

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 59

1984

N° 1

© Masson, Paris, 1984.

Ann. Parasitol. Hum. Comp.,
1984, t. 59, n° 1, pp. 1-6.

MÉMOIRES ORIGINAUX

VISUALISATION DU VIRUS SOLDADO PAR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE DANS LES TISSUS DE LA TIQUE VECTRICE

Ornithodoros (Alectorobius) maritimus Vermeil et Marguet, 1967

C. CHASTEL*, C. GUIGUEN**, M. C. QUILLIEN*, G. LE LAY-ROGUÈS*, J. C. BEAUCORNU**

RÉSUMÉ. Il a été possible de mettre en évidence dans les tissus de la tique *Ornithodoros (Alectorobius) maritimus* infectée de façon naturelle par le virus Soldado (Bunyaviridae, *Nairovirus*) des particules virales typiques de ce virus, grâce à la microscopie électronique à transmission.

Visualization of Soldado virus by electron microscopy in the tissues of the vector tick *Ornithodoros (Alectorobius) maritimus* Vermeil and Marguet, 1967

SUMMARY. By means of transmission electron microscopy, it was possible to visualize typical viral particles of Soldado virus (Bunyaviridae, *Nairovirus*) in the tissues of a naturally infected *Ornithodoros (Alectorobius) maritimus* tick.

Introduction

Des particules virales, d'ailleurs parfois associées à des *Rickettsia*, ont été décrites dans les glandes salivaires ou dans d'autres tissus de différentes tiques, grâce à la microscopie électronique à transmission (MET) (6, 9, 14, 19). Ces observations sont

* Laboratoire de Virologie, Faculté de Médecine, 22 avenue Camille-Desmoulins, BP 815, F 29279 Brest Cedex.

** Laboratoire de Parasitologie (Entomologie Médicale), Faculté de Médecine, avenue du Professeur Léon-Bernard, F 35043 Rennes Villejean Cedex.

Travail réalisé avec l'aide de l'I.N.S.E.R.M., Paris (CRL 80.80.03) et de la Fondation Langlois, Rennes.

Accepté le 19 mai 1983.

assez rares, mais surtout, l'identification du virus lui-même, par la seule MET, n'est certaine que si l'on a infecté expérimentalement la tique avant de l'examiner : c'est le cas pour le virus de l'encéphalite européenne à tiques dont les virions ont été retrouvés dans les glandes salivaires de *Dermacentor marginatus* et d'*Haemaphysalis inermis*, quelques jours après les avoir laissés se gorger sur des souris virémiques (6). Dans tous les autres cas, il s'agit de particules découvertes fortuitement chez des tiques naturellement infectées et dont l'identification demeure incertaine, basée uniquement sur des caractères morphologiques ou des commémoratifs épidémiologiques (6, 9, 14).

Ayant eu la possibilité de démontrer, d'une part la réalité d'une infection naturelle par le virus Soldado (Bunyaviridae, *Nairovirus*) chez une tique *Ornithodoros (Alectorobius) maritimus* et, d'autre part, la présence simultanée de particules virales typiques de ce même virus dans ses tissus, il nous a paru intéressant de rapporter nos observations ultrastructurales et virologiques.

Matériel et méthodes

Au cours du mois de juin 1981, l'un de nous (C. G.) a récolté de très nombreux lots d'*O. (A.) maritimus* à Belle-Ile-en-Mer, Morbihan, tiques qui parasitaient des nids de *Larus argentatus* Pontoppidan, *Larus marinus* L. et *Phalacrocorax aristotelis* L. L'étude virologique de ces lots de tiques a montré qu'ils étaient très lourdement infectés par le virus Soldado : 18 lots positifs sur 39.

Nous avons pensé qu'en s'adressant à des tiques provenant des mêmes captures, mais conservées depuis 6 mois en insectarium (25° C, humidité relative 75 %), il existait une bonne probabilité qu'elles soient également infectées, même si nous n'examinons qu'un nombre restreint d'individus. Ceci permettrait de réaliser une étude virologique et ultrastructurale simultanée de la même tique.

Nous avons donc étudié 4 *O. (A.) maritimus*, 3 ♀ et 1 ♂, répondant à ces critères. Elles ont été disséquées et leurs glandes salivaires furent recueillies, fixées immédiatement dans le glutaraldéhyde à 2,5 % en tampon cacodylate, puis préparées en vue de leur examen en MET, selon les techniques habituelles (13). Les grilles furent examinées et photographiées avec un microscope Zeiss EM9-S, sous une tension de 60 Kv.

Ce qui restait des corps de ces tiques fut broyé et traité individuellement en vue de leur étude virologique (broyats T771 à T774), puis inoculé par voie intracérébrale à des souriceaux âgées de 24-48 heures.

Résultats

Un seul de ces 4 broyats, T772, correspondant à 1 ♀, donna lieu à l'isolement d'un virus. Ce dernier fut identifié par fixation du complément comme un virus Soldado, ou plus exactement comme le variant « Ancien Monde » de ce virus (5).

Tous les tissus provenant de tiques et considérés comme des glandes salivaires, furent examinés en MET. Aucune particule virale ne fut décelée dans les tissus des tiques T771, T773 et T774.

Par contre, des amas de particules virales, typiques de la famille des *Bunyaviridae*, à laquelle appartient le virus Soldado (7), furent trouvés dans les tissus de la tique T772. Ces amas sont situés dans une pseudovacule creusée au sein d'un matériel grumeleux, amorphe (*fig. 1*), bordant la membrane plasmique d'une cellule non identifiée ; celle-ci appartient peut-être à un acinus salivaire de type II (granulo-sécrétoire), selon la nomenclature adoptée dans des études ultrastructurales de deux tiques de la famille des *Argasidae*: *Argas (Persicargas) arboreus* (8, 20) et *Ornithodoros moubata* (10). En fait, la principale difficulté que nous avons rencontrée dans l'interprétation de nos micrographies électroniques, est la relative rareté des documents ultrastructuraux concernant les glandes salivaires d'*Argasidae*, surtout si on les compare aux nombreuses études concernant celles des *Ixodidae* (1, 10, 11, 12, 15, 16).

Le Professeur A. Aeschlimann (Neuchâtel), à qui nous avons soumis nos clichés, a bien voulu nous indiquer (in litt., 1982) que certaines micrographies correspondent bien à du tissu salivaire, mais que d'autres représentent probablement d'autres tissus. Nous restons donc dans l'incertitude quant à la nature réelle de la cellule infectée.

Par contre les virions sont aisément identifiables (*fig. 2*), par leur taille et par leur morphologie. Leur diamètre moyen est de 102 nm, avec des extrêmes de 88 et 120 nm. Les virions possèdent une enveloppe épaisse, plus ou moins bien définie, apparemment dépourvue de projections de surface, et en-dessous de laquelle existe une zone plus dense aux électrons. A l'intérieur du virion on ne distingue aucune structure particulière, notamment pas de nucléoïde central. Ces caractères morphologiques sont ceux que nous avons décrits précédemment pour le virus Soldado, lors de sa multiplication dans les cellules de l'encéphale du souriceau infecté expérimentalement (11, 12, 13). Toutefois, malgré des examens très attentifs, il n'a pas été possible de retrouver des images de morphogénèse virale, en particulier celles qui correspondent à la maturation des virions, laquelle se fait au niveau de l'appareil de Golgi, par bourgeonnement aux dépens des membranes des citernes dilatées de cette organelle (2, 3, 13).

Commentaires

C'est la première fois, à notre connaissance, qu'il est possible d'établir une correspondance probable entre la nature de particules virales trouvées dans les tissus d'une tique naturellement infectée et le type antigénique d'un arbovirus.

Dans les études précédemment publiées, la nature du virus est incertaine. Ainsi, Ciampor et Nosek (6) font des particules virales découvertes dans les cellules intestinales de *Dermacentor marginatus*, un *reovirus*, car elles ont un nucléoïde central, une

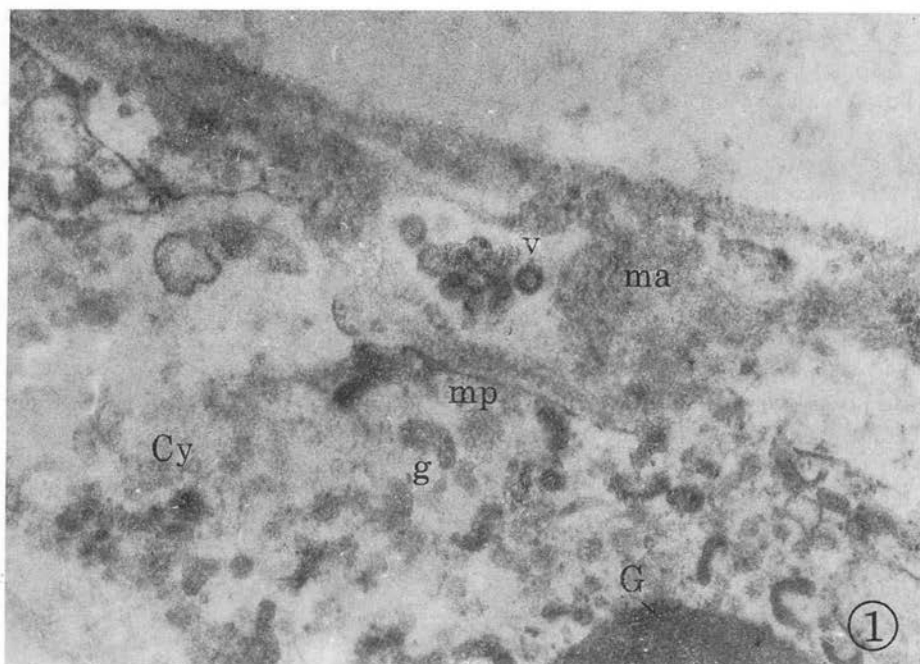


FIG. 1. — Tissus d'*Ornithodoros (Alectorobius) maritimus*. Amas de particules virales (V) dans une pseudo-vacuole creusée au sein d'un matériel amorphe (ma) bordant la membrane plasmiq (mp) ; cytoplasme (Cy), grosse granulation dense aux électrons (G), petites granulations (g). GR : 40 000 x.

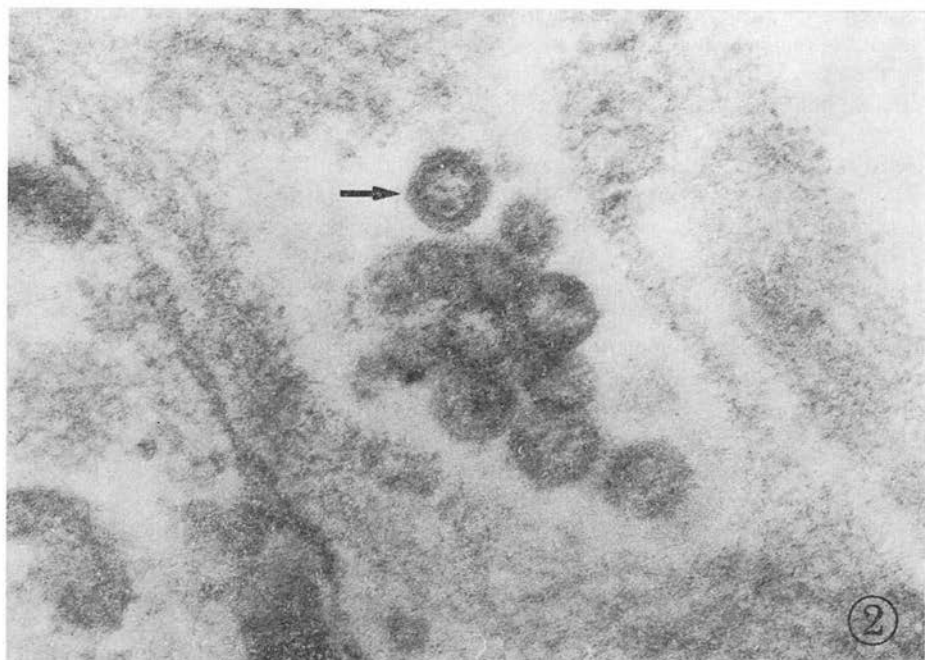


FIG. 2. — Tissus d'*Ornithodoros (Alectorobius) maritimus*. Particules virales sphériques dont la structure correspond à celle des virus de la famille des *Bunyaviridae*. Noter l'existence d'une enveloppe (→) épaisse et le polymorphisme des particules dont le diamètre moyen est de 102 nm. GR : 115 000 x.

enveloppe périphérique transparente et un diamètre de 70-75 nm. En fait, il s'agit plus probablement d'un *orbivirus*, famille des *Reoviridae*, genre dont les caractères morphologiques ont été mieux précisés depuis (17). Il pourrait en être de même des particules trouvées par Megaw (14) dans les glandes salivaires de *Boophilus microplus*, car la morphogénèse se rapproche de celle du virus de la fièvre à tique du Colorado qui est un *orbivirus* ; cependant, la taille des particules virales (42-45 nm) est ici nettement trop faible. Enfin, contrairement à ce que pensent Diehl *et al.* (9), les particules qu'ils ont décrites dans les glandes salivaires de *Dermacentor marginatus* sont trop volumineuses (60-70 nm, et jusqu'à 100 nm) pour pouvoir correspondre à un *flavivirus* dont on admet que le diamètre moyen est de 40 nm (36 à 44 nm) (18) ; les mêmes auteurs n'écartent d'ailleurs pas la possibilité qu'il puisse d'agir s'autres virus (*Bunyaviridae*, *Reoviridae*). Ceci montre bien qu'il est très difficile, sinon impossible, d'identifier une particule virale au sein de tissus de tiques, sur les seuls arguments morphologiques.

Malheureusement, il ne nous a pas été possible de préciser la nature des cellules qui hébergent le virus Soldado chez *O. (A.) maritimus*. D'autres recherches ultra-structurales et immunologiques, réalisées lors de cycles expérimentaux de ce virus, devraient permettre d'aller plus loin dans la localisation tissulaire des virions. C'est une étape essentielle dans la compréhension des mécanismes de transmission par la tique d'un virus pathogène pour les oiseaux de mer (3, 13) et vraisemblablement pour l'homme (4).

BIBLIOGRAPHIE

1. BALASHOV Y. S. : Blood-sucking ticks (Ixodidea), vectors of disease of man and animals (Translation). *Miscellan. Publ. Entomol. Soc. America*, 1972, 8, 161-376.
2. CHASTEL C., ROGUÈS G., BEAUCOURNU J. C. : Morphology and morphogenesis of Soldado virus (Hughes group) ; similarities with viruses of the Bunyaviridae family. Brief report. *Arch. Virol.*, 1979, 60, 153-159.
3. CHASTEL C., LE LAY-ROGUÈS G. : Le virus Soldado, un arborivirus associé à des tiques et à des oiseaux de mer. *Lyon Méd.*, 1980, 245, 29-35.
4. CHASTEL C., BAILLY-CHOUMARA H., LE LAY-ROGUÈS G. : Pouvoir pathogène naturel pour l'homme d'un variant antigénique du virus Soldado isolé au Maroc. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1981, 74, 499-505.
5. CHASTEL C., LE GOFF F., LE LAY G., YUNKER C. E. : Antigenic variants of Soldado virus (Nairovirus, Bunyaviridae) isolated from different parts of the world. *IV Intern. Conf. Comparative Virology, Banff, Alberta, Canada*, 17-22 oct. 1982, *W11-3*, 184 p.
6. CIAMPOR F., NOSEK J. : Virus- and Rickettsia-like structures in gut cells of *Dermacentor marginatus* nymphs. *Acta Virol.*, 1976, 20, 439-441.
7. CLERX J. P. M., CASALS J., BISHOP D. H. L. : Structural characteristics of Nairoviruses (genus *Nairovirus*, Bunyaviridae). *J. Gen. Virol.*, 1981, 55, 165-178.
8. COONS L. B., ROSHDY M. A. : Ultrastructure of granule secretion in salivary glands of *Argas (Parsicargas) arboreus* during feeding. *Z. Parasitenkd.*, 1981, 65, 225-234.
9. DIEHL P. A., REHACEK J., BAZLIKOVA M. : Occurrence of a virus in the salivary gland of *Dermacentor marginatus* ticks collected in nature. *Proc. Intern. Symp. New Aspects Ecology Arboviruses* (Smolenice, June 11-15, 1979), M. Labuda, C. H. Calisher (Eds), 1980, 265-269.
10. EL SHOURA M. S. M. : Ultrastructural studies on the salivary glands of ticks : *Haemaphysalis leachi leachi* Audouin (Ixodoidea : Ixodidae) and *Ornithodoros (Ornithodoros) moubata* Murray (Ixodoidea : Argasidae). Thesis Ph. D., Faculty of Sciences, University of London, 1979, 286 p.
11. FAWCETT D. W., DOXSEY S., BÜSCHER G. : Salivary gland of the tick vector (*R. appendiculatus*) of East coast fever. I. Ultrastructure of the type III acinus. *Tissue and cell*, 1981, 13, 209-230.

12. KIRKLAND W. L. : Ultrastructural changes in the nymphal salivary glands of the rabbit tick, *Haemaphysalis leporis palustris*, during feeding. *J. Insect. Physiol.*, 1971, 17, 1933-1946.
 13. LE LAY-ROGUÈS G. : Étude virologique, écologique et ultrastructurale des souches de virus Soldado isolées en France. *Thèse 3^e Cycle Pharmacie*, Tours, 1980, 191 p.
 14. MEGAW M. W. J. : Virus-like particles pathogenic to salivary glands of the tick *Boophilus microplus*. *Nature.*, 1978, 271, 483-484
 15. MEGAW M. W. J., BEADLE D. J. : Structure and function of the salivary glands of the ticks, *Boophilus microplus* Canestrini (Acarina : Ixodidae). *Int. J. Insect. Morph. Embryol.*, 1979, 8, 67-83.
 16. MOLTSMANN V. G., MEHLHORN H., FRIEDHOFF K. T. : Electron microscopic study on the development of *Babesia ovis* (*Piroplasmia*) in the salivary glands of the vector tick *Rhipicephalus bursa*. *Acta Tropica*, 1982, 39, 29-40.
 17. MURPHY F. A., BORDEN E. C., SHOPE R. E., HARRISSON A. : Physicochemical and morphological relationships of some arthropod-borne viruses to blue-tongue virus ; a new taxonomic group : electron microscopic studies. *J. Gen. Virol.*, 1971, 13, 273-288.
 18. MURPHY F. A. : Togavirus morphology and morphogenesis. In R. W. Schlesinger, " The Togaviruses ; biology, structure, replication ". *Academic Press*, New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, 1980, 687 p.
 19. NOSEK J., CIAMPOR F., KOZUCH O., RAJCANI J. : Localization of tick-borne encephalitis virus in alveolar cells of salivary glands of *Dermacentor marginatus* and *Haemaphysalis inermis* ticks. *Acta Virol.*, 1972, 16, 493-497.
 20. ROSHDY M. A., COONS L. B. : The genus *Persicargas* (Ixodoidea : Argasidae ; Argas) 23. Fine structure of the salivary gland of unfed *A. (P.) arboreus* Kaiser, Hoogstraal and Kohls. *J. Parasitol.*, 1975, 61, 743-752.
-