

**ADAPTATION DU VIRUS APHTEUX DE TYPE
SAT 1 A LA CULTURE FRENKEL ET PREPARATION
D'UN VACCIN SAPONINE INACTIVE (*)**

par

R. CAMAND, H. GILBERT, M. AMIGHI et A. KOROUR ()**

L'apparition, depuis 1962, du virus SAT 1 au Moyen-Orient, vient de mettre toute l'Europe en état d'alerte. En dehors du Laboratoire Mondial de Référence de Pirbright, aucun des laboratoires européens n'a été autorisé à entreprendre des recherches concernant ce virus étant donné le danger que cela pourrait représenter.

L'organisation de la lutte au Proche et au Moyen-Orient, conditionnant la protection des cheptels locaux et l'arrêt de l'extension de l'épizootie, représentait la meilleure façon de préserver les animaux européens de la maladie. Ce fut l'une des préoccupations essentielles de l'O.I.E. et de la F.A.O. (1, 2). En effet, ces deux Organisations ont consacré à ce problème plusieurs réunions au cours desquelles il fut vivement conseillé aux pays menacés de réaliser, dans les meilleurs délais, la vaccination des sujets réceptifs.

Le danger que représentait l'apparition du virus SAT 1 aux portes de l'Europe n'a échappé ni au Ministère de l'Agriculture de la France ni aux laboratoires spécialisés de ce pays (***) lesquels se sont efforcés d'élaborer ensemble, le plus rapidement possible, un plan d'action.

(*) Travail de: Institut d'Etat des Sérums et Vaccins Hessarek-Karadj, Iran (Directeur: A. Rafyi) et Instituts Français de la Fièvre Aph-teuse, (Directeur: C. Mackowiak).

(**) Avec la collaboration technique de M. J. Roux.

(***) Instituts Français de la Fièvre Aphteuse (I.F.F.A.) et Labora-toires Roger Bellon (L.R.B.).

Bull. Off. int. Epiz., 1963, 59 (7-8), 1037-1047.

L'association des méthodes de vaccination obligatoire des bovins et d'abattage des animaux atteints ou contaminés a permis à la France d'arriver, en un laps de temps relativement bref, à l'éradication complète de la maladie causée par les virus de types européens. L'éventuelle apparition du virus SAT 1 risquait de compromettre les résultats obtenus. Il s'agissait donc d'être en mesure de faire immédiatement face à cette menace possible en mettant rapidement au point un vaccin monovalent inactivé.

L'Institut d'Etat des Sérums et Vaccins du Royaume d'Iran en la personne des Docteurs Rafyi, Directeur Général, et Mirchamsy, Directeur Adjoint, a proposé, dans un esprit très coopératif, la collaboration de ses techniciens dont on connaît les publications en cette matière (3, 4) avec les équipes des Instituts Français de la Fièvre Aphteuse.

Sur le plan pratique, a été installée une unité où la culture industrielle du virus SAT 1, selon la méthode Frenkel, a été réalisée. Les travaux commencés en octobre 1962, poursuivis par les premiers essais de culture en janvier 1963, nous ont conduit: au mois de mai, à l'obtention d'une souche de virus SAT 1 adaptée à la culture Frenkel; en juin, à la préparation d'un vaccin expérimental et en août, à la fabrication des premiers lots industriels de 100.000 doses. Les contrôles de ces derniers ont été satisfaisants. Les productions industrielles suivantes sont actuellement en cours.

Ce sont quelques phases techniques de cette évolution que nous envisagerons succinctement.

I. — SOUCHE DE VIRUS.

La souche utilisée provenait d'un prélèvement effectué dans un foyer de fièvre aphteuse de la région de Téhéran, identifié par l'Institut Razi avec le sérum de référence de Pirbright. Par la suite, nous avons pu réaliser tous les contrôles sérologiques avec des sérums que nous avons produits sur place. Cette souche a subi, avant son emploi, deux passages sur bovins afin d'exalter sa virulence. Son titre sur bovin était de $10^{-7.2}$ et sur culture de tissu de rein de mouton de $10^{-3.2}$

II. — EPITHELIUMS BOVINS.

En attendant l'installation d'un centre de récolte à Téhéran ont été utilisés des épithéliums de langue de bovins prélevés en Europe dans les

centres annexes de l'Institut Français de la Fièvre Aphteuse et acheminés en Iran par avoin. La mise en culture des tissus s'effectuait au minimum dix heures et au maximum trente-six heures après la récolte.

III. — CULTURE FRENKEL.

La technique suivie fut strictement la même que celle pratiquée couramment dans nos Instituts en France (5).

Commencées directement à partir de la souche bovine, sans passage préalable sur cellules rénales, les cultures ont d'abord subi trois passages en Erlenmeyer avant d'être réalisées systématiquement en petites cuves spécialement conçues à cet usage (matériel identique à celui utilisé à l'IFFA). Le Tableau I résume l'ensemble des passages effectués jusqu'à ce jour et montre l'évolution de la fixation du complément et des titres sur souriceaux et sur cultures de tissu. Les résultats s'avèrent analogues à ceux obtenus en France avec les types O, A et C. Cependant, cette souche exige une attention constante et soutenue, et il n'est pas toujours aisé d'en assurer la continuité.

IV. — VACCIN INACTIVE.

Nous avons, à cette date, préparé deux vaccins saponinés monovalents SAT 1 à 5 millilitres la dose, l'un expérimental, l'autre industriel, selon la formule de l'IFFA appliquée en France (6, 7).

V. -- CONTROLES.

Les Tableaux II et III donnent les résultats des contrôles effectués suivant les normes en vigueur en France (8*) et sont accompagnés des résultats de séro-neutralisation des sérums des animaux vaccinés. On peut remarquer une concordance parfaite entre ces contrôles et ceux effectués en France. Il se confirme, une fois encore, qu'il importe avant tout de posséder une souche de virus bien adaptée à la culture Frenkel.

(*) Les bovins reçoivent, 21 jours après vaccination, 10.000 DL 50 par voie intradermo-linguale.

TABLEAU I

CULTURES	DEVIATION DU COMPLEMENT					TITRES	
	P ₀	1/2	1/1	1/8	1/1	Souriceaux	Cultures de tissus
1/E/1	± ± ±	:	0	0	0	—	
2/E/1	± ±	±	0	0	0	10 ^{2,5}	
3/E/1	± ±	:	0	0	0	Incal.	
4/M/1	±	0	0	0	0	—	
5/M/1	±	0	0	0	0	Zéro	
6/M/II	± ± ±	± ±	±	0	0	10 ³	
7/M/I	± ± ±	± ± ±	:	0	0	10 ⁵	
8/M/I	± ± ±	± ±	±	0	0	10 ⁴	
9/M/1	± ± ±	±	0	0	0	—	10 ³
10/M/I	± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ±	± ±	—	10 ³
11/M/1	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ±	10 ^{5,4}	10 ^{7,5}
12/M/1	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ±	± ±	10 ^{4,8}	10 ^{7,5}
12/M/II	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ±	0	—	—
12/M/III	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ±	±	0	10 ^{8,3}	
13/M/I	± ± ± ±	± ± ± ±	± ±	0	0	—	—
13/M/II	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ±	10 ^{6,7}	10 ^{6,3}
14/M/1	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ±	0	10 ^{6,2}	10 ⁷
14/M/II	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	±	Incal.	10 ⁸
14/M/III	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ±	0	10 ^{6,2}	10 ^{7,8}
14/M/IV	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ±	0	10 ^{6,3}	10 ⁸
14/M/V	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	±	0	10 ^{6,3}	10 ^{7,5}
14/M/VI	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ±	0	10 ^{5,5}	10 ⁷

Cultures : premier chiffre = N° de passage.

Lettre = type de culture (E : Erlenmeyer — M : petite cuve).

Titres : Incal. = Incalculable.

— = pas titré.

TABLEAU II

N ^{os} DES BOEUFs	RÉSULTATS			TITRES D'ANTICORP.
A) Vaccin expérimental.				
228.	± 0	0	0(0000)	1,7
229.	± 0	0	0(0000)	1,7
230.	+ 0	0	0(0000)	1,6
232.	+ 0	0	0(0000)	1,9
233.	00	0	0(0000)	1,6
235.	00	0	0(0000)	2,4
241.	++	0	0(0000)	1,7
<i>Témoins</i>				
69.	++	0	+(+++)	
70.	++	+	+(+++)	
72.	++	+	+(+++)	
B) Vaccin industriel.				
1156.	00	0	0(0000)	2,10
1158.	± ±	0	0(0000)	1,40
1159.	± 0	0	0(0000)	1,0
1165.	± 0	+	0(0000)	1,60
1169.	± 0	0	0(0000)	1,99
1172.	± 0	0	0(0000)	1,65
1182.	±	0	0(0000)	1,40
1184.	± 0	0	0(0000)	1,40
<i>Témoins</i>				
1162.	± 0		+(+++)	
1170.	± ±		+(+++)	
1178.	± ±		0(0000)	

Colonne centrale

A gauche : Lésions de la langue : ± au point d'inoculation.
++ étendues à toute la langue.
Au centre : Autres lésions buccales.
A droite : Lésions podales avec le nombre de pieds atteints.

VI. — CONCLUSIONS.

A. — La mise en commun des potentiels matériel et scientifique, tant de l'Institut Razi que des Instituts Français de la Fièvre Aphteuse, a été à l'origine, sur le plan international, d'une fructueuse collaboration dont les résultats ont été les suivants:

1° L'adaptation à la culture Frenkel d'une souche de virus SAT 1. La réalisation de celle-ci avec des épithéliums récoltés en Europe permet d'envisager, au cas où la situation épizootologique l'exigerait, une production intensive de virus Frenkel sur le continent asiatique.

2° La mise sur pied, dans un délai relativement court d'une production industrielle d'un vaccin de qualité satisfaisante. En collaboration avec les Instituts Français de la Fièvre Aphteuse, l'Institut Razi se trouve maintenant dans la possibilité d'effectuer une production industrielle hebdomadaire de 100.000 doses.

B. — Le bilan de cette coopération est encore riche d'autres enseignements:

1° L'emploi des moyens techniques modernes a permis le transport des tissus dans de bonnes conditions de température et leur utilisation en un endroit situé à 5.000 kilomètres de leur lieu de récolte.

Cette opération, réalisable sur le plan économique, a rendu possible l'installation d'une production industrielle de vaccin, selon la technique Frenkel, dans un pays où il était difficile d'organiser dans l'immédiat la collecte d'un grand nombre d'épithéliums bovins.

2° Le choix de l'Institut Razi, quant à l'implantation d'un centre de recherches consacré à l'étude de la souche SAT 1 et à la production de vaccin, se justifiait pour les motifs suivants:

— La situation géographique de ce laboratoire situé au cœur d'une région atteinte par l'épizootie;

— L'entraînement que possèdent déjà ses techniciens à travailler le virus SAT 1;

— La qualité de ses installations de base.

3° De leur côté, les Instituts Français de la Fièvre Aphteuse ont envoyé en Iran des techniciens spécialisés et expédié sur place le matériel permettant la production industrielle du virus aphteux selon la méthode Frenkel. De la sorte, les techniques utilisées pour cette fabrication ont bénéficié de la longue expérience de ces Instituts.

4° Dans le domaine sérologique, les travaux effectués jusqu'à ce jour rendent possible à l'Institut Razi l'identification de différents types de virus aphteux.

Tableau III

1^o Vaccin experimental.

Bœufs n°	Langue	Bouche	Pieds	Titres d'Anticorps
228				1,7
229				1,7
230				1,6
232				1,9
233				1,6
235				2,4
241				1,7

Bovins vaccinés.

Bovins témoins.

2^o Vaccin industriel.

Bœufs n°	Langue	Bouche	Pieds	Titres d'Anticorps
1156				2,10
1158				1,40
1159				1,0
1165				1,60
1169				1,99
1172				1,83
1182				1,40
1184				1,40

Bovins vaccinés.

Bovins témoins.

N°	Langue	Bouche	Pieds
69			
70			
72			

N°	Langue	Bouche	Pieds
1178			
1170			
1162			

CONCLUSIONS

A. — The joint work on the material and scientific possibilities carried out at the Razi Institute and the French Foot and-Mouth Disease Institutes has been the source, on an international plan, of fruitful collaboration, of which the following are the results :

1° The adaptation of virus, strain SAT 1, to the Frenkel culture. This accomplishment, using epithelium collected in Europe, makes it possible to foresee an intensive production of the virus by the Frenkel technique in Asia, should the epizootiological position create a demand for the vaccine.

2° The production on a commercial scale, in a relatively short period, of vaccine of a satisfactory quality.

In collaboration with the French Foot-and-Mouth Disease Institutes, the Razi Institute could now produce, each week, 100.000 doses of the vaccine.

B. — There are also many other results of this cooperation :

1° By the use of modern technical methods, tissues can be utilised at a place, 5.000 km. from where they were collected. This finding which has been shown to be economic, has made it possible to establish the commercial production of vaccine, according to the Frenkel technique, in a country where it was difficult to organise the rapid collection of large amounts of bovine epithelium.

2° The selection of the Razi Institute for the setting-up of a research centre for the study of the SAT 1 strain of the virus and the production of vaccine has been justified on the following grounds :

— The geographical location of this laboratory in the heart of the region in which the epizootic exists;

— The presence of technicians who are ready and anxious to work with the SAT 1 strain of the virus;

— The quality of the essential equipment.

3° The French Foot-and-Mouth Disease Institutes, for their part, have sent specialist technicians to Iran and have quickly made available, on the spot, the material required for the commercial production of the vaccine by the Frenkel technique. In this way, the techniques used in this method of vaccine production have been in accordance with the long experience of these Institutes.

4° With regard to serology, the work which has been carried out up to the present time, makes it possible for the Razi Institute to identify the different types of the virus of foot-and-mouth disease.

CONCLUSIONES

A. — La unión de potenciales materiales y científicos, tanto del Instituto Razi como de los Institutos franceses de la Fiebre Aftosa, ha dado origen, en el plano internacional, a una fructuosa colaboración cuyos resultados son los siguientes :

1º La adaptación al cultivo Frenkel de una cepa de virus SAT 1. Su realización con epitelios recolectados en Europa permite prever, en el caso en que la situación epidemiológica lo requiriera, una producción intensiva de virus Frenkel en el continente.

2º La preparación en un plazo relativamente breve de una producción industrial de una vacuna de calidad satisfactoria. En colaboración con los Institutos Franceses de Fiebre aftosa, el Instituto Razi se halla ahora en condiciones de efectuar una producción industrial semanal de 100.000 dosis.

B. — El balance de esta cooperación nos proporciona otras muchas enseñanzas :

1º El empleo de medios técnicos modernos ha permitido el transporte de los tejidos en buenas condiciones de temperatura y su utilización en un lugar situado a 5.000 km del centro de la recolección. Esta operación realizable en el aspecto económico ha hecho posible la instalación de una producción industrial de vacuna según la técnica Frenkel en un país donde era difícil organizar en el inmediato la recolección de un gran número de epitelios bivos.

2º La elección del Instituto Razi respecto a la instalación de un centro de investigaciones dedicado al estudio de la cepa SAT 1 y a la producción de vacuna se justificaba por los motivos siguientes :

— La situación geográfica de este laboratorio situado en el centro de una región atacada por la epizootia;

— El entrenamiento que poseen ya sus técnicos para trabajar el virus SAT 1;

— La calidad de sus instalaciones básicas.

3º Por su lado, los Institutos franceses de la Fiebre Aftosa han enviado a Irán técnicos especializados y remitido el material que permite la producción industrial del virus aftoso según el método Frenkel. De esta manera, las técnicas empleadas para esta fabricación han disfrutado de la amplia experiencia de dichos Institutos.

4º En el aspecto serológico, los trabajos efectuados hasta la fecha dan la posibilidad al Instituto Razi de identificar diferentes tipos de virus aftoso.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1962, 58, 961, 1101, 1263, 1433.
2. Réunion F.A.O. - O.I.E. sur la fièvre aphteuse au Proche-Orient, Téhéran, 16-18 juin 1962. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1962, 57, 1045-1049 et 1231-1267.
3. RAMYAR (H.), AMIGHI (M.) et HESSAMI (H.). — *Bull. Off. int. Epiz.*, 1962, 57, 620-626.
4. RAFYI (A.), AMIGHI (M.) et RAMYAR (H.). — *Bull. Off. int. Epiz.*, 1962, 57, 1165-1169.
5. GIRARD (H. C.) et MACKOWIAK (C.). — *Rev. Immunol.*, 1953, 17, 224-238.
6. PETERMANN (H. G.), MACKOWIAK (C.), CAMAND (R.) et LANG (R.). — *Symposium int. Virologie vét.*, Lyon, 27-29 juin 1958.
7. MACKOWIAK (C.), PETERMANN (H. G.), CAMAND (R.) et LANG (R.). — *Bull. Acad. vét. Fr.*, 1959, 32, 313-318.
8. CAMAND (R.), LANG (R.), FONTAINE (J.), PETERMANN (H. G.) et MACKOWIAK (C.). — *Symp. int. Virologie vét. (O.I.E. et A.I. S.M.)*, Lyon, 23-24 mai 1962, 89-94.