

COMMUNICATIONS

PREMIER ISOLEMENT D'UNE SOUCHE
DE *RICKETTSIA (COXIELLA) BURNETI*
DE TIQUES (*HYALOMMA TRUNCATUM*) DU SÉNÉGAL

Par M. CAPPONI, L. CHAMBON, J. L. CAMICAS et N. DUMAS (*)

Rickettsia ou *Coxiella burneti*, agent de la fièvre Q de Derrick, a déjà été isolée de diverses tiques africaines tant au Maroc qu'en Afrique du Sud. Aux États-Unis, comme en U. R. S. S., l'isolement de *Rickettsia burneti* (ex *R. diaporica*) à partir des acariens a été signalé à plusieurs reprises, comme il l'avait été dès 1940 en Australie.

Mais ces isollements ne sont pas fréquents. Ainsi en France, où cependant la fièvre Q existe, il n'a pas encore été possible, en inoculant au cobaye ou au mériion des tiques gorgées, d'avoir une souche de cette espèce rickettsienne. De même, au Sénégal, aucun isolement de *R. burneti* n'a été obtenu. De plus, *Hyalomma truncatum*, vectrice de *R. burneti* en U. R. S. S., n'a jamais été considérée comme une tique africaine transmettrice de la fièvre Q. Une seule fois, en Afrique du Sud, l'agent de la fièvre Q a été vu à côté de celui de la fièvre boutonneuse dans le contenu coelomique d'une *Hyalomma truncatum* femelle (1).

Continuant nos recherches sur les tiques sénégalaises dont les prélèvements se font principalement aux abattoirs de Dakar sur les bovins, après avoir isolé *R. conori* d'*Amblyomma variegatum* (3), nous avons cherché de préférence l'agent de la fièvre boutonneuse. Mais il ne faut pas perdre de vue que PÉLISSIER en A. E. F. avait eu *Rickettsia mooseri* d'un rhipicéphale de chien. Il faut donc s'attendre à isoler plusieurs espèces de rickettsies des tiques africaines (7) et il n'a pas été surprenant d'isoler *R. burneti*.

(*) Séance du 14 octobre 1970.



MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les tiques sont prélevées sur des bovidés des abattoirs. Elles sont ensuite examinées à l'Institut Pasteur de Dakar où un laboratoire d'entomologie de l'O. R. S. T. O. M. les détermine. Une partie des tiques ainsi examinées, non utilisées pour la recherche des arbovirus, est envoyée à Paris. A leur arrivée, on rejette les tiques qui sont mortes, on prélève le contenu intestinal des femelles vivantes, après les avoir lavées dans l'alcool iodé, puis dans l'eau distillée. On les broie dans un broyeur en verre de Durand. Des frottis sont faits à partir des broyats ; les uns sont examinés après coloration de Stamp, les autres en immuno-fluorescence indirecte. Pour cette dernière technique, on utilise un sérum de lapin anti-*R. conori* ou un sérum de lapin anti-*R. burneti* et un sérum fluorescent anti-globulines de lapin.

Quand il y a un résultat positif, on dilue le broyat dans du liquide de Bovarnick-Snyder. Avec cette suspension, un mérion mâle est inoculé par la voie péritonéale. Quatre souris sont aussi inoculées, soit pour moitié par la voie intra-nasale et pour moitié par la voie intra-péritonéale, soit comme ici uniquement par la voie intra-péritonéale. Au 7^e jour, le mérion est autopsié, ses vaginales et sa rate examinées. Avec des tissus tels que les vaginales qui sont riches en rickettsies, on fait de nouveaux passages sur la souris et sur l'œuf incubé. L'œuf incubé est inoculé par la voie intra-vitelline. Il faut souvent, comme cela est le cas ici, faire cinq ou six passages pour obtenir une souche purifiée.

Quand la souche est suffisamment enrichie, on la lyophilise selon la technique de MacFarlane ; une des ampoules de lyophilisation est testée. Les autres sont conservées à — 30° C. De même, les membranes vitellines sont conservées dans la sorbetière.

RÉSULTATS

Deux *Hyalomma truncatum* femelles ont été examinées le 26 mai 1970. Les frottis colorés au Stamp ont montré la présence de très fins éléments bi-polaires se colorant en rouge pâle. A côté de ces petits éléments, on en voyait d'autres très rares, d'une taille supérieure ; en immuno-fluorescence, malgré cet aspect, il n'y a pas eu de mise en évidence de rickettsies nettes avec un sérum anti-*R. conori*. En revanche, avec un sérum anti-*R. burneti*, on voyait par la même technique quelques éléments fins bien éclairés. Le mérion mâle, inoculé par la voie intra-péritonéale avec 2 ml. de la suspension du

contenu intestinal des tiques, n'a pas manifesté de signes particuliers. Il a été tué et autopsié au 7^e jour. Il n'y avait pas de vaginalite nette. Cependant, on pouvait noter sur les vaginales la présence d'un exsudat filant peu abondant. La rate était augmentée de volume et granuleuse. Dans les frottis de rate, comme dans les frottis de vaginale, on pouvait voir de nombreuses rickettsies très fines. Quelques rickettsies de plus forte taille ont été vues de loin en loin. L'aspect au Stamp comme l'identification en immuno-fluorescence des rickettsies étaient en faveur du diagnostic de *R. burneti*. Il n'est pas impossible que les rares éléments de plus forte taille aient été des rickettsies du groupe des *Dermacentroxenus*, mais il a été impossible ensuite de les retrouver.

A partir de ces tissus du mérion, quatre passages ont été faits à des souris par la voie intra-péritonéale, mais l'adaptation à l'animal s'est mal établie. La souche aurait été perdue progressivement par ces passages ; on constatait, en effet, un appauvrissement progressif de la culture rickettsienne. En revanche, après un premier échec de l'inoculation de la rate du mérion à l'œuf incubé, un passage fait avec des rates de souris à l'œuf a permis un enrichissement progressif. L'adaptation au sac vitellin s'est alors produite très bien, malgré quelques contaminations. A partir des sacs vitellins, un lapin et trois cobayes ont été inoculés. En même temps, la souche était lyophilisée.

Le lapin inoculé par la voie sous-cutanée à forte dose a bien supporté l'inoculation. Saigné au vingtième jour, le taux de ses anticorps était, en micro-agglutination, de 1/5.000 pour *R. burneti*, sans agglutinines notables pour les autres souches. En immuno-fluorescence, le taux des anticorps était de 1/1.280. Les cobayes ont eu une température élevée dans les premiers jours qui ont suivi l'inoculation. Cette température était de 403° C à 405° C sans atteindre 41° C que l'on voit souvent avec la fièvre Q. Un cobaye a été saigné au 8^e jour, son taux d'anticorps était déjà à 1/160 pour *R. burneti* en micro-agglutination. Les deux autres cobayes inoculés par la voie intra-péritonéale sont morts au douzième et au quinzième jour, avec une grosse rate et des rickettsies au niveau de la rate et des vaginales. Cette souche de *R. burneti*, isolée de tiques sénégalaises, a été appelée souche S 44.

Les essais faits jusqu'ici par les inoculations de tiques de l'espèce *Hyalomma truncatum*, au laboratoire des rickettsies, n'avaient pas abouti. De 1963 à 1970, 7 broyats d'*Hyalomma truncatum* inoculés à divers animaux n'ont été positifs que pour le dernier broyat, celui de 1970. Les autres provenaient soit du Tchad, soit du Sénégal. Jusqu'ici seuls quelques anticorps anti-*R. conori* avaient été vus. D'ailleurs, le seul isolement africain de *R. conori* à partir de *Hyalomma*

truncatum avait été signalé en Afrique du Sud, où cette rickettsie était mélangée à *R. burneti*.

Il est important de constater qu'*Hyalomma truncatum* véhiculant *R. burneti* en Afrique, la fièvre Q doit se rencontrer chez les agriculteurs comme chez les bouchers. Jusqu'ici, la seule enquête importante faite en Afrique noire de l'Ouest l'avait été en Guinée portugaise par J. TENDEIRO (II).

Celui-ci a pu isoler un nombre important de souches de *R. burneti* de tiques guinéennes : 7 d'*Amblyomma variegatum*, 1 d'*Amblyomma paulopunctatum*, 1 d'*Hyalomma leachi*, 3 de *Rhipicephales*, 1 d'*Hyalomma savignyi*, 1 de *Palpoboophilus decoloratus*, 1 d'*Hyalomma halli* et une d'*Argas persicus*. De même dans le lait de vache, il avait pu isoler 6 souches et deux dans le lait de chèvre. On voit que cette étude de la fièvre Q en Guinée portugaise a été très fructueuse.

Pour le reste de l'Afrique, on sait qu'au Maroc on a pu isoler *R. burneti* de *Hyalomma dromadairii*, d'*Hyalomma detritum* (2) et d'*Hyalomma mauritanicum*. De même, dans le reste de l'Afrique, des souches ont été isolées d'*Amblyomma variegatum* et d'*Ornithodoros moubata*. Ce n'est qu'en U. R. S. S. qu'*Hyalomma truncatum* a été considérée comme vectrice notable de *R. burneti* (I).

Il faut noter qu'au Sénégal, pays essentiellement agricole, la présence de *R. burneti* sur des tiques de bovins atteste l'endémicité de la maladie qui doit avoir des périodes de repos, avec des foyers. Les agriculteurs comme les manipulateurs de viande sont exposés à contracter la maladie par la voie aérienne plutôt que par agression des acariens. Il y a d'ailleurs longtemps que l'Institut Pasteur de Dakar avait signalé la présence de la fièvre Q au Sénégal.

CONCLUSION

Une souche de virulence moyenne de *R. burneti* a été isolée de tiques dakaroises par l'inoculation à l'animal et surtout par l'inoculation aux œufs incubés. Seul l'œuf incubé a permis une purification et un enrichissement complet.

La sérologie et la morphologie indiquent qu'il s'agit d'une souche authentique de *R. burneti* qui peut tuer le cobaye par la voie intrapéritonéale et qui ne paraît pas être très pathogène pour le lapin aux doses habituelles.

SUMMARY

A strain of *R. burneti* of middle virulence has been isolated from ticks at Dakar, by means of animal and above all egg inoculation.

Incubated (eggs) only allowed purification and complete enrichment. A serologic and morphologic study shows that this stain is an actual *R. burneti* strain, which may kill guinea-pigs after intraperitoneal inoculation, and which does not seem to be pathogenic in rabbits with the usual doses.

*Laboratoire des Rickettsioses,
Institut Pasteur Paris,
Institut Pasteur Dakar,
O. R. S. T. O. M. Dakar.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) DON ARTHUR (R.). — Pergamon Press, 1962.
- (2) BLANC (G.). — Épidémiologie de la Q fever (*Coxiella*). *Maroc Méd.*, 1954, 33, 354.
- (3) CAPPONI (M.). — Rickettsioses. Encyclopédie médico-chirurgicale, 1968. Maladies infectieuses, 8077 K10.
- (4) CAPPONI (M.), FLOCH (H.), CHAMBON (L.), CAMICAS (J. L.), CARTERON (B.) et GIROUD (P.). — *Amblyomma variegatum* d'origine africaine ou antillaise et rickettsiose du genre *Dermacentroxenus*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1969, 62, 1011-1017.
- (5) DERRICK (E. H.). — The epidemiology of Q fever, a review. *A. J. Australia*, 1953, 1, 245-253.
- (6) GIROUD (P.) et CAPPONI (M.). — La fièvre Q ou maladie de Derrick et Burnet. Éditions Médicales Flammarion. Collection de l'Institut Pasteur, 1966.
- (7) GIROUD (P.) et CAPPONI (M.). — Nouveaux résultats concernant des souches rickettsiennes intermédiaires. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 1968, 267, 452-453.
- (8) HORSFALL (F. L.) et TAMM (J.). — Viral and Rickettsial infections of Man. Lippincott, 1965, 4^e édit., Philadelphie, London.
- (9) REHACEK (J.), AC (P.), BREZINA (R.) et coll. — Q fever investigation in Slovakia. I. Isolation of the agent from ticks and serological surveys in small mammals in the districts of Zvolen and Lucenec, Central Slovakia Region. *J. Hyg. Epidemiol. (Praha)*, 1970, 14, 230-239.
- (10) STOKER (M. G. P.) et MARMION (B. P.). — The spread of Q fever from animals to man. The natural history of a rickettsial disease. *Bull. World Health Org.*, 1955, 13, 781-806.
- (11) TENDEIRO (J.). — Febre Q. Publications du Centre de la Guinée Portugaise, Bissau, n° 16, 1952.
- (12) ZDRODOWSKI (P. F.) et GOLINEVICH (E. H.). — The Rickettsial Diseases. Pergamon Press, 1960.