

03 d

AR 1725

Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)
1978, 129 A, 245-249

ISOLEMENT D'UNE SOUCHE DE VIRUS MOKOLA AU CAMEROUN

par G. Le Gonidec, A. Rickenbach, Y. Robin et G. Heme
Institut Pasteur de Nouméa (Nouvelle-Calédonie), ORSTOM
Bondy (France), et Institut Pasteur de Dakar (Sénégal)

SUMMARY

ISOLATION OF A STRAIN OF MOKOLA VIRUS IN CAMEROON

A strain of Mokola virus has been isolated in Cameroon from a shrew (*Crocidura* sp.). In Nigeria, where the virus was isolated for the first time, two human cases with one death were reported. The possibility of transmission of this virus by the bite of an arthropod is discussed.

KEY-WORDS: Mokola virus, Cameroon; Shrew.

Le virus Mokola a été isolé pour la première fois en 1968 des organes d'une crocidure capturée à Ibadan (Nigeria) [10]. Cinq autres souches furent isolées à Ibadan, trois d'organes de crocidures et deux de jeunes enfants [8]. Dans un cas, il s'agissait d'un enfant de 3 ans 1/2 présentant des convulsions : le virus fut isolé du liquide céphalo-rachidien. Le second cas concernait une fillette de 6 ans morte après un syndrome paraplégique : le virus fut isolé du cerveau [8, 6].

Il existe entre ce virus, quatre autres virus isolés en Afrique et le virus rabique des relations antigéniques [9] qui ont permis de les regrouper sous le genre Lyssavirus [7].

Nous rapportons ici l'isolement, à partir d'une crocidure capturée au Cameroun en 1974, d'une souche de virus Mokola (An. Y1307).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Conditions et lieu de capture.

D'avril 1971 à mars 1975, dans le cadre d'une enquête sur les arbovirus, 1 027 petits mammifères terricoles ont été capturés au piège « Chauvancy » appâté

Manuscrit reçu le 29 septembre 1977, accepté le 3 février 1978.

28 oct. 85
O. R. S. I. O. M. Fonds Documentaire

N° :

18 745

Cote :

B ex / 97

à la noix de palme. Parmi eux, 176 étaient des Soricidés appartenant tous au genre *Crocidura*. Les captures ont été effectuées dans un rayon de quelques kilomètres autour de Yaoundé, en zone de forêt semi-décidue à *Celtis* et *Sterculiacées*, fortement dégradée par l'homme, en général à proximité des villages.

Quinze musaraignes ont été capturées près du village de Nkol-Owona, à 7 kilomètres au sud de Yaoundé (3°51 N, 11°35 E). Le virus Mokola a été isolé de l'une d'elles capturée en janvier 1974. Nous devons à l'obligeance du Docteur François Petter, du Museum National d'Histoire Naturelle, de savoir qu'elle appartenait au groupe *occidentalis* de Heim de Balsac.

Comme tous les Muridés et tous les autres Soricidés capturés, cette musaraigne a été rapportée vivante au laboratoire. Elle a été immédiatement sacrifiée, et des fragments de cerveau, de rate et de foie ont été prélevés et placés au congélateur à -70°C .

Conditions d'isolement.

Les fragments de cerveau, de rate et de foie ainsi conservés ont été inoculés au souriceau le 27 juillet 1974.

Préparation des suspensions.

Nous avons adopté la technique décrite en 1963 par Brès et Chambon [2] avec la modification suivante : le diluant était du tampon albuminé à 0,75 % de pH 7,4 (TPA) additionné de 1 000 unités de pénicilline et de 100 μg de streptomycine par millilitre.

Les fragments d'organes provenant de chaque *Crocidura* ont été additionnés de TPA jusqu'à obtention d'un rapport poids/volume de 10 %. Ils ont ensuite été broyés au broyeur « Virtis » refroidi, de façon à donner une suspension homogène.

Cette suspension a été centrifugée à 700 g pendant 5 min à 4° . Le surnageant a été prélevé à la pipette Pasteur (sans la pellicule superficielle) : il constitue la première dilution, à 10^{-1} .

Une deuxième dilution a été faite à 10^{-2} .

Méthodes d'inoculation.

Chacune de ces deux dilutions a été inoculée à deux portées de 8 souriceaux nés de la nuit, à raison de 0,02 ml en injection intracérébrale (IC) et 0,02 ml en injection intrapéritonéale (IP).

Méthodes d'identification.

Les antigènes ont été préparés, à partir de souriceaux infectés, par la méthode saccharose-acétone [5] et les liquides immuns, sur ascite de souris [1].

La réaction de fixation du complément a été conduite selon la méthode LBCF « Laboratory branch complement fixation » test en microplaques [4] et la réaction de neutralisation a été pratiquée grâce à l'inoculation, par voie cérébrale au souriceau, d'un mélange de sérum pur et de dilutions de virus. Les indices de neutralisation ont été comparés.

IC = intracérébrale.
IP = intrapéritonéale.
LBCF = « Laboratory branch complement fixation » (test).

TPA = tampon phosphaté albuminé (à 0,75 %, de pH 7,4).

RÉSULTATS

Observations des passages.

Les souriceaux ont été observés tous les jours.

Les souriceaux inoculés avec la dilution 10^{-2} en IC et en IP et la dilution 10^{-1} en IP sont restés indemnes pendant 21 jours. Dans la portée de souriceaux ayant reçu en IC la dilution 10^{-1} nous avons prélevé deux souriceaux qui présentaient des signes d'atteinte nerveuse (chute sur le côté) au 8^e jour. Leur cerveau prélevé a servi à pratiquer le premier passage à la dilution arbitraire de 10^{-1} sur deux autres portées de souriceaux dont l'ensemble a présenté des signes paralytiques au 5^e-6^e jour.

Le virus s'est adapté au cerveau dès le troisième passage, avec généralisation de la mortalité pour un temps moyen de survie de 4-5 jours.

Ce virus est pathogène par voie péritonéale chez le souriceau avec un temps moyen de survie de 8 jours. Il tue la souris adulte par voie cérébrale en 9 jours mais n'est pas pathogène par voie péritonéale. Chez le souriceau, on obtient un titre de $10^{5,0}$ DL₅₀/0,02 ml. Ce virus passe à travers un filtre ayant des pores de 220 nm (titre = $10^{5,00}$ DL₅₀/0,02 ml après filtration) et montre une sensibilité au chloroforme (titre inférieur à $10^{2,0}$ DL₅₀/0,02 ml après traitement).

Après traitement par le mélange saccharose-acétone des cerveaux de souriceaux infectés, on extrait un bon antigène fixant le complément mais on n'obtient pas d'hémagglutinine.

Réisolement.

Le réisolement a été obtenu à partir des broyats conservés à -70° . Sur deux portées de souriceaux inoculés en IC, trois souriceaux ont présenté des signes paralytiques avec chute sur le côté au 8^e-9^e jour. Leur cerveau prélevé a donné lieu à des passages positifs avec stabilisation de la période d'incubation à 4-5 jours comme cela fut observé lors de l'isolement.

Identification.

L'antigène dilué à 1/8 n'a réagi, en fixation du complément, qu'avec une ascite immune préparée contre le virus rabique. Les réactions croisées de fixation du complément (tableau I) et de neutralisation (tableau II) montrent très clairement que la souche An Y1307 est identique au virus Mokola.

DISCUSSION

L'isolement d'une souche de virus Mokola au Cameroun à partir d'une musaraigne du genre *Crocidura* étend l'aire de distribution de ce virus, qui n'avait été isolé qu'au Nigeria, et confirme le rôle important joué par

TABLEAU I. — Réaction croisée de fixation du complément avec la souche Dak An Y1307 (*).

Ascites immunes	Antigènes			
	An Y1307	Mokola	Lagos-bat	Rage
An Y1307	32/128	16/32	4/64	0/0
Mokola	256/128	256/32	32/64	8/8
Lagos-bat	32/64	32/32	512/64	32/8
Rage	32/64	16/32	16/64	512/8

(*) Titre du sérum/titre de l'antigène.

TABLEAU II. — Réaction croisée de neutralisation avec la souche Dak An Y1307 (*).

Ascites immunes	Antigènes			
	An Y1307	Mokola	Lagos-bat	Rage
An Y1307	3,2	3,0	1,0	1,6
Mokola	3,8	4,0	1,4	1,0
Lagos-bat	3,6	2,9	4,6	4,0
Rage	1,1	0,4	1,6	5,1

(*) Log₁₀ de l'indice de neutralisation.

la musaraigne dans la diffusion de ce virus puisque 5 des 7 souches actuellement isolées l'ont été de ce vertébré. Les crocidures sont représentées dans l'ouest africain par quelque trente espèces, dont l'identification est affaire de spécialistes. La biologie des musaraignes africaines n'est pas très connue. Terricoles, elles se déplacent très vite et, selon certains auteurs, elles sont capables de nager. Ce sont des insectivores, mais elles s'attaquent aussi aux petits rongeurs, aux oisillons, aux lézards, aux grenouilles, aux vers de terre, aux araignées.

Les deux autres souches de virus ont été isolées de jeunes enfants, et dans un cas l'affection fut mortelle après établissement d'un syndrome paraplégique. La question du mode de contamination a été évoquée par Kemp et coll. [8] : ils pensent que l'infection pourrait se faire à l'occasion d'une morsure par une musaraigne. On ne peut exclure la possibilité de transmission par un arthropode vecteur. Les musaraignes du genre *Crocidura* sont connues comme hôtes de *Borrelia crociduræ*, agent de la fièvre récurrente assez fréquente au Sénégal et transmise par des *Ornithodorinae*, par *Alectorobius (erraticus) sonrai* en particulier. Au Sénégal également, le virus Bandia a pour hôte vertébré des rongeurs sauvages et pour vecteur-

réservoir *A. sonrai* [3]. Des études au laboratoire sont maintenant nécessaires pour confirmer ou infirmer l'hypothèse de la transmission du virus Mokola par les tiques.

RÉSUMÉ

Une souche de virus Mokola a été isolée au Cameroun à partir d'une musaraigne du genre *Crocidura*. Au Nigeria où ce virus a été décrit pour la première fois, on a observé deux infections humaines dont une mortelle. La possibilité de transmission par un arthropode n'est pas exclue.

MOTS-CLÉS : Virus Mokola, Cameroun ; Musaraigne.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRANDT, W. E., BOESCHER, E. L. & HETRICK, F., Production and characterization of arbovirus antibody in mouse ascitic fluid. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1976, 16, 339-347.
- [2] BRÉS, P. & CHAMBON, L., Isolement à Dakar d'une souche d'arbovirus à partir de glandes salivaires de chauve-souris. *Ann. Inst. Pasteur*, 1963, 104, 705-711.
- [3] BRÉS, P., CORNET, M. & ROBIN, Y., Le virus de la Forêt de Bandia (IPD/A611) nouveau prototype d'arbovirus isolé au Sénégal. *Ann. Inst. Pasteur*, 1967, 113, 739-747.
- [4] CASEY, H. L., Standardized diagnostic complement fixation method and adaptation to microtest. Public Health Monograph, n° 74, US Government Printing Office, Washington.
- [5] CLARKE, D. H. & CASALS, J., Techniques for hemagglutination and hemagglutination inhibition with arthropod borne viruses. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1958, 7, 561-573.
- [6] FAMILUSI, J. B., OSUNKOYA, B. O., MOORE, D. L., KEMP, G. E. & FABIYI, A., A fatal human infection with Mokola virus. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1972, 21, 959-963.
- [7] FENNER, F., Classification and nomenclature of viruses (p. 42), S. Karger, Basel, 1976.
- [8] KEMP, G. E., CAUSEY, O. R., MOORE, D. L., ODELOLA, A. & FABIYI, A., Mokola virus, further studies on Ib An 27377, a new rabies-related etiologic agent of zoonosis in Nigeria. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1972, 21, 356-359.
- [9] SHOPE, R. E., Rabies virus antigenic relationships, in « The natural history of rabies » (G. M. Baer), 1 (pp. 141-152), Academic Press, New York, 1975.
- [10] SHOPE, R. E., MURPHY, F. A., HARRISON, A. K., CAUSEY, O. R., KEMP, G. E., SIMPSON, D. I. H. & MOORE, D. L., Two African viruses serologically and morphologically related to rabies virus. *J. Virol.*, 1970, 6, 690-692.