

**LE VIRUS M'POKO (BA 365)
NOUVEAU PROTOTYPE D'ARBOVIRUS ISOLÉ
EN RÉPUBLIQUE CENTRAFRICAINE (*)**

par J.-P. DIGOUTTE, F.-X. PAJOT, BRIAN E. HENDERSON, P. BRÈS
et P. NGUYEN TRUNG LUONG

(avec la collaboration technique de P. DIEDERICH)

(Institut Pasteur de Bangui - Office de la Recherche Scientifique)

leurs vecteurs, les captures de moustiques et les prélèvements de sérums ont été multipliés. Ceci nous a conduit à l'isolement de plusieurs souches de virus déjà cataloguées, puis de quatre souches d'un même virus lié à Yaba I mais possédant cependant des différences antigéniques qui permettent de le considérer comme différent des virus connus actuellement. Il est présenté sous l'appellation de M'Poko.

La première souche, considérée comme prototype, a été isolée de *Culex* divers capturés le 21 novembre 1966 à 12 km au sud de Bangui au lieu dit « Pont de la M'Poko », à la limite nord de la forêt équatoriale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1° MOUSTIQUES.

En 1966, les captures de moustiques étaient réalisées par prélèvement direct au tube de verre. Les femelles venaient se poser sur l'homme servant d'appât et cette récolte était effectuée par chacun des captureurs sur lui-même. Les *Culex* vecteurs de BA 365 furent pris au cours d'une capture de jour de 12 heures. La souche fut isolée d'un lot de 116 *Culex* divers constitués d'individus appartenant en majorité à l'une des trois espèces suivantes : *Culex Culex pruina* Theobald, *Culex Culex weschei* Edwards et *Culex Culex perfuscus* Edwards.

2° INOCULATIONS.

Les inoculations étaient pratiquées chez des souriceaux que nous considérons comme nouveau-nés du jour, c'est-à-dire nés entre la veille treize heures et le matin de l'inoculation. Les moustiques étaient broyés dans un mortier de porcelaine avec 6 ml de liquide de Hanks albuminé additionné d'antibiotiques (pénicilline et streptomycine). Trois portées ont été inoculées, deux avec le produit pur, une avec le produit dilué à 1/5, par voie mixte intrapéritonéale (0,02 ml) et intracrânienne (0,02 ml).

Les passages suivants ont été inoculés par voie intracrânienne seulement, un cerveau étant broyé dans 2 ml de diluant.

Les réislements ont été tentés par inoculation, dans des conditions techniques identiques à celles de l'isolement, du broyat de moustiques conservé à -65°C .

3° MÉTHODES D'IDENTIFICATION.

Nous avons recherché la sensibilité des souches au désoxycholate de soude selon la méthode originale de Theiler [41] et la technique de Chastel [2]. Les tests à l'éther ont été conduits selon la méthode de Sunaga [40].

Les réactions d'inhibition de l'hémagglutination ont été mises en œuvre en plaque O.M.S. selon la méthode de Clarke et Casals [3] avec des antigènes préparés au saccharose acétone ou au fréon 113 [8]. Les mêmes antigènes préparés au saccharose acétone ont été utilisés dans les réactions de fixation du complément suivant la méthode L. B. C. F. [4] adaptée par Sever [9] à la microtechnique sur plaque.

Pour les identifications, les techniques de séro-neutralisation étaient exécutées en mettant en présence pendant une heure au bain-marie à 37°C le sérum à étudier et le virus en dilutions successives de raison 10.

Dans les enquêtes sérologiques, nous employions la technique de Causey [4] utilisant 0,1 ml de virus en dilution progressive, 0,1 ml de sérum à tester et 0,2 ml de sérum frais de cobaye, maintenus pendant une heure au bain-marie

à 37° C avant de les inoculer au souriceau par voie intracérébrale. Un sérum de souris était utilisé comme témoin négatif.

Les identifications ont été menées, soit avec des sérums hyperimmuns de souris, récoltés après inoculation intrapéritonéale de suspension de cerveau de souriceaux infectés, soit avec des liquides d'ascite obtenus avec la souche de Sarcome T 180.

RÉSULTATS

I. — HISTORIQUE DES PASSAGES

Sur les 2 portées inoculées avec le produit non dilué, 2 souriceaux disparurent, au troisième jour et au septième jour, et 2 furent prélevés au huitième jour, présentant une légère parésie du train postérieur. Les autres restaient indemnes durant les vingt et un jours d'observation ainsi que tous

de la souche homologue eut un titre optimum de 1/64, le titre maximum du sérum étant identique.

Dans un premier temps, l'antigène dilué à 1/16 a été éprouvé par l'un d'entre nous (P. B.) contre 47 arbovirus différents isolés en Afrique. Les résultats ont été négatifs avec les sérums hyperimmuns suivants :

Groupe A : Chikungunya, O'Nyong-nyong, Middelburg, virus de la Forêt de Semliki, Sindbis, Ndumu.

Groupe B : Ntaya, Wesselsbronn, Usutu, West-Nile, Dakar Chauve-Souris Uganda S, Fièvre Jaune (souche neurotrope française), Zika, Spondweni, Bukalasa Bat, Entebbe Bat.

Groupe Bunyamwera : Bunyamwera, Germiston, Ilesha, Olifantsvlei, Shokwe.

Groupe Bwamba : Bwamba, Pongola.

Groupe Simbu : Simbu, Ingwavuma, Yaba 7.

Non groupés : vecteurs Tiques, Quaranfil, Chenuda, Nyamamini, Thogoto, Wad Medani, Bandia.

Autres vecteurs, Lebombo, Lumbo, Mossuril, Nyando, Tanga, Tataguine, Witwatersrand, Lagos Bat.

Non classés : IPD/RV 318, IPD/RV 401, IPD/SH 763, YM 31, YM 176, YM 50.

Adressée au Centre International de Référence (Dr R. E. Shope), cette souche a été testée en fixation du complément avec Yaba I et les virus du groupe Turlock. Les résultats sont donnés dans le tableau I (Shope R. E., communication personnelle).

Cette souche a été reprise en réaction de séro-neutralisation à l'East African Research Institute à Entebbe par l'un d'entre nous (B. E. A.) et

TABLEAU I. — Réaction de fixation du complément avec : BA 365, Turlock, Umbre, Yaba I (Yaru).

ANTIGÈNES	SÉRUMS LIQUIDES D'ASCITE			
	Turlock Liquide d'ascite	Umbre Sérum	Yaba I Sérum	BA. 365 Liquide d'ascite
Turlock	64/256 (*)	64/64	16/64	4/256
Umbre	8/16	128/64	8/4	2/4
Yaba I	8/64	16/64	256/256	16/1024
BA 365	4/64	16/64	256/64	16/256
Cerveau normal de souris ceau	0/0	0/0	0/0	0/0

(*) Titre du sérum/antigène.

De même que la souche prototype, BA 451 et BA 656 furent isolées de lots de *Culex* divers constitués en majorité d'individus des trois espèces citées plus haut ; par contre, BA 1111 fut isolé d'un lot monospécifique de *Culex Culex perfuscus*. Les caractéristiques d'isolement des trois virus sont données dans le tableau III.

Les trois souches ont été comparées en fixation du complément et en séro-neutralisation et ont donné des réactions croisées dans les deux sens ; elles sont identiques entre elles et identiques au prototype, le virus M'Poko.

VI. — ENQUÊTE SÉROLOGIQUE

Nous avons recherché les anticorps neutralisant le virus M'Poko dans des sérums prélevés chez des personnes vivant dans un village proche du lieu où furent capturés les moustiques vecteurs de la souche prototype. Quarante-trois sérums ont été examinés en séro-neutralisation quantitative : les résultats sont les suivants :

Indice de neutralisation	2 à 2,5	1,5 à 2	1 à 1,5	< 1
Nombre de sérums	1	1	9	32
Tranche d'âge :				
5 à 9 ans		1	4	5
10 à 14 ans			1	10
15 à 19 ans	1		2	8
20 ans et au-dessus			2	9

Par ailleurs, de 1966 à 1968, nous avons inclus cet anticorps dans la gamme

sur quelques îles de l'Oubangui. Les récoltes ont eu lieu de jour sur appât humain mais quelques femelles ont aussi été prises lors de captures de nuit, ce qui a été également constaté par Van Someren et coll. [12] sur la côte du Kenya, Hamon [6] en Haute-Volta et Hamon et coll. [5] au Mali.

Le tableau des caractéristiques d'isolement montre bien que pour cette dernière souche il ne peut s'agir d'une contamination à partir des précédentes car il lui a fallu deux passages pour parvenir au temps moyen de survie de la souche prototype.

Le cycle écologique de ce virus paraît se dérouler dans cette mosaïque forêt-savane proche de Bangui où la forêt équatoriale a été savanisée par plaques à la suite de l'extension des cultures. Il n'a jamais été isolé au cours de nos prospections en savane arborée malgré les très nombreuses captures qui y ont été effectuées; 1 520 lots de moustique ont été inoculés en provenance de cette zone.

Son rôle en pathologie humaine paraît minime et l'homme intervient sans doute à titre tout à fait exceptionnel dans le cycle. Le pourcentage d'anticorps neutralisant est faible. Aucune conversion n'a été mise en évidence chez des malades suspects d'arboviroses. Aucune souche n'a été isolée de 611 sérums inoculés de 1966 à 1968.

L'originalité du virus M'Poko réside dans sa double parenté avec le groupe Turlock et le groupe Simbu. En fixation du complément (tableau I), il est très proche de Yaba I, et, comme Yaba I, il présente des réactions croisées avec Turlock et Umbre. Cette relation avec Yaba I est très étroite puisque les deux immunsérums ont des titres identiques en présence des deux antigènes. En réaction de séro-neutralisation (tableau II) par contre, les deux virus Yaba I et M'Poko sont différents; en effet le sérum Yaba I neutralise les deux virus mais le sérum M'Poko ne neutralise pas Yaba I. Le sérum Ingwavuma du groupe Simbu neutralise Yaba I mais ne neutralise pas M'Poko. Ainsi M'Poko, s'il appartient au groupe Turlock en fixation du complément, a malgré tout quelques parentés avec le groupe Simbu et peut être considéré ainsi que Yaba I d'ailleurs, comme un lien entre les deux groupes.

Le même virus a été isolé de deux autres lots de *Culex* non déterminés, puis d'un lot de *Culex perfuscus*. Son cycle écologique paraît se dérouler dans la mosaïque forêt-savane proche de Bangui mais l'incidence humaine semble faible.

*
*
*

Mots clés : Arbovirus. Virus M'Poko. Epidémiologie des arbovirus.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CAUSEY (O. R.), CAUSEY (C. E.), MAROJA (O. M.) and MACEDO (D. G.). The isolation of arthropod-borne viruses, including members of two hitherto underscribed serological groups in the Amazon regions of Brazil. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1961, 10, 227.
- [2] CHASTEL in Schier : Diagnostic des maladies à virus. Flammarion édit., 1964.
- [3] CLARKE (J.) and CASALS (D. H.). Techniques for hemagglutination and the hemagglutination inhibition with arthropod-borne virus. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1958, 7, 561.
- [4] Diagnostic procedures for viral and Rickettsial diseases. *Amer. publ. Health Ass.*, New York, 1964, 3rd edit.
- [5] HAMON (J.), EYRAUD (M.), DIALLO (B.), DYEMKOUA (A.), BAILLY-CHOUMARA (H.) et OUANOU (S.). Les moustiques de la République du Mali (Diptères, Culicidés). *Ann. Soc. Ent. France*, 1968, 130, 95.
- [6] HAMON (J.). Les moustiques anthropophiles de la région de Bobo-Dioulasso (République de Haute-Volta). *Ann. Soc. Ent. France*, 1963, 132, 85.
- [7] HANNOUN (C.), ASSO (J.) et ARDOIN (P.). Mutants à petites plages du virus Sindbis. *Ann. Inst. Pasteur*, 1964, 107, 598.
- [8] PORTERFIELD (J.) and ROWE (C.). Hemagglutination with arthropod-borne viruses and its inhibition by certain phospholipids. *Virology*, 1960, 11, 765.
- [9] SEVER (J.). Application of microtechnique to viral serological investigation. *Immunology*, 1962, 88, 320.
- [10] SUNAGA (H.), TAYLOR (R.) and HENDERSON (J. R.). Comparative sensibility of viruses to treatment with diethyl ether and sodium desoxycholate. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1960, 9, 419.
- [11] THEILER (M.). Action of sodium desoxycholate on arthropod-borne viruses. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1957, 96, 380.
- [12] VAN SOMEREN (E. C. C.), HEISCH (R. B.) and FURONG (M.). Observations on the behaviour of some mosquitoes in the Kenya coast. *Bull. Ent. Res.*, 1958, 49, 643.

EXTRAIT DES
ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

(Octobre 1970, tome 119.)

**LE VIRUS M'POKO (BA 365)
NOUVEAU PROTOTYPE D'ARBOVIRUS ISOLÉ
EN RÉPUBLIQUE CENTRAFRICAINE**

PAR

**J.-P. DIGOUTTE, F.-X. PAJOT, BRIAN E. HENDERSON, P. BRÈS
et P.-NGUYEN-TRUNG LUONG**

(avec la collaboration technique de P. DIEDERICH)

18 AOUT 1971

MASSON ET C^{IE}, EDITEURS

Libraires de l'Académie de Médecine

120, Boulevard Saint-Germain

PARIS

S. T. O. M.

Collection de Référence

4925

Ent.
S. T.