

ENTRETIEN HIVERNOVERNAL DU VIRUS MYXOMATEUX DANS LES TERRIERS

Myxomatose d'inoculation par la puce du lapin et myxomatose de foussement

par L. JOUBERT *, A. CHIPPAUX **, J. MOUCHET ***
et J. OUDAR *

Une recherche éco-épidémiologique systématique régionale sur la myxomatose avait, en 1967, éclairé, en période estivo-automnale d'épidémiologie, le rôle prééminent joué, en Camargue, par les moustiques *Aedes caspius*, *Aedes detritus*, *Anopheles* du groupe *maculipennis* et *Culex modestus* (JOUBERT et al, 8). Il se vérifiait indirectement par la concordance entre la saison du pic épidémiologique majeur et celle de la pullulation maximale des insectes vecteurs, par la contamination myxomateuse régulière de lapins sentinelles n'ayant pu être infectés que par des vecteurs ailés, par la disparition des flambées épidémiologiques dans les régions désinsectisées du Bas-Languedoc, écologiquement très voisines.

En revanche, l'entretien hivernovernal de la myxomatose épidémiologique en microfoyers invétérés permanents demeurerait sans solution et, par ailleurs, délicat, car les investigations se heurtent ici à l'extrême raréfaction statistique du virus naturel.

Trois voies de recherche s'offraient :

- persistance du virus au sein du vecteur épidémiologique, le moustique, le rôle des tiques se révélant statistiquement effacé, en raison

* Institut National de Recherches Agronomiques. Laboratoire de Maladies Contagieuses et de Microbiologie. Ecole Vétérinaire de Lyon.

** Ecole d'Application et Centre d'Instruction et de Recherches du Service de Santé des Troupes de Marine, Le Pharo, Marseille.

*** Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer. Service d'Entomologie médicale, Bondy.

de leur difficulté à transmettre mécaniquement le virus après la mue ;

- persistance du virus chez le *lapin* lui-même, en particulier dans les lésions nodulaires de myxomatose spontanément atténuée et autocurables, quoique d'évolution relativement brève (1 mois au maximum) et sources virulentes plus faibles que les lésions exsudatives ;

- persistance du virus dans les *terriers* « morts », dépeuplés par la maladie, mais réhabités au printemps par des lapins réceptifs, soit au sein de la puce du lapin, soit dans le sol hypogée, relativement isotherme.

Une enquête hivernale menée conjointement en Camargue d'une part, dans la région lyonnaise d'autre part, incite à retenir, en première approximation et sous réserve de vérifications ultérieures, la dernière hypothèse au détriment des deux premières.

Elle était motivée :

- en Camargue *, par la connaissance de l'inventaire biotopique et faunistique, effectué de 1954 à 1967, par l'ORSTOM au cours soit de missions d'enseignement, soit de missions spéciales visant l'étude des Arbovirus, et plus particulièrement, par celle des espèces régionales de moustiques vectrices de la myxomatose épizootique estivo-automnale (RAGEAU et MOUCHET, 15) ;

- à Lyon, dans le Parc Zoologique de Parilly *, par la succession d'une épizootie estivale classique, puis de la diminution considérable des lapins et la « mort » de nombreux terriers, enfin de l'apparition insolite d'une myxomatose hivernale, qu'il paraissait opportun d'étudier.

I. — MATÉRIEL, MÉTHODES ET TECHNIQUES

A partir du matériel d'étude récolté sur place, les méthodes de recherches furent entomologiques, virologiques et immunologiques.

* Notre vive gratitude est acquise à M. le Directeur de la Réserve Zoologique et Botanique de Camargue et à ses collaborateurs, à Monsieur COQUET, Ingénieur en Chef des Eaux et Forêts et au Colonel CIMETIÈRE, Président de la Fédération des Chasseurs du Rhône, qui nous apportèrent une aide précieuse et aimable, ainsi que de nombreux propriétaires, régisseurs et Présidents de Sociétés de Chasse, en particulier M. CHAMBARÉTAUD (Rancé, Ain), et M. RICHARD-PONTVERT (Izeaux, Isère).

1. Entomologie.

Les *Moustiques* furent capturés au tube aspirateur dans leurs rares refuges d'hiver (grottes, citernes, fenils, caves). Les *Tiques*, *Ixodes festai* (Rondelli) surtout, et la Puce du lapin, *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) furent recherchées :

- sur les cadavres de leurs hôtes, tués à la chasse au chien courant ou après furetage des terriers (tiques), dans le fond de sacs de plastique fermés, après refroidissement du cadavre (puces) ;

- sur des lapins domestiques-pièges épucés lâchés dans les terriers abandonnés, puis recapturés et sur lesquels étaient prélevés les ectoparasites ;

- dans le sol même des terriers, obtenu à différents étages de la garenne par râclage à partir d'une cheminée ou d'un forage, à l'aide d'une râclette du type CHIRANOVITZ (6). Le réchauffement de la terre enfermée en sacs de plastique a restitué une certaine vitalité aux parasites, de capture dès lors aisée.

Les moustiques furent conservés en lots homogènes dans des boîtes de carton, recouvertes de gaze fine percée d'une ouverture obturable par un bourdonnet de coton, puis congelés après détermination ; les tiques et les puces, dans de simples flacons de verre, bouchés par un tampon de coton et contenant un tortillon de papier filtre en tant que support.

2. Virologie.

- Les lapins domestiques révélateurs de virus myxomateux étaient des sujets de race commune, de 2 kg environ, de négativité sérologique spécifique initialement contrôlée, et en provenance d'élevages ni infectés ni vaccinés. Les inoculations se déroulèrent en cages isolées, en lazaret désinsectisé et désinfecté régulièrement. Elles furent opérées sur une surface dorso-lombaire préalablement épilée de 20 cm × 12 cm, en 4 points séparés, sous volume de 0,1 ml et par voie intradermique.

- Les prélèvements étaient de trois ordres :

- broyats d'arthropodes suspects de constituer des réservoirs ou des vecteurs ;

- lésions séquellaires (croûtes, cicatrices) de myxomes nodulaires non exsudatifs ;

- terre de terrier émulsionnée dans de l'eau physiologique stérile et centrifugée à faible vitesse (surnageant).

● L'observation quotidienne des lapins inoculés a autorisé l'observation de l'évolution des myxomes d'inoculation mesurant 0,5 à 3 cm de diamètre et de la maladie, mortelle en 10 à 12 jours.

En outre, l'inoculation a été réalisée par des puces (*Spilopsyllus cuniculi*) et des tiques (*Ixodes festai*, *Rhipicephalus pusillus* et *sanguineus*) récoltées dans les terriers et posées sur des lapins domestiques réceptifs.

3. Immunologie.

Les lapins de garenne, tués à la chasse ou capturés vivants dans des bourses après furetage, subirent isolément ou successivement :

— soit une ponction cardiaque et leur sérum soumis aux tests de la sérologie spécifique (conglutination) ;

— soit une recharge de virus myxomateux, destinée à vérifier leur immunité innée naturelle ou acquise spontanément, à obtenir des sérums hyperimmuns antimyxomateux purs, à vérifier leur taux en anticorps myxomateux et fibromateux et à révéler une allergie spécifique du type Pourquier-von Pirquet, classique dans le groupe viral des Poxes.

II. — RÉSULTATS

1. Echec de l'isolement du virus myxomateux sur Moustiques en période hivernale.

En Camargue, les insectes, vecteurs en période épizootique, ne paraissent pas supporter la responsabilité de l'entretien hivernal du virus, en raison :

— de l'exclusion certaine des *Aedes*, non hivernants, et de l'exclusion probable de *Culex pipiens* comme conservateur hivernal car, bien que capable d'entretenir le virus pendant plus de trois mois (RIoux *et al*, 16), cette espèce est représentée en Camargue par une forme généralement ornithophile, qui n'attaque sans doute que fort peu le lapin et qui ne prend pas en général de repas sanguin avant d'entrer en hibernation ;

— de l'incertitude du rôle tenu par les *Anophèles* du groupe *maculipennis* qui, bien que capables en Angleterre de demeurer infectants pendant près de 200 jours et de se nourrir en hiver (ANDREWES et MUIRHEAD-THOMSON, 1), n'ont pas révélé de virus dans les lots capturés fin novembre en Camargue, dans un clapier où avait sévi la myxomatose, un mois plus tôt ; par ailleurs, un

seul Anophèle fut capturé en Camargue, à l'entrée des terriers, sur 12 pièges ;

— enfin de notre ignorance de la biologie de *Culex modestus*, hibernant dans les roseaux* et hébergeant semble-t-il un virus myxomateux atténué (8).

De tels résultats, négatifs et partiels, appellent des investigations nouvelles. Dans la région lyonnaise, aucune enquête sur les moustiques d'hiver n'a pu encore être réalisée et notre ignorance demeure totale dans ce domaine.

Mais, dans cette région, l'intervention de vecteurs ailés explique l'infection estivo-automnale transitoire, certaines années, de régions peuplées de lapins sans terriers, en raison de la dureté d'un sol rocailleux.

2. *Echec de l'isolement du virus myxomateux sur les lésions spécifiques portées par les lapins convalescents.*

A treize reprises différentes, l'inoculation a été tentée à partir de lésions myxomateuses nodulaires, atténuées, non exsudatives, et parvenues au stade de la crustration, de la décrustation, de l'alopecie ou de la cicatrice en voie d'épidermisation. En aucun cas, un virus myxomateux n'a pu être isolé et, du reste, la guérison définitive intervient trop rapidement (15 à 25 jours) pour que, statistiquement, un taux de virus suffisant puisse franchir, dans la nature, la longue période de l'hiver, permettant sa résurgence au printemps et l'amorçage d'une nouvelle épizootie à transmission vectorielle. En outre, les sujets convalescents ou guéris, porteurs de telles lésions régressives et guérissables, montrent une forte immunité soit sérologique, soit à l'inoculation d'épreuve. Cette dernière pratique a permis d'ailleurs :

— d'une part, d'obtenir des sérums antimyxomateux de très haut titre par hyperimmunisation à l'aide de virus intégral ;

— d'autre part, d'étudier les réactions allergiques de réinoculation, de type Pourquier-von Pirquet, classiques dans le groupe des Poxvirus (Joubert *et al.*, 9).

3. *Réussite de l'isolement du virus myxomateux dans les terriers soit à partir de la terre, soit à partir de puces quiescentes.*

En revanche, soit en Camargue (2 fois), soit à Lyon-Parilly (5 fois), des prélèvements de terre opérés dans des terriers aban-

* MOUCHET (J.) et coll. Travail en préparation.

donnés depuis au moins 10 semaines (1^{er} décembre au 15 février environ) ont livré :

- soit un virus myxomateux, sans support visible, à l'inoculation directe de la terre prélevée dans des terriers abandonnés depuis au moins 2 mois (2 souches isolées à partir de 9 prélèvements de terre) ;

- soit des puces quiescentes, dont le broyat se révéla, à l'inoculation, riche en virus myxomateux (3 souches isolées à partir de 5 lots de puces capturées dans 5 des 9 prélèvements de terre et renfermant respectivement 7, 3, 13, 4 et 5 puces).

Des recherches plus poussées sont nécessaires, dans diverses régions, pour confirmer ces premiers résultats, qui appellent plusieurs commentaires.

1) La conservation d'un virus pleinement virulent dans la *puce*, déjà décrit en Ecosse par BROWN *et al* (4), conditionne peut-être exclusivement l'entretien hivernal du virus dans les terriers abandonnés et la terre ne doit sa virulence qu'à la suite de la mort et de la destruction de l'arthropode. Les conditions thermiques de ces habitations hypogées sont, même au cœur de l'hiver, compatibles avec la conservation de la puce et du virus qu'elle héberge (CHAPPLE et LEWIS, 5).

2) Le rôle semblable des tiques — en particulier de *Ixodes festai* — paraît en revanche effacé ou nul, en raison de leur très inégale répartition géographique et de l'impossibilité pour le virus ingéré de réinfecter les pièces buccales après la mue, du fait du rôle purement mécanique de l'arthropode. D'ailleurs, BLANC et ASCIONE (3) n'ont pas pu faire transmettre la maladie par des tiques adultes infectées au stade nymphal bien que le broyat gardât sa virulence.

3) La transmission du virus myxomateux chez les vecteurs (moustiques et puces) est exclusivement horizontale et mécanique par persistance du virus sur les pièces buccales, sans cycle biologique, ni transmission verticale à la descendance (FENNER *et al*, 5, LOCKLEY, 10, BLANC et ASCIONE, 3, MUIRHEAD-THOMSON, 14). Il est possible que ce mode d'entretien et de contagion entraîne des évolutions épizootiologiques différentes à partir de la transmission par moustiques, avec sélection de souches virales atténuées (prolongation de la recharge du vecteur sur des lésions nodulaires auto-curables) d'une part, d'autre part à partir de la transmission par les puces, avec sélection de souches hypervirulentes (passages accé-

lérés des puces infectées sur les lapins vierges après mort des lapins infectés, ANDREWS *et al.*, 2 ; MEAD-BRIGGS, 11).

4) L'entretien hivernal terricole du virus myxomateux rendrait intelligible la non-contamination de certaines régions à sol pierreux, non forable par le lapin, qui en est réduit à giter à la manière du lièvre.

5) L'existence du virus myxomateux dans le sol du terrier « mort » laisse supposer deux processus différents, non réciproquement exclusifs, à la base de l'infection vernale de lapins réceptifs et de la pérennité de la maladie :

- soit *indirectement*, la *piqûre de puce infectée (myxomatose d'inoculation)* ;

- soit *directement*, la contamination du lapin par la *terre virulente elle-même*, lors du creusement par l'animal de nouvelles galeries, occasionnant la souillure de la conjonctive ou des érosions céphaliques (*myxomatose de fouissement*).

Le schéma épidémiologique rappellerait ici celui proposé pour la peste humaine asiatique à mérion (MOLLARET *et al.*, 12).

Une vérification consisterait à démontrer expérimentalement la conservation du virus myxomateux en terriers artificiels-tombeaux (MOLLARET, 19) et à déclencher la myxomatose en y réintroduisant des lapins neufs. Ainsi, obtiendrait-on la certitude d'*une pérennité interépizootique du virus myxomateux, par conservation non tellurique, mais endogée et pholéophile**, en *micro-foyers invétérés permanents*.

CONCLUSIONS

1° Si l'intervention des moustiques explique, au moins en partie, la transmission estivo-automnale de la myxomatose épizootique, demeurerait entier le *problème de l'entretien hivernovernal* du virus spécifique, assurant la pérennité du contagage et conditionnant l'amorce d'une nouvelle épizootie.

2° En Camargue, les *Moustiques* ne paraissent pas jouer ce rôle d'entretien oligozootique, non plus que le *lapin* lui-même, convalescent ou guéri d'une myxomatose nodulaire autocurable.

3° En revanche, en Camargue et à Lyon, la terre des terriers s'est révélée contenir à la fois du *virus myxomateux* et des *puces quiescentes infectées*.

* De PHOLEOS : antre, terrier.

4° La pérennité de la myxomatose semble donc admettre une explication rationnelle, fondée sur l'amorçage d'une maladie virale tant par une *myxomatose d'inoculation*, par la puce, que par une *myxomatose de fousissement*, due à la contamination directe par la terre polluée, à la suite d'une *conservation interépizootique endogée et pholéophile*, en *micro-foyers permanents*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ANDREWES (Ch.) et MUIRHEAD-THOMSON (R. C.). — Laboratory studies of *Anopheles atroparvus* in relation to myxomatosis. *J. Hyg.* 1956, **54**, 478-481.
- [2] ANDREWS (H.), THOMPSON (H. V.) et MANSI (W.). — Myxomatosis : present position and future prospects in Great-Britain. *Nature* (Londres) 1959, **184**, 1179-1180.
- [3] BLANC (R.) et ASCIONE (S.). — Quelques expériences sur le rôle possible de transmetteuse et de réservoir de virus de la tique *Rhipicephalus sanguineus* dans la myxomatose. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1961, **54**, 935-938.
- [4] BROWN (P. W.), ALLAN (R. M.) et SHANKS (P. L.). — Rabbits and myxomatosis in North East Scotland. *Scot. Agric.* 1956, **35**, 204-207.
- [5] CHAPPLE (P. J.) et LEWIS (N. D.). — Myxomatosis in the rabbit flea. *Nature* (Londres), 1965, **207**, 388-389.
- [6] CHIRANOVITCH (P. I.), MIRONOV (N. P.) et FOMITCHEVA (A. S.). — Méthodes de récolte des parasites aptères des terriers de rongeurs. *Isl. Akad. Nauk. U. R. S. S. Moscou* 1950, **12**, 15-19.
- [7] FENNER (F.) et RATCLIFFE (F. N.). — Myxomatosis, University Press ed. Cambridge, 1965, 371 pages.
- [8] JOUBERT (L.), OUDAR (J.), MOUCHET (J.) et HANNOUN (Cl.). — Transmission de la myxomatose par les moutiques en Camargue. Rôle prééminent de *Aedes caspius* et des *Anophèles* du groupe *maculipennis*. *Bull. Acad. Vét. France*, 1967, **40**, 315-322.
- [9] JOUBERT (L.), LEFTHERIOTIS (E.) et ROUMIANTZEFF (M.). — Parenté sérologique et allergique des virus de la myxomatose et de la fibromatose du lapin. *Bull. Acad. Vét. France*, 1969 (à paraître).
- [10] LOCKLEY (R. M.). — The European rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* as a vector of myxomatosis in Britain. *The Vet. Rec.* 1954, **66**, 434-435.
- [11] MEAD-BRIGGS (A. R.). — Observations on the rabbit flea, a vector of myxomatosis. *Ann. Appl. Biol.* 1963, **51**, 338-342.
- [12] MOLLARET (H. H.), KARINI (Y.), EFTEKHARI (M.) et BALTHAZARD (M.). — La peste de fousissement. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1963, **56**, 1186-1193.
- [13] MOLLARET (H. H.). — Conservation du bacille de la peste durant 28 mois en terrier artificiel : démonstration expérimentale de la conservation interépizootique de la peste dans ses foyers invétérés. *C. R. Acad. Sci. Paris* 1968, **267**, D, 10, 972-974.

- [14] MUIRHEAD-THOMSON (R. G.). — Report to the Scientific Subcommittee of the myxomatosis in England. *J. Hyg.* 1956, **54**, 472-475.
- [15] RAGEAU (J.) et MOUCHET (J.). — Les arthropodes hématophages de Camargue. *Cahiers ORSTOM*, sér. Ent. Méd. 1967, **5** (4), 263-281.
- [16] RIOUX (J. A.), PECH (J.) et BRES (A.). — Transmission et conservation expérimentales du virus myxomateux par *Culex pipiens berbericus*. *Arch. Inst. Past. Tunis*, 1963, **40**, 111-114.