View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by I-Revues

Pathogénicité résiduelle d'une souche de virus de la stomatite vésiculeuse contagieuse (Indiana) de culture cellulaire

I. — Inoculation à l'animal réceptif et sensible

par L. Joubert, M. Fédida, M. Prave, Ph. Desmettre, et Mlle Myriam Peillon

La stomatite vésiculeuse contagieuse (S. V. C.), maladie virale commune aux bovins et aux équidés, plus rarement au porc et exceptionnellement transmissible à l'homme dans les conditions naturelles, paraît se cantonner encore à l'heure actuelle en Amérique du Nord, du Centre et du Sud, surtout autour de la mer des Caraïbes (Mexique, Venezuela, Colombie). Elle infecta naguère l'Afrique du Sud, où elle fut initialement décrite en 1901 par Hutcheon (in Hutyra et coll., 11) et Theiler (17), peut-être l'Asie (Hanson, 8), et certainement l'Europe (Panisset, Dickerhof et Bochberg (in Hutyra 11,) à l'occasion d'importation de chevaux canadiens lors de la première guerre mondiale.

Non immédiatement préoccupante pour l'Europe et en particulier pour la France, la maladie mérite cependant une étude précise sous un double aspect, diagnostique et épidémiologique (Boquet, 1, Curasson, 5, Howatson, 10, Hutyra et coll., 11, Schmidt et Liebermann, 15).

Sur le plan diagnostique, en effet, ses manifestations chez les bovins simulent, à s'y méprendre, celles de la fièvre aphteuse. Or, à différentes reprises, la confusion clinique des deux maladies en développement simultané a retardé le diagnostic de la fièvre aphteuse, dont la diffusion épizootique avait déjà entraîné des pertes considérables lorsque fut instituée une prophylaxie fort coûteuse, comme en 1949-50 au Venezuela et en 1952 au Canada

* Avec la collaboration technique de Mme C. Favier et de Mlle N. Gallavardin.

(MARTINEZ et CASTANEDA, 13) *. En outre, certes d'apparence plus bénigne que la fièvre aphteuse, elle risque de déclencher quelquefois des épizooties envahissantes à formes cliniques sévères, voire mortelles, comme en 1964 au Guatemala (CORREA, 3) et en Alabama (ELLIS et KENDALL, 6). Toutefois, les complications bactériennes des vésicules primitives sont rares et bénignes, comme les lésions secondaires extensives aux sabots ou aux onglons et à la mamelle (HAGAN et BRUNER, 7, Mc NUTT, 12). Au cours d'une seule épizootie, le cheval a paru souffrir d'encéphalite spécifique (RADELEFF, 14). Enfin, certes zoonose mineure, l'infection ne se transmet pas moins à l'homme, surtout au travailleur de laboratoire, en dépit du respect des précautions d'usage.

Sur le plan épidémiologique, la transmission vectorielle du virus (HANSON, 8, SUDIA et coll., 16), à la fois *Rhabdovirus* et *Arbovirus*, assigne à la S. V. C. un rythme saisonnier et une localisation dans des régions d'Amérique d'écologie favorable. Or, l'existence en France, dans le Midi en particulier, de sites et de vecteurs semblables pourrait muer l'importation éventuelle de virus en implantation pérenne, notamment à l'occasion du commerce de bovins et des transports de chevaux de course en vue des saillies d'étalons ou des compétitions internationales.

Cette importation virale s'est en réalité opérée depuis quelques années, en France et ailleurs, sous la pression de l'intérêt dogmatique majeur présenté par le virus de COTTON (4) en virologie fondamentale. En effet, le virion « en obus » de la S. V. C. représente un excellent matériel d'étude, en raison de la facilité et de la rapidité de sa culture cellulaire, de ses propriétés auto-interférantes et de son aptitude mutagène, en raison aussi de sa parenté avec le virus rabique et d'autres virus pathogènes pour les mammifères, les poissons, les chiroptères, les insectes (Egtved, Flanders Hart Park, Kern Canyon, Mount Elgon Park, fièvre éphémère bovine, virus sigma de la Drosophile) et pour les plantes (mosaïques, nanismes, jaunissements, nécroses).

Or, l'étude stricte du virus en laboratoire ne saurait exclure sa mise en circulation dans la nature et la diffusion, puis la pérennité d'une maladie accidentellement amorcée, pour autant qu'il trouve des vecteurs régionaux favorables.

Il semblait alors digne d'intérêt de vérifier, sur espèces réceptives et sensibles, la pathogénicité résiduelle d'un virus de culture, éventuellement atténué par l'absence de retour à l'animal depuis de nombreuses subcultures directes.

* Le risque est comparable avec l'actuelle maladie vésiculaire du porc.

1. — Matériel, méthodes, techniques

Souche de virus.

La souche virale utilisée est du type Indiana C, provenant de l'Institut du Radium de Paris* et régulièrement cultivée sur lignée cellulaire L.

Culture cellulaire et titre viral.

Elle est obtenue sur lignée de hamster BHK21 ou sur lignée de souris L. Le produit d'une culture de 36 heures fournit un titre de 6,6 10^8 sur cellules L, qui correspond à 6,6 10^7 U. F. P./ml et à 3,3 10^7/0,5 ml sur lignée NA 104 de singe.

Animaux révélateurs.

Le virus a été inoculé :

— aux trois espèces spontanément réceptives : cheval, bovin et porc,

— à quatre espèces expérimentalement sensibles : mouton, chèvre, cobaye, souris.

Inoculation.

Un animal de chaque espèce, de sérologie spécifique négative, a été isolé en lazaret désinsectisé et en période hivernale, afin de minimiser les risques d'une diffusion extérieure. Un animal contact de chaque espèce a été placé en cohabitation pour vérifier l'éventualité d'une transmission directe, sans vecteur, à partir des lésions vésiculaires ou des sécrétions et excrétions en phase virémique précoce.

L'inoculation a été effectuée :

— par voie intradermolinguale, après anesthésie régionale des nerfs lingual et grand hypoglosse, chez le cheval et le bovin, après anesthésie générale chez le mouton et la chèvre, en cinq séries de quatre points chez le cheval et le bovin (10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7},

* Importée en France grâce à une dérogation officielle, prononcée par la Commission des sérums et vaccins, vis-à-vis de l'interdiction générale de l'introduction de souches virales « exotiques » (Art. 216 du Code Rural), nonobstant la possibilité d'un échange incontrôlé de souches entre laboratoires de recherches.

10^{-8}) et en cinq séries de deux points chez le mouton et la chèvre (10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}), sous volume de 0,25 ml, selon le schéma du titrage classique d'HENDERSON (9) pour le virus aphteux ; en outre, deux points à 10^{-2} ont été inoculés à la partie supérieure de l'organe :

— par voie coronaire, au bourrelet chez le Porc, sur un bipède latéral en cinq points, avec 1 ml par membre à 10^{-2}, inséré sous la corne de la face latérale de l'onglon ;

— par voie intradermoplantaire chez le cobaye (lignée albinos K, sujets de 400 g), avec 0,1 ml de suspension virulente à 10^{-2} ;

— par voie intracérébrale à la souris (lignée CF1, sujets de 22 g) ou au souriceau âgé de deux jours, à la dose de 0,03 ml à 10^{-2}.

La spécificité des lésions fut contrôlée par la virologie (subinoculation au cobaye et à la souris) et par la sérologie spécifique et aphteuse (fixation du complément, BROOKSKY, 2). En outre, la virémie fut recherchée sur le cobaye.

Enfin, vers la cinquième semaine suivant l'inoculation, la réinoculation virale à la plus faible dilution permit de révéler l'état d'immunité post-infectieuse et la relance sérologique.

2. — RÉSULTATS

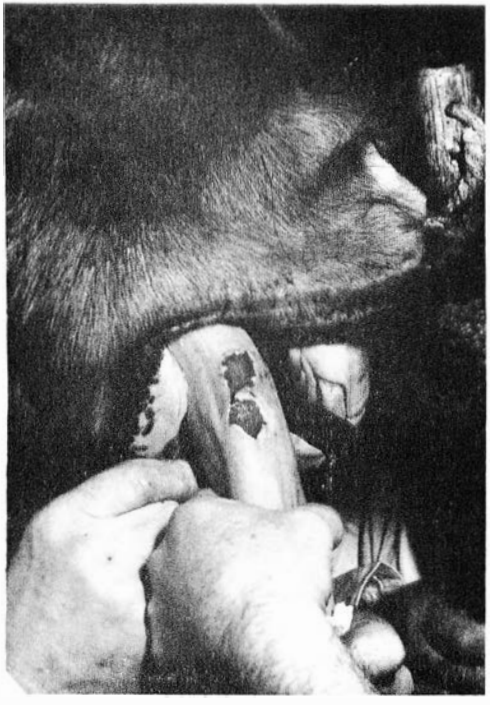
Les divers animaux ont réagi positivement, mais en révélant des différences assez considérables et quelquefois surprenantes.

1° *Cheval.* — Sans pic fébrile ni virémie appréciable, sans lésions podales ni symptômes nerveux, les vésicules, encore inapparentes à la 24e heure, se développent complètement en 48 heures (Photos n° 1), puis se rompent le jour suivant. Le titre obtenu est de $10^{5,3}$/ml. En outre, les vésicules n'apparaissent pas aux points inoculés à 10^{-2}, montrant ainsi, à faible dilution, un éventuel phénomène d'inhibition des virions infectants par des particules incomplètes interférantes.

Les titres du sérum en FC', en inverses des dernières dilutions sériques positives, passent de 0 (2e, 4e, 6e jour) à 4 (15e jour), pour dépasser 64 lors de la réinoculation, demeurée inopérante (immunité).

Le cheval contact ne présente ni lésion, ni conversion sérologique.

2° *Bovin.* — Sans pic fébrile, sans lésions secondaires podales ou mammaires, une virémie très précoce (2e jour), mais éphémère (nulle le 5e jour) est révélée. Les vésicules sont déjà palpables à la 24e heure, et rompues à la 48e heure (Photo n° 2), laissant



PHOTOS nº 1. — Stomatite vésiculeuse contagieuse expérimentale du cheval. A gauche, vésicules le 2e jour. A droite, rupture des vésicules le 3e jour. (Titrage d'*Henderson* par voie intradermolinguale en 5 séries d'inoculation de 5 points par dilution, de 10^{-4} à 10^{-8}.)

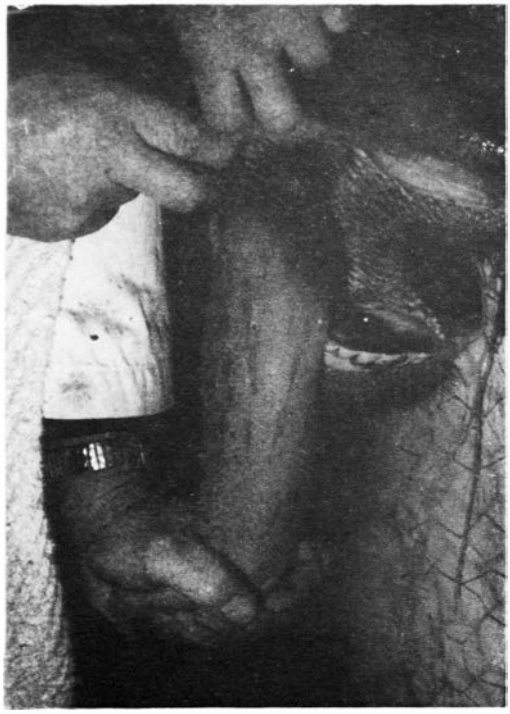


PHOTO n° 2. — Stomatite vésiculeuse contagieuse expérimentale de la vache. Titrage identique, lésions vésiculaires déjà rompues le 2e jour.

à nu un chorion encruenté. Le titre obtenu est 10^4/ml et les points inoculés à faible dilution (10^{-2}) réagissent et ne montrent pas de phénomène d'interférence.

Le bovin contact, en dépit des lésions et de la virémie du sujet inoculé, ne présente ni lésion, ni conversion sérologique, alors que les titres en FC′ de l'animal inoculé sont de 0 (2e jour), 0 (4e jour), 32 (15e jour) après réinoculation du virus, sans lésions.

3° *Mouton.* — Sans réaction générale ni thermique, la virémie est précoce (2e jour) et s'annule dès le 5e jour. Apparues le 2e jour, les vésicules spécifiques sont à nu le 3e jour et le titre du virus s'établit autour de $10^{5,5}$/ml (Photos n° 3). Le sujet contact ne présente ni lésion ni réaction sérologique.

Enfin, les titres en FC′ sont successivement de 8 (6e jour), puis de 64 (2e semaine) et montent encore à la suite de la réinoculation.

4° *Chèvre.* — En l'absence de réaction fébrile, la virémie est précoce (2e jour) et disparaît le 6e jour. Les vésicules évoluent comme chez le mouton, mais le titre infectieux s'abaisse à $10^{1,5}$/ml (moyenne sur deux sujets) (photos n° 3).

La chèvre contact demeure sans réaction, et les titres sérologiques montent à 4 le 6e jour, à 32 la deuxième semaine, pour dépasser 64 après réinoculation virale vers la cinquième semaine.

5° *Porc.* — Sans pic fébrile accusé (0°8 d'augmentation le 2e jour), sans extension lésionnelle à la muqueuse buccale, la virémie est très précoce (2e jour) et très éphémère (faible le 3e jour, nulle le 4e jour). Le bipède inoculé révèle le 2e jour un décollement latéral de l'onglon et des vésicules sur le bulbe du talon (photo n° 4), le bipède symétrique demeurant indemne en dépit de la virémie. Les lésions se cicatrisent en 5 à 7 jours. Aucun phénomène d'interférence ne se manifeste à faible dilution chez cette espèce par voie coronaire.

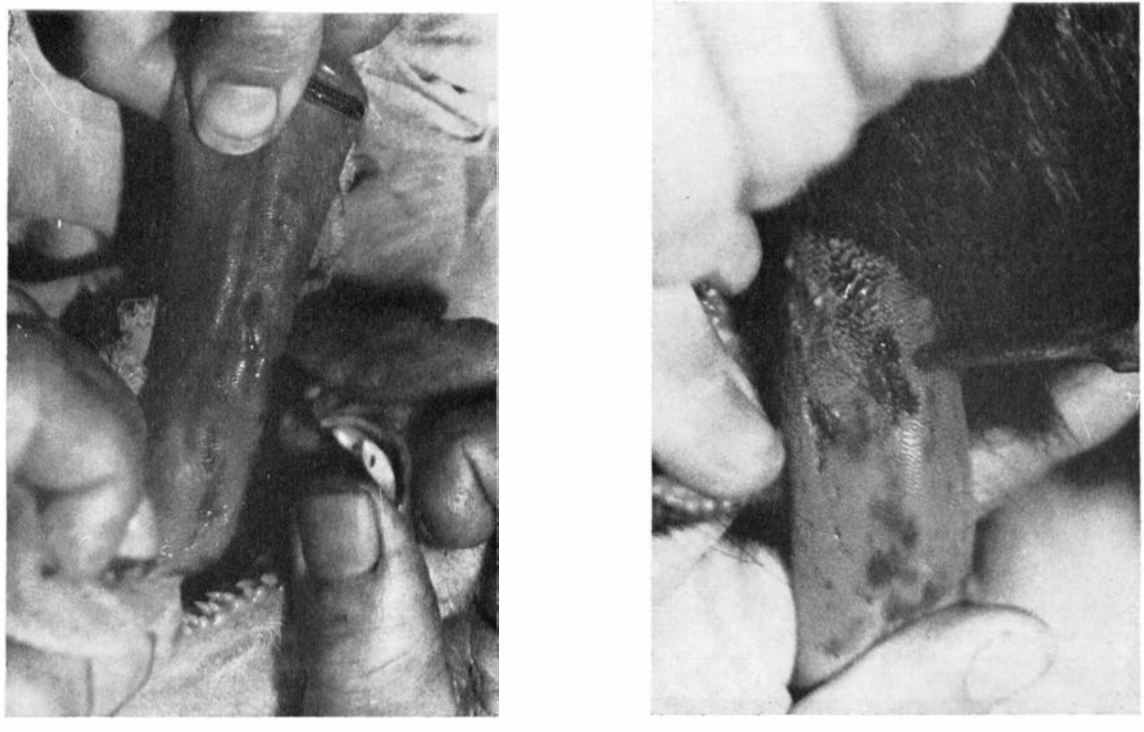
Le porc contact, en dépit de la virémie et des lésions du sujet inoculé, ne présente ni lésions ni conversion sérologique, alors que les titres en FC′ de l'animal inoculé sont de : 0 (2 e au 6e jour), à 32 (3e semaine), et dépassent 64 après réinoculation virale tardive.

6° *Cobaye.* — La culture virale initiale ne s'est pas montrée pathogène pour le cobaye malgré 8 passages aveugles opérés tous les 4 à 5 jours à partir du derme plantaire surmontant le point d'inoculation. En revanche, le retour au cobaye du virus provenant de broyats d'épithélium lingual de cheval et de bovin, de derme podal de porc ou de sérum de cheval, de bovin ou de porc inoculés (étude de la virémie) a été régulièrement suivi de lésions aphtoïdes après 48 heures d'incubation (photo n° 5).

7° *Souris.* — Ni souris adultes, ni souriceaux à la mamelle, inoculés par voie intracérébrale n'ont réagi à la culture virale initiale, alors que les souriceaux meurent cinq jours en moyenne après l'inoculation d'un broyat virulent de retour du cheval, du bovin ou du porc, les adultes ne réagissant pas.

Aucune lésion musculaire ou cardiaque ne s'est révélée à l'autopsie, après abattage, vers la dixième semaine, des animaux inoculés des diverses espèces.

Il en ressort que la souche de S. V. C. étudiée révèle une forte pathogénicité résiduelle vis-à-vis des espèces spontanément réceptives (cheval, bovin, porc), alors que l'inverse est enregistré chez le cobaye, cependant réputé très sensible et excellent révélateur de laboratoire, comme le prouve le succès des inoculations de retour à partir des vésicules de cheval, de bovin ou de porc.



PHOTOS nº 3. — Stomatite vésiculeuse contagieuse expérimentale du mouton et de la chèvre. Titrage identique, mais réduit à deux points par dilution et en 5 séries de 10^{-1} ou 10^{-2} à 10^{-5} ou 10^{-6}. Aspect des séries le 3e jour chez le mouton (à gauche) et chez la chèvre (à droite).

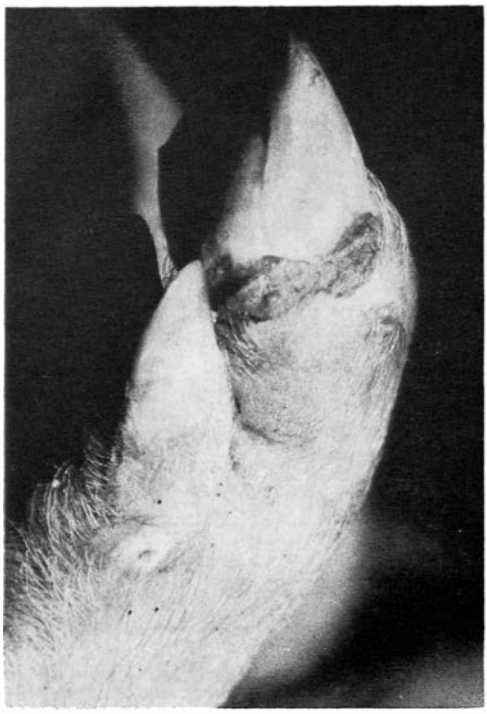


PHOTO nº 4. — Stomatite vésiculeuse contagieuse expérimentale du porc. Inoculation au bourrelet unguéal ; aspect le 2e jour avec décollement latéral de l'onglon et vésiculation du bulbe du talon.

CONCLUSIONS

1) Le virus de la stomatite vésiculeuse contagieuse (sérotype Indiana), à l'étude dans de nombreux laboratoires de virologie fondamentale, présente un pouvoir pathogène résiduel considérale pour l'animal spontanément réceptif (cheval, bovin, porc), en dépit du nombre élevé de subcultures cellulaires directes, sans retour à l'animal.

2) Après inoculation intradermolinguale chez le cheval et le bovin, et après inoculation coronaire dans le bourrelet du porc, les lésions vésiculeuses spécifiques, très semblables à celles de la fièvre aphteuse, se développent en 24 ou 48 heures et se cicatrisent 3 à 6 jours après leur apparition. La réponse fébrile est faible ou

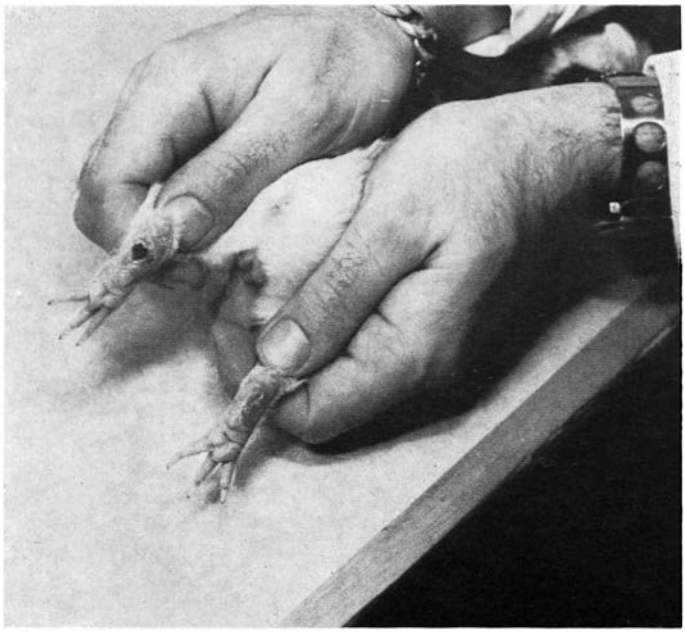


PHOTO n° 5. — Stomatite vésiculeuse contagieuse expérimentale du cobaye. Inoculation par voie intradermoplantaire; aspect le 2e jour.

nulle, mais une virémie précoce et brève est constatée chez le bovin et le porc.

3) La conversion sérologique en fixation du complément est nette et se prolonge dans le temps. Elle présenterait éventuellement un grand intérêt diagnostique comparatif par rapport à la sérologie aphteuse, dans les cas d'une épizootie concurrente de stomatite.

4) Le mouton et la chèvre réagissent aussi nettement que les autres herbivores, mais le titre viral paraît plus faible chez la chèvre que chez les autres espèces.

5) En revanche, la culture virale initiale s'est montrée sans effet à l'inoculation intradermoplantaire chez le cobaye et intracérébrale chez la souris ou le souriceau, animaux de laboratoire cependant très sensibles puisque l'inoculation d'un broyat des lésions obtenues chez le cheval, le bovin ou le porc s'est révélée opérante.

6) Aucun des animaux contact (cheval, bovin, porc en particulier) n'a présenté de lésions ni de conversion sérologique, en dépit des vésicules hautement virulentes et de la virémie constatée chez les sujets inoculés, en accord avec la transmission naturelle essentiellement vectorielle du virus.

7) Le virus de la stomatite vésiculeuse pourrait donc éventuellement diffuser hors de certains laboratoires de recherches, et une telle importation, du reste en principe strictement réglementée, risquerait de se muer en épizootie dans certaines régions de France, riches en vecteurs appropriés : toutes précautions doivent ainsi être respectées dans le transport et la manipulation de ce virus, par ailleurs transmissible à l'homme, disséminateur éventuel.

Ecole Nationale Vétérinaire,
Service des Maladies Contagieuses, INRA,
69337 Lyon Cedex 01
(Professeur Joubert)
et Laboratoire de Virologie Animale
de la Direction des Services Vétérinaires
au Ministère de l'Agriculture
69342 Lyon Cedex 02
(Directeur : Professeur Lucam).

BIBLIOGRAPHIE

1. Boquet (A.). — Stomatite vésiculeuse *in* Levaditi (C.), Lepine (P.) et Verge (J.). — Les ultravirus des maladies des animaux. Maloine éd. Paris, 1942, p. 355-373.
2. Brooksby (J. B.). — Alc. Rep. HMSO ser. 12 Lond. 1952.
3. Correa (W. M.). — *Am. J. Vet. Res.*, **25,** 1964, p. 1300.
4. Cotton (W. E.). — *J. A. V. M. A.*, **70,** 1962, p. 168. *Vet. Med.*, **22,** 1927, p. 169.
5. Curasson (G.). — Maladies infectieuses des animaux domestiques, Vigot éd. Paris, 1946, p. 189-193.
6. Ellis (E. M.), Kendall (H. E.). — *J. A. V. M. A.*, **144,** 1964, p. 377.
7. Hagan (W. A.), Bruner (D. W.). — Comstock Publ. Comp. Inc. Ithaka, New York, 1951.
8. Hanson (R. P.). — *Bact. Rev.*, 1952, p. 179.
9. Henderson (W. M.). — The quantitative study of FMD Virus. — *Virus Agric. Res.* Council Rep. Sér. nº 8, HMSO Lond., 1949.
10. Howatson (A. F.). — *Advances in virus research*, **16,** 1970, p. 195-265. Acad. Press. N. Y. Lond.
11. Hutyra (F.), Marek (J.), Manninger (R.). — Special Pathology and Therapeutics of the diseases of domestic animals. Baillère éd. Lond., 1949, p. 434-436.
12. Mac nutt (S. H.). — *In* Fincher, Gibbons, Mayer, Park, Diseases of cattle. Evanston, 1956, p. 634.

13. MARTINEZ (C. R.), CASTANEDA (J. G.). — *Bull. Off. Intern. Epiz.*, **70,** 1968, p. 1.
14. RADELEFF (R. D.). — *Vet. Med.*, **44,** 1949, p. 494.
15. SCHMIDT (D.), LIEBERMANN (H.). — Stomatite vésiculeuse *in* RÖHRER (H.), Traité des maladies à virus des animaux. Ed. Fr. Vigot Paris,1971, Tome 2, p. 669-696.
16. SUDIA (W. D.), FIELDS (B. N.), CALISHER (C. H.). — *Am. J. Epidem.*, **86,** 1967, p. 596.
17. THEILER (A.). — *Dt. Tierärztl. Wschr.*, **9,** 1901, p. 131.

A l'issue de la séance l'Académie se réunit en Assemblée Générale (comité secret) pour approuver les comptes de l'exercice prononcés en 1972.

Le Gérant : C. BRESSOU

21328 — Imp. JOUVE, 17, rue du Louvre, 75001 PARIS. — 6-1973
Dépôt légal : 2e trimestre 1973