

Des divers types de virus aphteux souches pures et « mutations »

par H. GIRARD, C. MACKOWIAK, R. CAMAND, L. JOUBERT et P. GORET

La notion de pluralité du virus aphteux, avancée par VALLÉE et CARRÉ (1), a été largement confirmée. Les méthodes de l'immunisation croisée active, de la séro-neutralisation et, plus récemment, de l'identification sérologique *in vitro* — dont une étude vient d'être faite par l'un de nous (2) — ont établi formellement l'existence de trois types distincts et de caractères bien définis.

Cette notion de la pluralité des types s'est cependant compliquée, ces dernières années, par la mise en évidence, dans un type donné, de « variantes » du même type. Ces variantes répondent sérologiquement à la réaction du groupe. Leur individualité peut s'établir à l'aide du sérum spécifique. Immunologiquement, ces « variantes » se caractérisent par leur pouvoir de rompre l'immunité des animaux vaccinés avec des virus du même type dans un pourcentage qui peut atteindre jusqu'à 30 pour 100 d'un effectif. Toutes les variantes « sérologiques » sont loin cependant d'avoir leur correspondance « immunologique » et l'on relève aussi (3) des « dominantes » antigéniques (O2 > O1 et O3) comme des « dominantes » de type (O2 > A4, A4 > O1). Ces variantes se cultivent à l'état pur.

Certains auteurs (4) admettent que ces variantes, connues ou encore inédites, résultent de la transformation du virus initial chez des sujets investis d'une immunité correspondante insuffisante pour juguler totalement l'atteinte du virus, mais susceptible de modeler partiellement celui-ci. Cette transformation est souvent assimilée à une « mutation » en dépit de notre ignorance complète du mécanisme intime du phénomène. Au cours des contrôles d'efficacité des vaccins fabriqués à l'I.F.F.A., il nous a été donné de constater des faits qui paraissent au premier abord en imposer pour une mutation des types de virus. Nous rendons compte de l'expérimentation poursuivie à partir de ces observations et qui aboutit à une conclusion toute différente.

I. — Observations

1. *Mars 1952.* — Des bovins, en principe solidement immunisés vis-à-vis du virus variante A4, sont éprouvés par inoculation du même virus : ils ne révèlent aucune immunité et développent une fièvre aphteuse généralisée. On conclut à l'inefficacité du vaccin. Frappés par la haute valeur immunisante, vis-à-vis des types homologues, de vaccins types O et C, préparés de la même façon et à la même date, nous nous attachons à identifier le virus ayant provoqué l'infection des sujets éprouvés et qui devait être du type variante A4. Or, le virus se révèle être du type O (identification sérologique). Puisque le vaccin n'est pas en cause, la question se pose d'une « mutation » possible du virus.

2. *7 avril 1952.* — On éprouve l'efficacité d'un vaccin type variante A7 (UBERTINI) — très actif vis-à-vis du virus d'épreuve A7 — en regard d'une épreuve par une souche sérologiquement pure de virus A4. Tous les animaux développent une fièvre aphteuse généralisée. Le virus récolté sur les sujets réagissants se révèle être du type O, et non du type A4 comme on pouvait s'y attendre. Une « mutation » peut encore être incriminée.

3. *24 avril 1952.* — Même observation : animaux immunisés par un vaccin de type C. Epreuve par virus sérologiquement pur de type C (souche Ste Vertu) : fièvre aphteuse généralisée. Identification du virus en cause : A7 pur. Y a-t-il encore mutation ?

II. — Expérimentation

La théorie de la « mutation » des types de virus ne nous satisfaisant pas, nous nous demandons si nous ne sommes pas en présence de souches « souillées » par la présence d'un type différent que ne décèle pas la déviation du complément. Une expérimentation en trois temps est entreprise :

A) IDENTIFICATION SÉROLOGIQUE COMPLÈTE DES SOUCHES.

Elle est pratiquée en utilisant des sérums spécifiques de diverses origines.

a *Identification de la souche d'épreuve (souche C, Ste Vertu).*

Résultats :

	Sérums			
En présence des sérums d'origine allemande	C	+	+	+
	A7	o	o	o

En présence des sérums d'origine italienne	C	+	+	+	+
	A7	o	o	o	o
En présence des sérums d'origine hollandaise . . .	C	+	+	+	±
	A7	+	+	o	o

b) *Identification de la souche récoltée après épreuve :*

	Sérums				
En présence des sérums d'origine allemande	C	o	o	o	o
	A7	+	+	o	o
En présence des sérums d'origine italienne	C	o	o	o	o
	A7	+	+	+	+
En présence des sérums d'origine hollandaise . . .	C	o	o	o	o
	A7	+	+	+	+

Le sérum d'origine hollandaise, sans doute plus sélectif, révèle donc dans le virus d'épreuve des traces de virus A7 que les autres sérums ne décèlent pas.

c) *Identification sérologique d'une souche souillée :*

En confirmation des résultats précédents nous avons, pour notre part, inoculé une souche A7, souillée de O, à 38 bœufs certainement indemnes de fièvre aphteuse et, selon toute vraisemblance, exempts d'infection latente puisqu'en provenance directe d'Irlande et mis en expérimentation après un isolement prolongé. Au départ, cette souche était sérologiquement du type A7. Nous avons procédé à l'identification sérologique de chacun des virus prélevé sur toutes les langues aphteuses. Le tableau I rapporte les résultats de ce contrôle. *Ils montrent qu'à côté du type A7 on trouve du virus O sérologiquement pur et certains types mixtes.*

B) PRÉPARATION DE VACCINS A PARTIR DE SOUCHES SÉROLOGIQUEMENT PURES, MAIS « SUSPECTES DE SOUILLURES ». RECHERCHE DE LEUR SPÉCIFICITÉ. ÉPREUVE PAR UNE SOUCHE SOUILLÉE.

a) On prépare deux vaccins à partir d'une souche A4, sérologiquement pure, mais que nous supposons souillée par du virus O, soit :

- 1° un vaccin monovalent A4;
- 2° un vaccin bivalent A4-O.

Tous les bœufs vaccinés avec l'un ou l'autre de ces vaccins sont éprouvés avec la même souche A4. Les bœufs, vaccinés avec le vaccin bivalent A4-O, accusent des réactions bénignes limitées aux aphtes d'inoculation, qui sont d'ailleurs du type A4. Les

bœufs ayant reçu le vaccin monovalent A4 contractent la fièvre aphteuse. Le virus des aphtes récoltés est du type O. *Le vaccin monovalent, cependant souillé n'a donc point protégé contre la souche d'opération. Mais, en revanche, le vaccin bivalent assure une protection vis-à-vis de la même souche.*

b) Le 22 août 1952, nous recherchons la valeur immunisante d'un certain nombre de vaccins bivalents dont trois O2 et A7, et deux A7 et C. 14 bœufs vaccinés sont éprouvés avec le virus A7 supposé souillé. Les 8 bœufs vaccinés contre A7 et C développent une fièvre aphteuse généralisée. Les 6 bœufs vaccinés contre O2 et A7 ne réagissent pas. Le virus recueilli après l'épreuve sur les réagissants est du type O.

C) PURIFICATION D'UNE SOUCHE SOUILLÉE.

a) *La séro-neutralisation* fut tentée sur bovins et nous avons procédé à deux essais :

1° Le virus A7, souillé de O, est additionné de 1/10^e de sérum anti O. Le contact dure trois heures. Le mélange est inoculé dans la langue d'un bœuf. L'identification du virus des aphtes par la réaction de fixation du complément donne :

$$\begin{aligned} \text{A7} &= + + + + \\ \text{O} &= + \text{o} \text{o} \text{o} \end{aligned}$$

2° Le même virus est broyé et mélangé dans les proportions suivante :

Broyat d'aphtes	1	g
Solution tampon	2,5	cm ³
Sérum anti O	0,25	cm ³

Le mélange est conservé à la glacière durant vingt-quatre heures. Il est alors dilué au 1/100^e par Q.S. de solution tampon et inoculé à un bœuf. La récolte d'aphtes donne à la lecture de la fixation du complément :

$$\begin{aligned} \text{A7} &= + + + + \\ \text{O} &= + + + + \end{aligned}$$

Les essais de purification par séro-neutralisation ont donc échoué.

b) *Epreuve d'infection après vaccination.* — Les résultats furent plus concluants.

1° On vaccine 3 bœufs avec un vaccin monovalent anti O. Le premier animal est éprouvé par un mélange de 50 pour 100 de

virus A7 pur et de virus O pur, inoculé en intralingual. Les aphtes recueillis sur l'animal ainsi éprouvé donnent :

$$\begin{aligned} \text{A7} &= + + + + \\ \text{O} &= + 0 0 0 \end{aligned}$$

2° Ces mêmes aphtes sont inoculés au second bœuf vacciné. La déviation du complément effectuée sur la récolte d'aphtes prélevés sur cet animal *ne met en évidence que le virus A7*.

3° Pour plus de sécurité, ce dernier prélèvement est injecté au troisième bœuf vacciné. Depuis, la souche est considérée comme pure. Les multiples passages effectués sur des animaux réceptifs n'ont jamais permis d'identifier que le virus A7 tandis que l'épreuve, avec cette souche, d'animaux vaccinés contre A7, n'a jamais décelé la présence d'une trace de virus O.

III. — Discussion et interprétation des résultats

Une étude déjà ancienne de MANNINGER et LASZLO (5) semblait établir « la transformation effective » d'un type de virus en un autre. Ces auteurs pensaient que, bien que « les causes et les circonstances qui conditionnaient l'apparition d'une variation soient alors complètement inconnues », il convenait d'admettre que « les types des virus aphteux n'étaient pas fixes et qu'ils représentaient des modifications évolutives dont le type O est seul relativement bien fixé et que c'est vers ce dernier que, d'après l'expérience, la variation se dirige habituellement ».

Il est permis de dire actuellement que cette évolution vers le type O n'est point fatale. UBERTINI (6) a en effet montré que, dans la substitution des types les uns au profit des autres, on constate la dominance de A4 sur O1. Par ailleurs, les moyens d'identification des types de virus ont singulièrement progressé et il n'est nullement démontré que les chercheurs n'aient point à l'époque travaillé avec des virus souillés à l'origine. La même critique peut être faite aux essais de MICHELSEN (E.) et MIKKELSEN (K.) (7) qui ont rapporté un changement de type dans le virus de la fièvre aphteuse après dessiccation.

Les travaux d'UBERTINI (8) sont en outre très suggestifs. Pour cet auteur, le remplacement des types A et C par le type O, à la suite de passages en série, n'est dû qu'à une contamination d'origine exogène liée à la rapidité différente de développement propre à chaque type de virus et non à une contamination endogène.

*

**

A la lumière de ces faits et de nos propres expériences, pouvons-nous prétendre que des mutations de virus ne s'observent point dans la nature ? Loin de nous une telle pensée « Les observations sur les mutations des souches de la fièvre aphteuse » faites par DEMNITZ et SCHNEIDER (9) semblent même apporter la preuve inverse, sans cependant que toutes les précautions aient été prises — elles n'ont du moins pas été rapportées — pour s'assurer de la pureté de la souche inoculée lors de la vingt-troisième inoculation.

Quoi qu'il en soit, nous ne pensons pas que la preuve de l'existence de ces mutations — aussi séduisante soit-elle — ait été apportée. En revanche, il sera nécessaire désormais, lorsqu'on fera appel à de telles transformations, d'apporter la preuve que les souches employées n'étaient point souillées. Ce problème avec illustration des erreurs de UHLENHUT et de SOBERNHEIM, se rapproche de très près de celui que posait naguère la différenciation des types antigéniques de *Salmonellas*, à une époque où la technique bactériologique était encore rudimentaire. Au surplus, si l'existence, *dans la nature*, et non plus seulement au laboratoire, de souches « spontanément » souillées était décelée, elle rendrait compte, aussi bien que l'hypothèse des mutations, de faits relatifs aux échecs de vaccination que ne peuvent toujours expliquer une insuffisance ou un manque de spécificité du vaccin.

Cette éventuelle possibilité entraîne donc la nécessité d'une identification poussée au maximum des souches de virus recueillies dans les foyers infectés.

Conclusions

1° Nos observations, confirmant des travaux antérieurs (8), permettent d'affirmer l'existence de souches souillées non identifiables par la sérologie et que l'on peut schématiser en souche Ao (grand A et petit o), souche Ca.

2° Ces souches ne vaccinent point contre elles-mêmes car les traces de virus de *souillure* qu'elles contiennent, si elles sont en quantité suffisante pour déclencher l'infection correspondante, ne le sont plus pour assurer la protection contre le virus de souillure.

3° La réaction sérologique présente un seuil de sensibilité qui, lors de mélange de deux types, peut déceler jusqu'à 10 pour 100 de souillure, selon BROOKSBY (10). Il faut en tenir compte et

demander aux épreuves d'immunité et aux passages en série de la compléter.

4° La séparation des divers types de virus aphteux, en vue de l'obtention de *souches pures*, reste du domaine des possibilités pratiques.

5° La culture et l'entretien des *souches pures* restent à la base de toute prophylaxie.

6° Avant de songer à l'induction d'une *mutation* d'un type de virus en un autre, il conviendra dorénavant, grâce à une technique minutieuse, d'apporter la preuve de la *pureté de la souche* d'origine qui ressortit à la seule *sélection*.

(Travail de l'Institut Français de la Fièvre Aphteuse.)

TABLEAU I

Identification sérologique d'aphtes récoltés à la suite de l'inoculation d'un virus A7 souillé de 0.

Bœuf n°	Sérum Anti-A7	Sérum Anti-0	Bœuf n°	Sérum Anti-A7	Sérum Anti-0
1	++++		20	++++	
2	+±		21	+	+
3	++++		22	+	+
4	++++		23	+	+
5	++++		24	+	+ + ±
6	++++		25	++++	+ + ±
7		++++	26	+ + ±	
8	++++		27	++++	
9	++++		28	++++	
10	++++		29	++++	
11	++++		30	+ + +	
12	++++		31	++++	++++
13	++++		32	+++	+ + + ±
14		+ + + +	33	++++	+ + + +
15		+ + + +	34		+ + + ±
16	++++		35	++++	
17	++++		36	+++	++++
18	++++		37	+++	++++
19	++++		38	+ + + ±	+ + + +

BIBLIOGRAPHIE

1. VALLÉE (H.) et CARRÉ (H.). — *Rev. Gén. de Méd. Vét.*, 1922, **31**, 313.
 2. CAMAND (R.). — Thèse de Doctorat vétérinaire, Lyon, 1933. Bosc Ed.
 3. GIRARD (H.), MACKOWIAK (C.) et ROBIN (J.-C.). — *Bull. Soc. Sci. Vét.*, Lyon, 1932-1933, **54-55**, 82.
 4. RAMON (G.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1932, **234**, 1.010.
 5. MANNINGER (R.) et LASZLO (S.). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1930, **3**, 402.
MANNINGER (R.). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1931, **5**, 1.
 6. UBERTINI (B.). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1931, **35**, 627.
 7. MICHELSEN (E.) et MIKKELSEN (K.). — *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 1943, **22**, 406.
 8. UBERTINI (B.). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1949, **31**, 84.
 9. DEMNITZ (A.) et SCHNEIDER (B.). — *Monatsh. f. Prakt. Tierheilkunde*, 1931, **3**, 237.
 10. BROOKSBY (J.-B.). — A.R.C. report, séries n° 12, 1932.
-