

MODIFICATION D'UN VIRUS APHTEUX DE TYPE O SOUCHE IRAN PAR PASSAGES SUR SOURIS

par

M. B. MASTAN (*)

La modification du virus aphteux in vivo a été recherchée par de nombreux moyens: transmission en série du virus à l'animal, à l'embryon de poulet; passages sur cultures de tissus; combinaison de ces méthodes entre elles. H. C. Girard et ses collaborateurs du laboratoire de Nong-Sarai ont donné, dans le Bulletin même de l'Office, une importante bibliographie sur ce sujet (*).

Nous décrivons ici les modifications d'un virus O que nous avons observées sur la souris en pratiquant les passages sur des sujets de plus en plus âgés, en allant du souriceau à la souris adulte.

1° Matériel et méthodes.

Le virus est un virus de type O, isolé dans un foyer de fièvre aphteuse de la banlieue de Téhéran. Ce virus sauvage a été passé une fois sur le bœuf, un second typage a confirmé le type O. Lors de chaque passage sur souris, le virus O a été identifié par l'épreuve de fixation du complément et l'absence de virus de souillure vérifiée.

Le prélèvement du matériel virulent a été fait la plupart du temps après la mort, parfois au stade ultime de la paralysie.

(*) *Bull. Off. int. Epiz.*, 1964, 61 (7-8) 727-733. *XI^e Conférence de la Commission permanente de la Fièvre aphteuse de l'O.I.E.*

L'un passage à l'autre, le matériel virulent a été conservé à la température de -70°C .

La suspension du virus est obtenue par broyage du matériel virulent avec un appareil «Turrax» dans des tubes immergés dans la glace fondante, accompagné d'une centrifugation en deux temps: une première centrifugation à 3.000 tr/mn pendant vingt minutes suivie, après filtration sur gaze, d'une seconde centrifugation à 6.000 tr/mn pendant encore vingt minutes (centrifugeuse M.S.E. + 4°C).

La dilution est faite en solution de tampon phosphate (P.B.S.), additionnée de pénicilline et de streptomycine.

Au fur et à mesure des passages, un certain nombre de titrages de virus ont été pratiqués sur souriceau de 4 jours et sur première subculture de rein de mouton.

Les lectures finales des titres ont eu lieu le huitième jour sur le souriceau et le troisième jour sur cellules. Les titres sont calculés selon la méthode de Reed et Muench.

Les souris, dont la souche a été importée de Tübingen, sont des souris albinos d'âge de plus en plus élevé. 10 souris ont servi pour chaque passage.

II. — Résultats.

Le Tableau I joint montre les phases successives de la modification du virus au cours de 130 passages réalisés sur des sujets de 4, 8, 12, 25, 30 jours et enfin de 35 jours, âge auquel les souris pèsent de 22 à 24 grammes et qui correspond à la limite de leur utilisation dans notre expérience.

Ce Tableau comporte également les renseignements relatifs aux modalités des passages (matériel virulent), voie d'inoculation, doses utilisées) ainsi qu'aux caractéristiques du virus modifié (pouvoir pathogène, titre, résistance des sujets).

On constate principalement:

1° Que la poursuite de la modification a nécessité des retours en arrière nombreux;

2° Que le délai de la mort des souris est relativement constant aux différents stades de la modification (2 à 4 jours);

3° Que le titre du virus sur cellules de rein de mouton reste au niveau moyen de $10^{-6,5}$ /ml, alors que le titre sur souriceau accuse une montée importante jusqu'à 10^{-10} /ml;

TABLEAU I
Modification du virus au cours des passages (1^{re} partie)

N ^o des passages	Age des souris	Matériel inoculé	Dose, dilution et voie d'inoculation du virus	Délai de la mort		Titre du virus		Observations particulières
				plus précoce	plus tardif	sur rein de mouton	sur souriceau	
1 ^{er}	4 jours	Aphtes 1 ^{er} passage bovin*	1,10 ml-10-1 Int. Périv.	36 h.	4 jours			
2 ^e -5 ^e	4 jours	Muscle, rate, cœur	id.	24-38 h.	2-1 jours			
6 ^e -12 ^e	8 jours	Muscle, rate, cœur	id.	18-24 h.	2-3 jours			
13 ^e -17 ^e	12 jours	Muscle-cœur	2 10 ml-M, 10-1 2/10 ml P	20 h.	3 jours	15 ^e P 107,2 ml 108,16 ml		Retour en arrière du 17 ^e au 1 ^{er} P.
18 ^e -21 ^e	20 jours	Muscle	0,25 ml M 10-1 0,25 ml P	27-55 h.	3 jours			Retour en arrière du 18 ^e au 17 ^e P.
23 ^e -30 ^e	25 jours	Muscle	1 ml M 10-1 en 2 points	48-75 h.	3-4 jours	25 ^e P 107,5 ml 108,5 ml 30 ^e P 109,15 ml		
31 ^e	30 jours	Muscle	id.					Résistance des souris.
32 ^e	id.	souriceaux de la dilution super. du titrage du 30 ^e P.	id.	48 h.	4 jours			
33 ^e	id.	Muscle	id.	48 h.	4 jours			
34 ^e	id.	id.	id.	id.	id.			

* Titre du virus bovin initial : 10-7,5 ml sur rein de mouton primaire et 10-7,16 ml sur souriceaux

Modification du virus au cours des passages (2^e partie)

N ^o des passages	Age (ou poids) des souris	Matériel inoculé	Dose, dilution et voie d'inoculation du virus	Délai de la mort		Titre du virus		Observations particulières
				plus précoce	plus tardif	sur rein de mouton	sur souriceau	
35 ^e	30 jours	Muscle	1 ml M 10-1 en 2 points	48 H.	3 jours			50 % de mort seulement.
36 ^e -39 ^e	id.	id.	id.	id.	3-4 jours	36 ^e P. 10 ^{8,5} ml		
40 ^e -127 ^e	35 jours	id.	id.	id.	id.			
43 ^e	22-21 g.	id.	id.	id.	id.		10 ^{9,5} ml	
50 ^e	id.	id.	id.	id.	id.		10 ^{9,5} ml	
56 ^e	id.	id.	id.	id.	id.	10 ^{8,5} ml	10 ^{9,6} ml	
62 ^e	id.	id.	id.	id.	id.		10 ⁸ ml	Retour en arrière du 62 ^e -60 ^e P.
67 ^e	id.	id.	id.	id.	id.	10 ^{8,5} ml	10 ^{8,6} ml	
75 ^e	id.	id.	id.	id.	id.		10 ^{10,5} ml	Retour en arrière du 73 ^e -70 ^e .
82 ^e	id.	id.	id.	id.	id.	10 ^{8,5} ml		
90 ^e	id.	id.	id.	id.	id.		10 ^{9,5} ml	

Modification du virus au cours des passages (3^e partie).

N ^o des passages	Poids des souris	Matériel inoculé	Dose, dilution et voie d'inoculation du virus	Délai de la mort		Titre du virus		Observations particulières
				plus précoce	plus tardif	sur rein de mouton	sur sourceau	
100 ^e	22-24 g.	Muscle	1 ml M 10-1 en 2 points	4 h	3-1 jours			Retour en arrière du 100-90 ^e P.
104 ^e	id.	id.	id.	id.	id.		10 ^{10,5} ml	
110 ^e	id	id	id.	id	id.		10 ^{10,4} ml	
<p align="center">Au 110^e passage 10 cobayes sur 10 (100 %) inoculés par voie sous-cutanée à la dose de 1 ml au 1/10^e meurent en 1 à 6 jours. (Myocardite).</p>								
120 ^e							10 ^{10,5} ml	
131 ^e	id	id.	id.	id.	id.	10 ^{6,5} nfl	10 ⁸ ml	
<p align="center">Au 131^e passage 6 cobayes sur 12 (50 %) inoculés par voie Intra musculaire-1ml et voie S. cutanée- 1ml au 1 : 10^e meurent en 4 à 8 jours. (Myocardite). 2 bovins de 2 ans neufs (S.N. négative) sont utilisés pour le titrage du virus. Titre 10⁻¹ ml. pas de fièvre, pas de généralisation.</p>								

4° Que le virus, au cent dixième passage, est cardiotrope pour le cobaye qu'il tue dans la proportion de 100 p. 100 en 4 jours avec des lésions de myocardite;

5° Qu'au cent trentième passage, ce cardiotropisme subsiste avec une mortalité de 50 p. 100 des cobayes inoculés;

6° Que sur bovin neuf, le virus modifié par 130 passages n'a pas encore perdu tout caractère pathogène puisque, titré sur le bœuf, il se montre aphtogène encore à la dilution de 1/10. Cependant, à ce stade, il reste apparemment localisé, ne déterminant ni phénomènes thermiques ni processus de généralisation. (Observation poursuivie pendant 14 jours sur bovins à séroneutralisation négative avant l'épreuve.)

Discussion et conclusions.

Ces constatations montrent, qu'après 130 passages sur souris, la modification du virus doit être poursuivie. Bien qu'une expérience d'immunité puisse déjà être entreprise sur le bovin, nous nous proposons, tout en continuant les passages sur souris, de faire, aux divers stades ultérieurs de cette modification, des passages du virus sur cluture de tissu afin d'obtenir, selon certaines constatations déjà signalées (2), l'éventuel changement du tropisme du virus et, en particulier, la perte du cardiotropisme.

En tout état de cause, nous pensons que le virus modifié ne pourrait être utilisé dans la pratique de la vaccination qu'autant qu'il répondrait aux exigences suggérées à l'occasion des congrès de standardisation (2).

RESUME

Une souche sauvage de virus O a été murinisée par passages sur des souris dont l'âge croissait progressivement. Au cent trentième passage sur souris, elle conservait encore un net cardiotropisme chez le cobaye et demeurait aphtogène pour le bœuf sans entraîner toutefois de généralisation. La modification de la souche sera continuée en recourant également à des passages sur cultures de tissus.

SUMMARY

A field strain of type O virus has been adapted to mice by serial passage in animals of increasing ages. At the 130th passage, the virus still has definite cardiotropic properties for guineapigs and is antigenic for cattle without

causing generalisation. Modification of this strain will be continued also by passage in tissue cultures.

RESUMEN

Se murinizó una cepa salvaje de tipo O mediante pases en ratones cuya edad aumentaba progresivamente. En el pase 130 en el ratón, conservaba aún neto cardiotropismo en el cobayo y seguía siendo aftógena para la vaca sin que, no obstante, causase generalización. Se continuará la modificación de la cepa recurriendo asimismo a pases en cultivos de tejidos.

* * *

BIBLIOGRAPHIE

1. GIRARD (H. C.), CHARUTAMRA (U.), SUPAVILAI (P.) et SMITINONDANA (P.). — *Bull. Off. int. Epiz.*, 1962, 57, 792-809.
2. Symposium international de Virologie vétérinaire (O.I.E.A.I.S.M.), Lyon, 23-24 mai 1962 (en particulier pp. 156 à 158).