

Une souche de virus amaril isolée d'*Aedes (Stegomyia) opok* Corbet et Van Someren en République Centrafricaine*

Max GERMAIN **, Jean-Pierre HERVÉ **
Pierre SUREAU ***, Jean FABRE ***
Yves ROBIN ****, Bernard GEOFFROY **

avec la collaboration technique de
Mmes J. CORNET *** et M.F. VAUCHEZ ***

RÉSUMÉ.

Le virus de la fièvre jaune a été isolé d'un lot de 20 femelles d'*Aedes (Stegomyia) opok* Corbet et Van Someren capturées en octobre 1974 dans une galerie forestière du sud de la République Centrafricaine.

A. opok est ici impliqué pour la première fois dans un isolement de virus amaril. Etroitement apparenté à *A. africanus* au double plan morphologique et biologique, il apparaît désormais comme étant très probablement un vecteur potentiel selvatique de fièvre jaune.

ABSTRACT.

The yellow fever virus has been isolated from a pool of 20 females of *Aedes (Stegomyia) opok* Corbet and Van Someren caught, in October 1974, in a gallery forest, near the village of Bozo (5° 10' N., 18° 30' E.)

Il a été récemment établi qu'*Aedes (Stegomyia) opok* Corbet et Van Someren, 1962 ne voyait pas son aire de répartition restreinte au seul secteur de l'Afrique orientale (nord de l'Ouganda) dont il a été décrit, mais se trouvait représenté et souvent coexistait avec *A. (S.) africanus* (Theobald), dont il est morphologiquement très proche, en divers points des savanes soudanaises et soudanaises de l'Afrique centrale et de l'ouest. Il fut

in the relatively moist savanna zone, in the southern part of Centrafrican Republic.

This isolation takes place in a series of six yellow fever isolations carried out in Bangui by the Institut Pasteur and O.R.S.T.O.M. teams, from mosquitoes belonging to the *A. africanus* group and caught in the same gallery forest, from September to November 1974. A comprehensive epidemiological discussion of the results will be done in a subsequent paper.

A. opok, a species which is, on both the morphological and biological grounds, closely related to *A. africanus*, recently appeared to have a wider range in Africa than was at first supposed. This mosquito is now recorded from Uganda, Centrafrican Republic, Ivory Coast, Upper Volta and Mali. Here, for the first time, it is involved in an isolation of yellow fever virus. From now on, it appears to be very probably a selvatic potential vector of yellow fever.

à cette occasion remarqué que son voisinage taxonomique avec certains vecteurs potentiels majeurs de la fièvre jaune le désignait comme suspect d'entretenir les mêmes aptitudes qu'eux à la transmission amarile (Germain *et al.*, 1975).

Un fait vient aujourd'hui partiellement vérifier cette hypothèse, avec l'isolement et l'identification, réalisés à l'Institut Pasteur de Bangui, d'une souche de virus

* Travail ayant bénéficié d'une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.

** Centre O.R.S.T.O.M., Bangui, République Centrafricaine.

*** Institut Pasteur de Bangui, République Centrafricaine.

**** Institut Pasteur de Dakar, Sénégal.

de la fièvre jaune provenant d'un lot de femelles d'*A. opok* capturées dans la nature.

Cet isolement de virus amaril s'intercale dans une série de cinq autres, également obtenus à partir de femelles d'*Aedes* du groupe *africanus* récoltées à Bozo, dans le sud de la République Centrafricaine, en 1974. Communication provisoire put être donnée de ces derniers lors de la 10^e Conférence Technique de l'O.C.E. A.C., Yaoundé, avril 1975 (Sureau *et al*, 1975), tandis que l'identification de la souche dont il est ici question demeurait encore en suspens. Il sera fait, dans une note à suivre, un commentaire épidémiologique d'ensemble des six isollements ainsi réalisés.

1. ORIGINE ET CIRCONSTANCES DE RÉCOLTE DU MATÉRIEL.

Le présent isolement de virus amaril a été obtenu à partir d'un lot (ArB 5852) constitué de 20 femelles d'*A. opok* capturées alors qu'elles se présentaient pour piquer l'homme, au niveau du sol, dans une galerie forestière (galerie « A ») située à 5 km au sud-est du village de Bozo, le 24 octobre 1974, au cours de l'heure qui précède et des deux heures qui suivent le coucher du soleil (1).

Durant le même mois ont été capturées, dans les mêmes conditions, au cours de six séances de capture identiques, un nombre relativement considérable de femelles du groupe *A. africanus* (*A. africanus* : 18,2 femelles/heure/homme et *A. opok* : 8,3 femelles/heure/homme, en moyenne). A ce moment de l'année, le groupe *A. africanus* est donc abondamment représenté dans les captures et l'on remarquera qu'*A. opok* constitue approximativement le tiers de son effectif.

De l'ensemble de ce matériel, en grande partie destiné à des dissections, ont été distraits, pour tentatives d'isolement virologique, les éléments figurant au tableau I. Seul ArB 5852 s'est avéré virologiquement positif parmi les 100 lots ainsi constitués et réunissant un total de 2.075 femelles appartenant au groupe *A. africanus*.

L'Institut Pasteur de Bangui assure à Bozo une consultation médicale hebdomadaire. Aucun fait permettant de soupçonner un processus épidémique amaril n'est venu attirer l'attention au cours de cette surveillance épidémiologique, entreprise dès octobre 1973 et actuellement poursuivie.

Bozo (5°10' N., 18°30' E.) se trouve, une centaine de kilomètres au nord de Bangui, à l'entrée méridionale des

TABLEAU I. — Femelles du groupe *A. africanus* mises en lots virologiques à Bozo, au cours du mois d'octobre 1974.

Composition des lots	Nombre de femelles	Nombre de lots
<i>A. africanus</i>	1 068	50
<i>A. opok</i>	394	19
<i>A. africanus</i> + <i>A. opok</i>	613	31
TOTAL :	2 075	100

savanes semi-humides du domaine oubanguien (Sillans, 1958), que parcourt un riche réseau de galeries forestières denses. La pluviométrie y a été, en 1974, de l'ordre de 1 300 mm. La saison pluvieuse s'y est installée en avril et les dernières pluies y sont tombées pendant les premiers jours de novembre. La température moyenne, enregistrée sous le couvert de la galerie, à 2 m du sol, a été, en octobre, de 23,2 °C. Les moyennes mensuelles des températures maxima et minima ont été respectivement, au cours du même mois, de 27,5 °C et de 18,9 °C.

2. MÉTHODES.

Les femelles de moustiques, préalablement anesthésiées pour permettre une détermination évitant tout risque de confusion avec *A. africanus*, ont été constituées en lot monospécifique, puis transportées en azote liquide à l'Institut Pasteur de Bangui, où elles ont été conservées à -70 °C. (Congélateur Revco).

Les femelles trouvées gorgées sont systématiquement écartées de la mise en lot.

Pour la tentative d'isolement de virus, les moustiques ont été décongelés puis broyés, dans 6 ml. de milieu de Hanks contenant 0,75 % d'albumine bovine (fraction V), l'opération s'effectuant dans un mortier « Ten Broeck » refroidi. Après centrifugation à 2 500 t/mn pendant 10 minutes et à +4 °C, le surnageant a été inoculé à des souriceaux âgés de 24 heures, par voie mixte (intra-cérébrale 0,02 ml + sous-cutanée 0,01 ml + intra-péritonéale 0,01 ml). Pour les passages ultérieurs, un cerveau de souriceau malade ou paralysé a été broyé dans 2 ml de milieu de Hanks albuminé et le surnageant inoculé par voie intra-cérébrale (0,02 ml) à des souriceaux de 24 heures.

L'épreuve de filtration sur membrane Millipore de 220 nm, celle de sensibilité au chloroforme, la préparation de l'antigène saccharose-acétone, la recherche et le titrage du pouvoir hémagglutinant et les tests d'inhi-

(1) L'ensemble des personnes participant à ce travail de récolte était rigoureusement vacciné contre la fièvre jaune.

bition à l'hémagglutination ont été exécutés selon les techniques du laboratoire des Arbovirus de l'Institut Pasteur de Dakar (Barme *et al.*, 1969-70).

3. RÉSULTATS.

3.1. Isolement.

Le surnageant du broyat des 20 *Aedes* a été inoculé à deux portées de 6 souriceaux de 24 heures avec le produit pur, et à une portée avec le produit dilué au 1/5 en milieu de Hanks. Tous les souriceaux inoculés ont survécu sans présenter de manifestation pathologique jusqu'au 11^e jour. Au 12^e jour, un souriceau d'une des portées inoculées avec le produit pur a été trouvé malade et il a été sacrifié. Son cerveau a été récolté et conservé à - 70 °C. Le 2^e souriceau de cette portée était paralysé le lendemain, 13^e jour, et il est mort le 14^e jour. Les quatre autres étaient survivants bien portants au 15^e jour (fin de l'observation). Dans la seconde portée inoculée avec ce même produit pur, un souriceau a été trouvé paralysé au 13^e jour et il est mort le 14^e jour; les cinq autres ont survécu, bien portants, au 15^e jour. Dans la portée inoculée avec le surnageant du broyat de moustiques dilué au 1/5, un souriceau a été trouvé malade paralysé au 12^e jour et sacrifié : son cerveau récolté a servi au 1^{er} passage.

3.2. Passages.

Le surnageant du broyat de cerveau du souriceau récolté paralysé au 12^e jour de l'isolement a été inoculé à deux portées de souriceaux : l'une avec le produit pur, l'autre avec le produit dilué au 1/10. Dans les deux cas, tous les souriceaux étaient malades au 6^e jour; un souriceau de chaque portée a été sacrifié et les cerveaux récoltés pour faire le passage n° 2; tous les autres souriceaux sont morts le 7^e jour. Aux passages n° 2 et 3, la mortalité se maintient à 100 % et le temps moyen de survie se réduit à 5 jours.

3.3. Titrages et épreuves de sensibilité.

Ils ont été pratiqués sur le passage n° 4. Le titre sur souriceaux de 24 heures inoculés par voie intra-cérébrale (0,02 ml) est de $10^{8,1}/0,02$ ml. Le virus filtre bien sur Millipore de 220 nm : titre après filtration : $10^{7,5}$, soit baisse de 0,6 log. Il est sensible au chloroforme : titre après traitement : $10^{3,5}$, soit perte de titre de 4,6 log.

Ce virus est pathogène pour les souris sevrées de trois semaines inoculées par voie intra-cérébrale : titre

$10^{6,0}/0,03$ ml; mais non par voie intra-péritonéale (0,1 ml de dilution 10^{-1}) : six survivantes sur six.

3.4. Identification.

3.4.1. ANTIGÈNE SACCHAROSE-ACÉTONE.

L'antigène a été préparé avec des cerveaux de souriceaux du passage n° 5 (antigène n° 75.67). En microtechnique, il s'est montré hémagglutinant pour les hématies d'oie au pH de 6,0 à 6,8, avec un titre maximum de 1/2560 au pH optima de 6,4/6,6, à la température du laboratoire.

pH	5,7	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8
Titre HA	±	640	1280	2560	2560	80

3.4.2. INHIBITION DE L'HÉMAGGLUTINATION.

Cet antigène, dilué pour avoir un titre HA de 4 unités sous le volume de 0,025 ml., a été inhibé par les sérums immuns du groupe B des arbovirus aux titres suivants :

Immun sérum	titre I.H.A.
Fièvre jaune	160
West Nile	40
Koutango	40
Wesselsbron	20
Uganda S.	10
Bouboui	10
Ntaya (Bagaza ArB 209)	10
Usutu	0

Aucune inhibition de l'antigène n'a par ailleurs été observée avec les sérums immuns suivants : Bunyamwera, Ilesha, Ingwavuma, Zinga, Chikungunya, Semliki, Sindbis.

3.5. Lyophilisation et complément d'identification.

Au 5^e passage, la souche a été lyophilisée (26 juin 1975) et adressée au Centre Collaborateur O.M.S. de Référence et de Recherche pour les Arbovirus à l'Institut Pasteur de Dakar, qui a confirmé l'identité amarile de la souche en cause.

4. COMMENTAIRE ET CONCLUSION.

Cet isolement de virus amaril à partir d'*A. opok* intervient dans le déroulement d'un programme d'études intéressant l'épidémiologie de la fièvre jaune selvatique inauguré à Bozo en octobre 1973.

Il fait suite à un premier isolement de même nature réalisé à partir d'un lot d'*A. africanus* capturés en septembre 1974 et quatre isollements identiques devaient lui succéder, en novembre de la même année, à partir de lots mixtes associant les deux espèces d'*Aedes*. Nous reviendrons, dans une prochaine note, sur le fait que cet ensemble d'isollements constitue la première mise en évidence directe du virus amaril en République Centrafricaine et démontre l'existence, dans les savanes semi-humides de cette région de l'Afrique, d'une circulation selvatique de la fièvre jaune.

Le principal intérêt de cet isolement est d'impliquer pour la première fois *A. opok* dans la transmission de la fièvre jaune, en démontrant qu'il peut être trouvé infesté dans la nature. Qu'à l'instar d'*A. africanus* et d'*A. luteocephalus* (Newstead) (Lee et Moore, 1972), *A. opok* constitue un vecteur selvatique effectif, cela ne suscite en vérité que peu de doutes, étant donnée la probable appartenance des trois espèces à un même groupe phylogénétique, comme le suggèrent les similitudes morphologiques et bioécologiques qu'elles entretiennent. On relèvera à cet égard le fait que le matériel entomologique ayant permis cet isolement provient d'une capture effectuée en fin de saison des pluies (fin octobre), à un moment de l'année dont les observations bioécologiques déjà réalisées à Bozo sur *A. opok* permettent de prévoir qu'il est favorable à la transmission par cette espèce, de par l'existence chez elle (comme chez *A. africanus*) d'un taux de survie élevé (Hervé *et al.*, en préparation).

Les considérations qui précèdent font qu'*A. opok* apparaît désormais comme un vecteur potentiel extrêmement probable de la fièvre jaune. Il conviendrait cependant d'en compléter la preuve en réalisant avec lui la transmission expérimentale du virus amaril.

L'aire de répartition d'*A. opok* demeure à préciser quant à son étendue et son type (continu ou discontinu). On sait d'ores et déjà qu'elle concerne à la fois l'Ouganda, la République Centrafricaine, la Côte d'Ivoire, la Haute-Volta et le Mali (Germain *et al.*, 1975). S'il semble que les blocs forestiers humides lui soient fermés, il n'en apparaît pas moins qu'il s'agit là d'une distribution vaste. Des études en cours à Bozo, il ressort que les caractères bioécologiques de l'espèce (rythme circadien d'activité, variations saisonnières, taux quotidien de survie) l'apparentent étroitement à *A. africanus*. Son anthropophilie, comme il a été vu plus haut, se traduit, à certains moments de l'année, par des taux d'agressivité non négligeables, et il est probable qu'elle est, plus largement, primatophile. Sa dendrophilie mar-

quée (Corbet et Van Someren, 1961) la désigne, au moins dans les galeries forestières de certaines savanes semi-humides, comme susceptibles d'intervenir à l'égal de ce dernier, dans la transmission amarile de singe à singe. L'ensemble de ces caractères de comportement fait qu'*Aedes opok* contribue fort vraisemblablement pour une part importante à la circulation selvatique du virus amaril et à son émergence en pathologie humaine (« fièvre jaune de jungle »), en des régions péri-forestières (celle de Bozo en est un exemple) où le représentent, en saison humide et début de saison sèche, des populations relativement denses.

Manuscrit reçu au S.C.D. de l'O.R.S.T.O.M. le 30 janvier 1976

BIBLIOGRAPHIE

- BARME (M.), BRES (P.), HERY (G.) et ROBIN (Y.), 1969-1970. — Techniques des laboratoires des virus et des arbovirus. In *Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar*, 163-203.
- CORBET (P.S.) et VAN SOMEREN (E.C.C.), 1961. — *Aedes (Stegomyia) opok* sp. nov., a new species of mosquito from Uganda. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 56, 1 : 73-77.
- GERMAIN (M.), CORDELLIER (R.), HERVÉ (J.P.), GEOFFROY (B.), BOUCHITE (B.), RAVAONJANAHARY (C.) et RICKENBACH (A.), 1975. — Présence en Afrique centrale et occidentale d'*Aedes (Stegomyia) opok* Corbet et Van Someren. Diagnose différentielle de l'espèce. *Cah. O.R.S.T.O.M. Sér. Ent. méd. Parasitol.*, XIII, 1 : 41-46.
- GERMAIN (M.), HERVÉ (J.P.) et GEOFFROY (B.), 1974. — Evaluation de la durée du cycle trophogonique d'*Aedes africanus* (Theobald), vecteur potentiel de fièvre jaune, dans une galerie forestière du sud de la République Centrafricaine. *Cah. O.R.S.T.O.M., Sér. Ent. méd. Parasitol.*, XII, 2 : 127-133.
- LEE (V.H.) et MOORE (D.L.), 1972. — Vector of the 1969 yellow fever epidemic on the Jos plateau, Nigeria. *Bull. Org. mond. Santé*, 46 : 669-673.
- SILLANS (R.), 1958. — Les savanes de l'Afrique centrale. *Encycl. biol.*, IV, 423 pp., Lechevalier, Paris.
- SUREAU (P.), GERMAIN (M.), FABRE (J.), HERVÉ (J.P.) et GEOFFROY (B.), 1975. — Fièvre jaune selvatique en République Centrafricaine. *Rapport final de la dixième Conférence technique de l'O.C.E.A.C.*, II : 369-374.