

Identification, au microscope électronique, d'un Myxovirus isolé d'une lésion de pneumonie du veau

par A. BERKALOFF, P. FAYE, et A. CHARTON

Certains caractères d'un virus (souche PV 4), isolé à partir d'une lésion de pneumonie du veau et cultivé sur cellules de rein de veau embryonnaire de première explantation, ont fortement suggéré, dès les premiers passages, son appartenance au groupe des Myxovirus : hémadsorbant et hémagglutinant pour les hématies humaines O Rh +, légèrement hémolytique, sensible à l'éther, provoquant fréquemment la formation de cellules géantes à cytoplasme syncytial intensément fluorescent en rouge-orange en lumière U. V. après imprégnation par l'acridine orange, labile à pH 3, labile à 56°, le virus PV 4 se comportait, en effet, en première approximation, comme un ribovirus à enveloppe.

Les propriétés hémadsorbantes du virus permettant sa purification et sa concentration, la détermination en microscopie électronique, dès les premiers passages, de ses caractères morphologiques (taille et structure des virions), a paru possible.

* * *

Le virus utilisé dans cette expérimentation provient d'une première réserve constituée, au troisième passage, par le liquide de culture de la souche PV 4, sur rein de veau embryonnaire en boîtes de Roux Pyrex de 600 ml (300 ml environ). Débarrassé des débris cellulaires par centrifugation à 1.500 g à + 4° C, après congélation à - 35° C et décongélation, ce liquide contient 10⁴ DI 50 par ml.

Le virus est partiellement purifié et concentré par hémagglutination-élution sur hématies humaines O Rh +. Le titre hémagglutinant de la suspension concentrée, obtenue par élution en soluté physiologique additionné de tampon phosphates 0,05 M, de volume égal au 1/16 du volume initial du liquide de culture utilisé pour l'hémadsorption, dépasse 1/256 (hémagglutination totale à 1/256, partielle à 1/512).

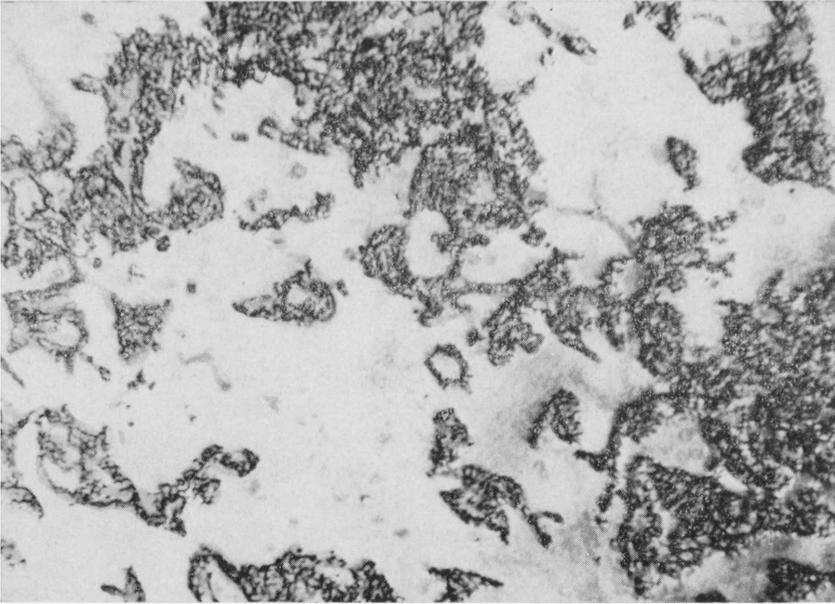


FIG. 1. — Hémathadsorption — 60^e heure.
La totalité des cellules encore collées au verre (1/4 du voile environ)
adsorbe les hémathies O Rh +.

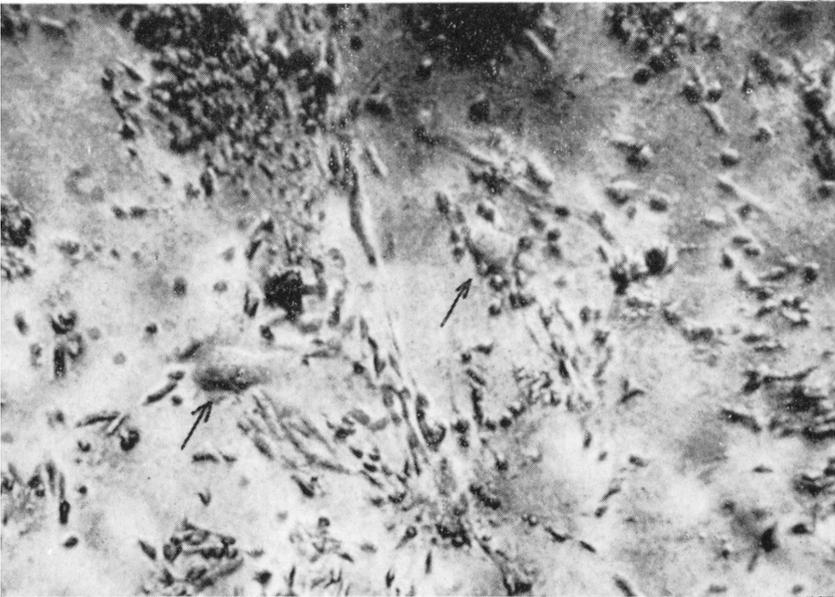


FIG. 2. — Lésions syncytiales : le volume de chacune des deux cellules géantes
indiquées par les flèches est 20 à 30 fois supérieur
au volume d'une cellule normale.

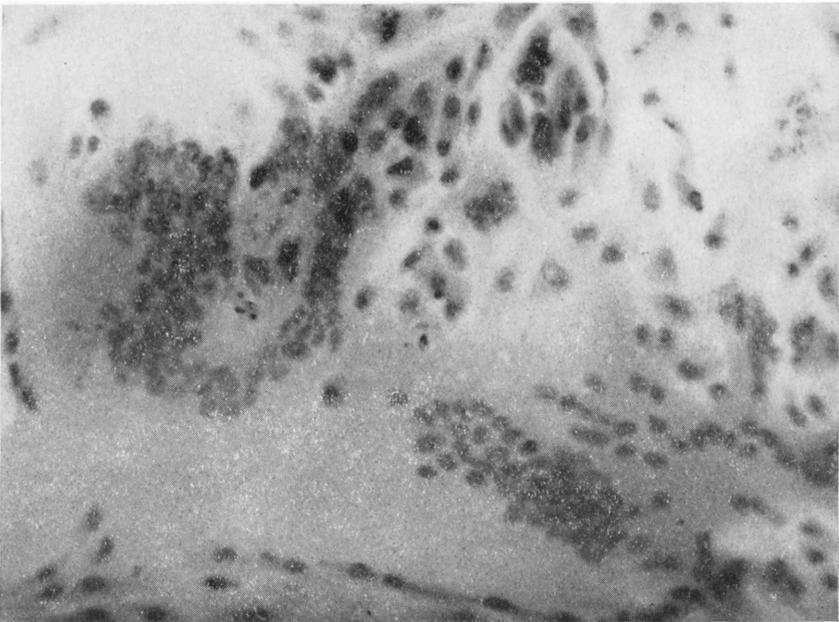
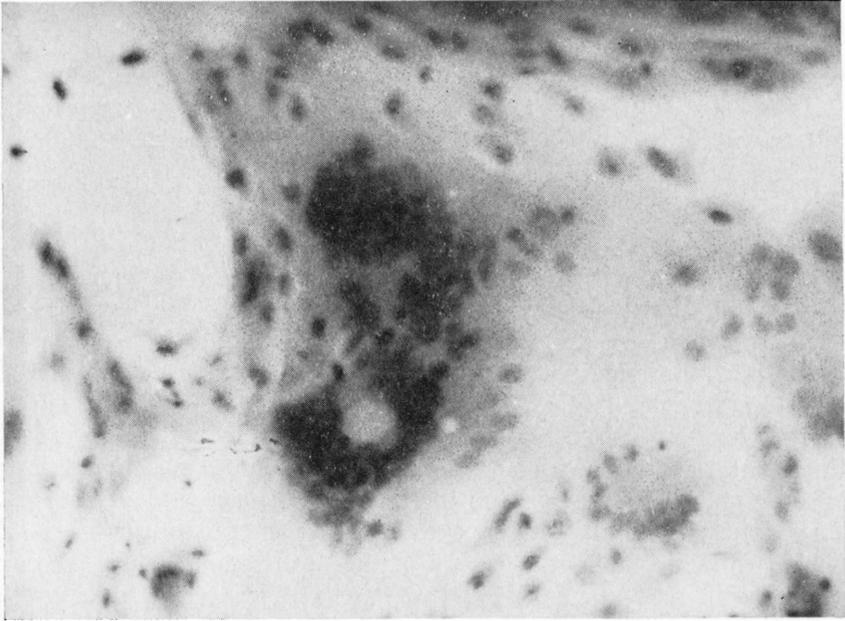


FIG. 3. — Différents types de lésions syncytiales.

L'un des deux culots obtenus par centrifugation de cette suspension concentrée, à la centrifugeuse Spinco refroidie à $+ 4^{\circ}$ C sous 30.000 g, est utilisé pour la microscopie électronique.

L'examen a été effectué en « coloration négative » au phosphotungstate de potassium à pH 6,4, au microscope électronique Philips E M 200.

* * *

Malgré l'insuffisance d'une purification limitée à un seul cycle d'hémagglutination-élution, qui laisse subsister de nombreux débris cellulaires et fragments d'hématies (fig. 1), la fréquence des virions ou fragments de virions est suffisante pour permettre une observation assez complète du virus : de forme générale arrondie, mais irrégulière, les virions ont une taille variable (150 à 250 m μ) ; ils présentent une enveloppe à la surface de laquelle on observe, assez régulièrement disposés, les spicules caractéristiques de l'enveloppe des Myxovirus. La nucléocapside libérée par rupture de l'enveloppe est hélicoïdale. Le pas de l'hélice est compris entre 40 et 60 Å tandis que son diamètre est d'environ 170 Å (fig. 2).

* * *

Si ses caractères d'hémadsorption, d'hémagglutination, d'hémolyse, de labilité à l'éther peuvent être ceux d'un Myxovirus, ils ne suffisent pas cependant pour que l'on puisse affirmer que le virus PV 4 appartient à ce groupe.

Par contre, les caractères morphologiques, tels qu'ils apparaissent au microscope électronique, sont sans équivoque : d'une part, la nature de l'enveloppe, la disposition, à l'intérieur de celle-ci, de la nucléocapside sont celles d'un Myxovirus ; d'autre part, la mesure du diamètre (160 à 170 Å) de la nucléocapside, double de celui de la nucléocapside des virus du sous-groupe 1 de WATERSON (Influenza : 80 à 90 Å) apparente la souche PV 4 aux membres du sous-groupe II et voisins. Une étude plus poussée des propriétés biologiques de cette souche, et en particulier de ses relations sérologiques, est nécessaire (et d'ailleurs en cours) pour définir son type.

* * *

Conclusions.

L'isolement à partir d'une lésion pulmonaire du veau, d'un Myxovirus (dont le rôle étiologique reste à préciser) paraît avoir

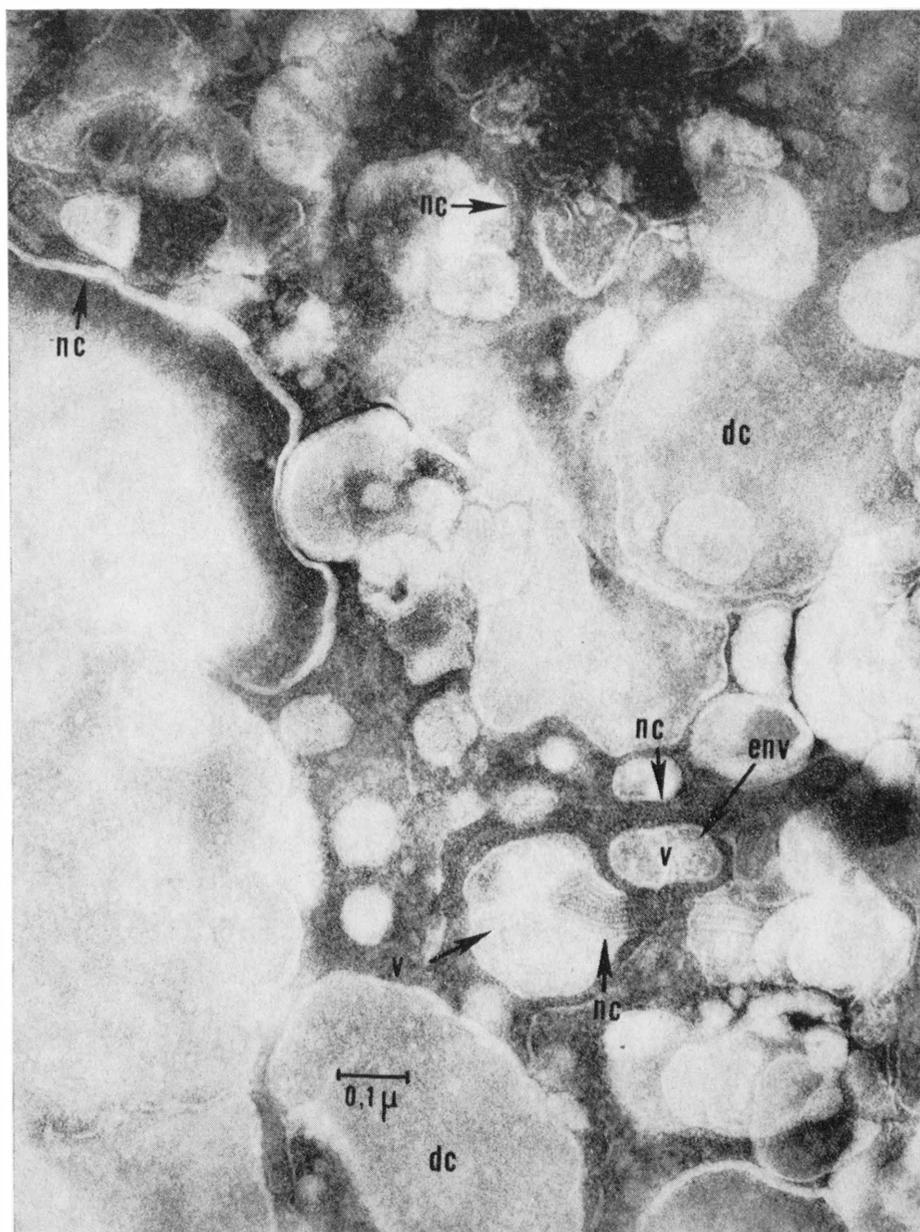


FIG. 1. — La préparation, malgré l'abondance des débris cellulaires (dc) permet de distinguer deux virions (v) de forme générale arrondie et de tailles très différentes. L'enveloppe (env.) est nettement visible sur le plus petit. Plusieurs fragments de nucléocapsides (nc) apparaissent entre les débris de cellules et d'hématies.

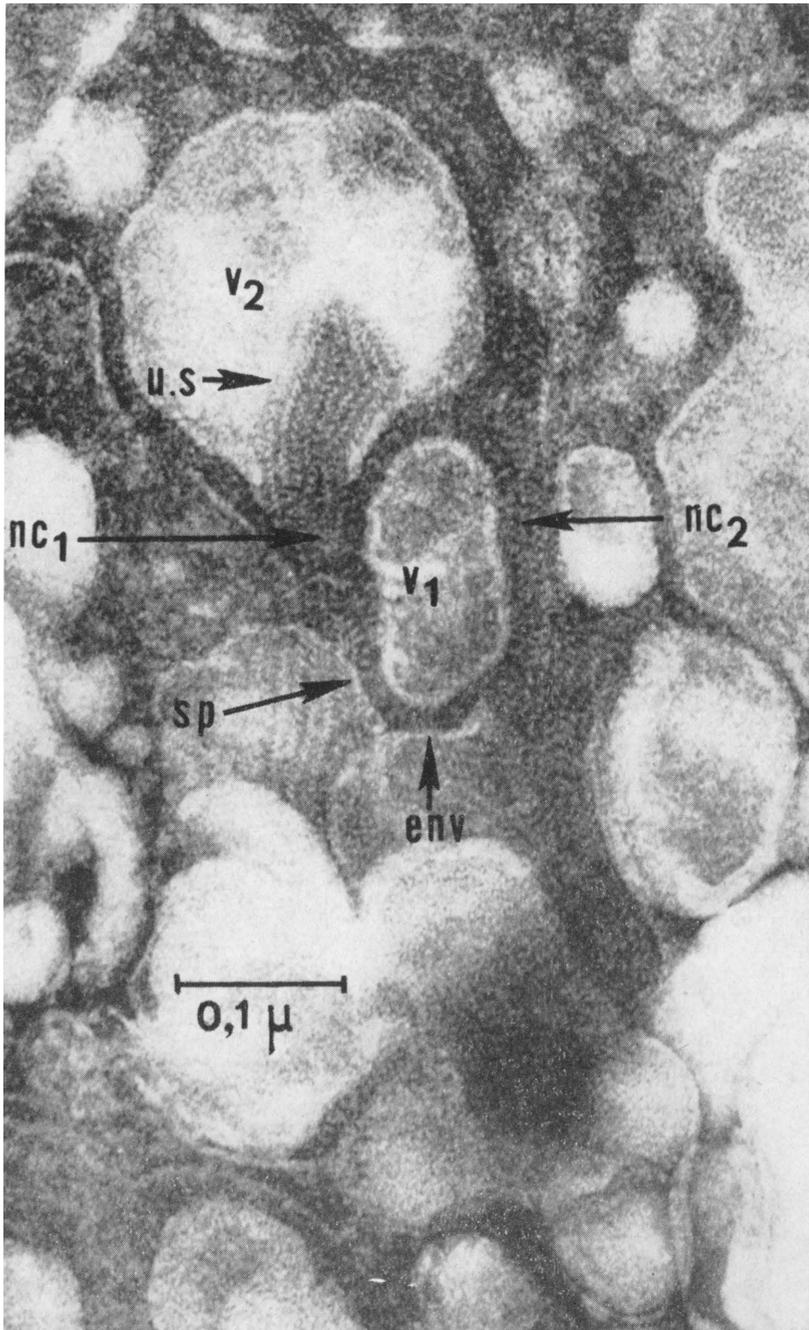


FIG. 2. — L'enveloppe (env) du virion v_1 montre (sp) les pédicelles caractéristiques.

Autour du virion v_1 , nucléocapsides (nc_1) (nc_2) dont l'une (nc_1) paraît issue du virion éclaté v_2 .

Les unités de structure (us) sont, par endroit, particulièrement lisibles, et permettent une mesure précise (nc_1).

au moins l'intérêt d'apporter un nouveau moyen d'étude, en France, du problème général des pneumopathies du veau.

Il semble important aussi de souligner l'intérêt incontestable qu'apporte, dans l'identification d'une souche de virus, la microscopie électronique: en précisant rapidement, dès les premiers passages, les caractères morphologiques univoques qui, dans les classifications actuelles, définissent les groupes et, partiellement, les sous-groupes, elle permet — au moins en ce qui concerne les Myxovirus — un considérable gain de temps, en même temps qu'elle oriente, d'emblée, de multiples hypothèses de travail.

*Laboratoire de la Chaire de Pathologie de Bétail
de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort (I. N. R. A.).
Laboratoire de Synthèse atomique et d'optique protonique
du C. N. R. S., Ivry, Seine.*
