, 1983, 99-109.
38. TULLY (J. G.), WHITCOMB (R. F.), ROSE (D. L.), WILLIAMSON (D. L.) & BOVE (J. M.). — Characterization and taxonomic status of tick spiroplasmas: a review. *Yale J. Biol. Med.*, 1983, **56**, 599-603.
39. TULLY (J. G.), BASTIAN (F. O.) & ROSE (D. L.). — Localization and persistence of spiroplasmas in an experimental brain infection in suckling rats. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 1984, **135 A**, III-III7.
40. VAGO (C.), GIANNOTTI (J.), MEYNADIER (G.), DEVAUCHELLE (G.) & DUTHOIT (J.-L.). — Recherches étiologiques sur la léthargie des coléoptères. *C. R. Acad. Sci. Paris Sud*, 1971, **273**, 260-262.
41. VIGNAULT (J. C.), BOVE (J. M.), SAILLAED (C.), VOGEL (R.), FARRO (A.), VENEGAS (L.), STEMMER (W.) *et al.* — Mise en culture de spiroplasmes à partir de matériel végétal et d'insectes provenant de pays circum-méditerranéens et du Proche Orient. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sér. D.*, 1980, **290**, 775-778.
42. WHITCOMB (R. F.). — The biology of spiroplasmas. *Ann. Rev. Entomol.*, 1981, **26**, 397-425.
43. WHITCOMB (R. F.). — The genus *Spiroplasma*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1980, **34**, 677-709.
44. WHITCOMB (R. F.), TULLY (J. G.) & WROBLEWSKI. — Spiralin: major membrane protein specific for subgroup I-1 spiroplasmas. *Current Microbiol.*, 1983, **9**, 7-12.
45. WILLIAMSON (D. L.). — Unusual fibrils from the spirochete-like sex ration organism. *J. Bactériol.*, 1974, **117**, 904-906.
46. WILLIAMSON (D. L.). — Studies on the pathogenicity of spiroplasmas for *Drosophila pseudoobscura*. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 1984, **135 A**, 157-162.