Isolement d'une souche d'érythroblastose transmissible de la poule (souche Anvers). Culture en tissus du virus et essais de transmission par moustiques

PAR

Louis van den BERGHE.

Les travaux d'Ellerman et Bang ainsi que de Rouss ont mis en évidence des virus filtrants produisant des maladies néoplasiques variées chez les Gallinacés.

Des souches de virus très nombreuses furent isolées chez les poules, soit au cours d'une maladie « spontanée » observée dans un élevage, soit à la suite d'expériences tendant à irriter les tissus. Le groupe primitif des leucoses fut ainsi démembré en lymphomatose, myélomatose et érythroblastose auxquelles se joignirent des tumeurs variées, les endothéliomes, les neurolymphomatoses, les sarcomes. Beaucoup de ces maladies se présentent en association : les endothéliomes accompagnent une lymphomatose ou une myélomatose, tandis que la neurolymphomatose constitue en elle-même une association. Enfin, les sarcomes s'observent souvent chez des poules inoculées avec une souche d'érythroblastose ou de leucose, et vice-versa, et de plus ces états peuvent être concomittants chez les mêmes animaux en infection expérimentale aussi bien qu'en infection naturelle.

Certains auteurs prêtent au virus de la leucose des poules une grande adaptabilité. Le lieu d'inoculation jouerait un rôle déterminant sur le type de maladie produit : l'infection intraveineuse produirait une variation brusque (« mutation ») du virus

en virus d'érythroblastose, de lymphomatose ou de myéloblastose, tandis que l'injection sous-cutanée ou intramusculaire produirait une variation en virus de sarcome et même de carcinome (Oberling et Guérin). Utilisant des locutions usuelles pour d'autres virus — celui de la fièvre jaune notamment — on pourrait estimer aussi que le virus d'Ellerman et Bang est pantrope mais qu'il peut, suivant des variations brusques spontanées (dans des infections naturelles) ou par des inoculations (dans les infections expérimentales) se révéler sous une variation hématotrope, mésodermotrope ou ectodermotrope. L'analogie est très frappante avec la fièvre jaune dans laquelle la théorie de la mosaïque (préexistence de particules viscérotropes et neurotropes dans le virus pantrope avec prédominance des unes ou des autres suivant l'induction donnant ainsi un virus dit viscérotrope ou dit neurotrope) a été invoquée pour expliquer la seule variation brusque spontanée de virus amaril qui fut rapportée jusqu'ici (van den Berghe). Ces variations brusques spontanées ou provoquées de virus ne sont pas des mutations proprement dites. Celles-ci se définissent, en effet, comme des modifications des facteurs héréditaires chez lesquels le génotype entre dans un état nouveau qui a dorénavant le même caractère de stabilité que l'état précédent. Ces modifications entraînent un changement durable de la réaction. Les variations brusques de virus seraient des « Dauermodificationen », opposées aux mutations en ce qu'elles se présentent comme des altérations passagères de la réaction, dues à des facteurs extérieurs. Ce sont des modifications de génotype qui disparaissent dès que le facteur extérieur d'induction disparaît.

Dans le cadre des notions admises pour d'autres virus et plus spécialement pour la fièvre jaune, on pourrait se rallier à l'hypothèse d'un virus pantrope de la poule, susceptible de varier de façon spontanée aussi bien que provoquée, déterminant des localisations et des irritations de systèmes histologiques particuliers.

Devant la multiplicité des images pathologiques produites, nous avons limité nos recherches à l'érythroblastose de la poule et n'avons transmis de virus que par la voie intraveineuse de

façon à ne pas favoriser par le mode d'inoculation la possibilité de variation du virus hématotrope envisagé.

Nos premiers travaux ont été effectués (L. van den Berghe et F. d'Ursel, 1939) avec la souche O. G. d'érythroblastose. isolée par Ch. Oberling, M. Guérin et V. Boic chez une poule morte six mois après l'inoculation de fragments d'épithélioma du foie. Etant donnée la fréquence des viroses chez les poules, il est difficile de déterminer si le virus O. G. était « spontané » ou s'il était au contraire le produit d'une variation du virus initial d'épithélioma des poules. Les auteurs français ont retenu le terme d'érythroblastose pour qualifier leur virus parce que l'atteinte de la lignée rouge dominait le tableau hématologique.

Dans une première note nous avons considéré, à la suite de Ch. Oberling, M. Guérin et V. Boic, que l'affection transmise par le virus O. G. était une érythroblastose. La cellule jeune que l'on observe chez la poule infectée dès le début de l'infection apparaît, après coloration panoptique comme un « blaste », cellule souche à grand noyau subsphérique finement structuré et à cytoplasme très basophile. Nous avons pu démontrer que le virus est présent dans tous les constituants du sang mais très inégalement. Les éléments figurés, et selon toute vraisemblance surtout les cellules jeunes proérythroblastiques, renferment la majeure partie du virus, l'évolution étant à peu près identique pour les poules inoculées avec les éléments figurés seuls et avec le sang total ou laqué d'un volume initial égal. L'injection de plasma provoquait des infections beaucoup moins aiguës que celle des éléments figurés seuls ou du sang total laqué. Le virus n'apparaît vraisemblablement dans le plasma que dans la mesure où il est libéré par les éléments figurés du sang.

Dans une deuxième note nous avons conclu à la multiplication du virus de l'érythroblastose des poules dans les cultures en tissu constituées par des cellules embryonnaires de poulet en suspension dans du liquide de Tyrode enrichi de sérum.

Enfin, dans une troisième note, nous avons relaté nos tentatives de culture du virus O. G. sur la membrane chorio-allantoide de l'embryon de poulet. Comme E. Storti et G. Mezzadra

(1938), nous n'avons observé aucune lésion histo-pathologique de la membrane ni des organes de l'embryon. Cependant, après 4 ou 5 jours d'incubation, la présence du virus vivant peut être mise en évidence par l'inoculation au poulet. D'autre part, six poussins éclos après inoculation chorio-allantoidienne développèrent tous une érythroblastose transmissible à la poule. Cinq d'entre eux présentèrent en outre, dès l'éclosion, une paralysie des pattes qui nous parut pouvoir être attribuée au virus. La transmission chez un embryon dont les tissus sont encore en voie de développement favorise peut-être la variation du virus hémotrope en virus neurotrope, ou plutôt la multiplication des particules du virus neurotrope au sein du virus pantrope suivant la représentation théorique « en mosaïques ».

Isolement de la souche « Anvers » d'érythroblastose.

Au cours des expériences précédentes, une poule adulte achetée au marché d'Anvers et qui devait servir aux inoculations de la souche O. G., révéla des symptômes d'érythroblastose spontanée dès le premier examen (10 octobre 1939) : pâleur et subictère de la crête des barbillons et des muqueuses, sang pâle avec allongement du temps de coagulation, 900.000 érythrocytes par mm^3 et 20 % d'hémoglobine, anisocytose et poikylocytose, leococytose subnormale de 25.000 leucocytes par mm^3, nombreux érythrocytes polychromatophiles, érythroblastes et thrombocytes anormaux vacuolarisés.

Le 23 octobre 1939, à l'autopsie on observait : Muscles pâles, séreuses subictériques, suffusions sanguines, rate hypertrophiée pesant 11 grammes, foie doublé de volume, jaune foncé, très friable, sans plages ni nodosités et montrant en coupe des vaisseaux dilatés et des infiltrats d'érythroblastes, moelle osseuse abondante et très liquide.

La moelle osseuse conservée à la glacière fut inoculée dans la veine de trois poules le 30 octobre 1939. La poule 5A développa une érythroblastose caractéristique. Le virus fut dès lors transmis en série, les poules mourant en 2 à 6 semaines.

La virulence de la souche d'érythroblastose « Anvers » n'a pas été déterminée par l'établissement de la dose infectante

minimale, mais appréciée par le pourcentage d'inoculations positives, le temps d'incubation et l'acuité des symptômes.

Le sang de la poule 28A (inoculée le 6 janvier 1940 et morte le 17 janvier 1940) fut mis en culture en tissus le 12 janvier 1940 suivant la méthode classique signalée précédemment (passages les mardi et vendredi de chaque semaine). Le liquide surnageant des cultures après 5 passages, injecté dans la veine de deux jeunes poulets, transmit l'affection. Il en fut de même avec le liquide surnageant après 15 passages. Le poulet 44A, inoculé le 5 mars 1940 avec un quinzième passage de culture, mourut le 21 mars 1940 après avoir présenté dans le sang circulant un très grand nombre d'érythroblastes.

Essais de transmission du virus par piqûre de moustiques.

La transmission naturelle de la maladie est encore inconnue. Dans les laboratoires on n'a jamais observé de transmission spontanée de poule à poule dans un même local ni dans une même cage. Il est dès lors difficile d'imaginer que la transmission naturelle puisse s'opérer par contact. Les tentatives de transmission expérimentale réussissent le mieux chez des sujets jeunes et sains. Les sujets vieux et en mauvais état sont le plus souvent réfractaires. Comme la transmission expérimentale réussit surtout par voie intraveineuse, on a formulé l'hypothèse d'une inoculation de virus par des insectes piqueurs de sang. On a incriminé des ectoparasites divers : Dermanyssus, Argas, punaises. Bang et Andersen ont tenté vainement des transmissions par Dermanyssus. Wakamatzu n'obtint aucun résultat avec des tiques et des poux. D'autre part, les œufs de poules atteintes de neurolymphomatose seraient infectants d'après Mathews et Walkey (1929), Warrack et Dalling (1920) et Biely et Palmer (1933).

Nous avons effectué quelques essais de transmission de la souche « Anvers » d'érythroblastose par des moustiques provenant des élevages de l'Institut de Médecine tropicale. Avec la collaboration de J. Rodhain et de son assistante Mlle M. Th. Van Hoof, nous avons nourri sur la poule 28A des lots d'*Anopheles maculipennis (atroparvus)*, d'*Aedes aegypti* et de *Culex pi-*

piens. De jeunes poulets furent ensuite piqués aux quatrième, septième, neuvième, onzième et quinzième jours suivant le repas infectant.

Seuls les animaux piqués aux quatrième, septième et neuvième jours par les Anopheles parurent s'infecter; l'un d'eux, le n° 38, de façon très nette (voir photographie). Aucun symptôme ne fut observé chez les poulets inoculés aux onzième et quinzièmes jours par les Anopheles non plus qu'à aucun des jours par les Aedes et les Culex.

L'invasion du pays mit fin à ces expériences. Toutes les souches de virus du laboratoire furent d'ailleurs perdues au mois de mai 1940 lorsque Anvers se vit privée de courant électrique pendant quelques jours. Une grosse invalidité militaire personnelle, jointe à l'impossibilité d'obtenir des œufs embryonnés et des poules en suffisance ne nous permit pas de reprendre, par la suite, nos études sur les virus. La présente note relate ainsi le dernier épisode de nos recherches dans un domaine qui fut l'objet de l'intérêt constant de celui auquel ce livre jubilaire est consacré. Les conclusions de notre travail lui sont ainsi tout particulièrement dédiées :

1. Une souche d'érythroblastose de poule a été isolée à Anvers.

2. Le virus a été cultivé en tissus et conserva sa virulence après 15 passages.

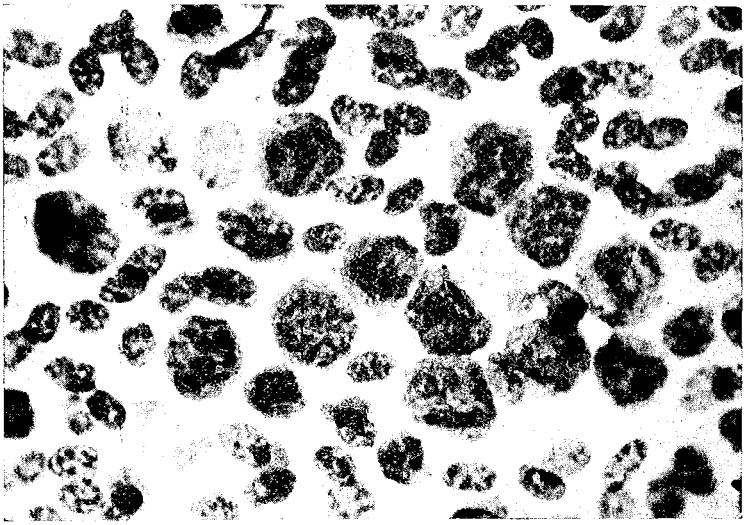
3. La maladie a pu être transmise expérimentalement par la piqûre d'Anopheles (maculipennis var. atroparvus) 4, 7 et 9 jours après un repas infectant. Les Anopheles après 11 et 15 jours, pas plus que les Aedes et les Culex à aucun moment, n'ont transmis la maladie. On ne peut conclure de ces expériences peu nombreuses que l'érythroblastose à virus de la poule se transmet par Anopheles dans la nature. Il nous est cependant permis d'affirmer que le virus conserva sa virulence pendant 9 jours à l'intérieur du corps des Anopheles.

(Institut de Médecine tropicale Prince Léopold.)

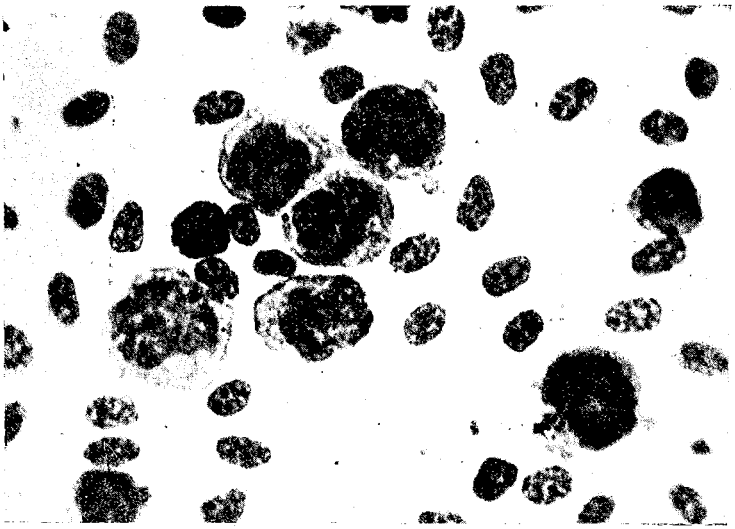
BIBLIOGRAPHIE.

Andersen C. W. et Bang O. (1928). — Festschr. f. prof. B. Bang, S. 353.
Furth J. et Breedis C. (1937). — *Arch. Path.*, 24, 281-302.
Jarmai K. (1930). — *Arch. Wiss. u. prakt. Tierheilk.*, 62, 113. — Id. (1932), *ibid.*, 65, 46. — Id. (1935), *ibid.*, 69, 275 et 70, 62.
Oberling Ch. et Guerin M. (1933). — *Bull. Ass. Fr. pour ét. Cancer*, 22, n° 3.
Oberling Ch., Guerin M. et Boic V. (1933). — *C. R. Soc. Biol.*, 112, 559.
Storti E. et Mezzadra G. (1938). — *Le Sang*, 12, 533.
Stubbs E. L. et Furth J. (1935). — *J. Exper. Med.*, 61, 593.
Verne J., Oberling Ch. et Guerin M. (1936). — *C. R. Soc. Biol.*, 121, 403.
van den Berghe L. (1939). — *C. R. Soc. Biol.*, 131, 153. — Rep. 3d Intern. Congr. f. Microbiol. New-York. — *Ann. Soc. Belg. Méd. Trop.*, 20, n° 2.
van den Berghe L. et d'Ursel F. (1939). — *C. R. Soc. Biol.*, 131, 832. — *C. R. Soc, Biol.*, 131, 1301. — *C. R. Soc. Biol.*, 131, 1302.

PLANCHE II.



Sang de poule 28 A.



Sang de poulet 38 (piqué par Anophèle infecté sur 28 A).