



CONFÉRENCE SUR LE TRACHOME

Tunis, Tunisie
15 - 21 octobre 1959

EM/Conf. trach./24
10 octobre 1959

ORIGINAL: FRANÇAIS

RECITS PROGRES
DANS LE RECHERCHE VIROLOGIQUES SUR LE TRACHOME

par

le Professeur G. Renour
Institut Pasteur, Tunis

Nos connaissances actuelles sur le (ou les) agents du trachome n'ont pas apparu subitement, telle Venus Anadyomène, mais sont la suite logique et le développement de recherches anciennes et de longs tâtonnements.

L'objet du présent texte n'est pas de passer en revue la bibliographie abondante des nombreux essais d'isolement et d'identification de l'agent du trachome, persuadés que nous sommes que ces travaux sont connus de tous et que nul n'aura l'ingratitude de minimiser les efforts des pionniers de l'étude scientifique du trachome.

Certains: Cuenod et Nataf (1938), Burnet, Cuenod et Nataf (1941), Burnet, Cabasso, Cuenod et Nataf (1942), Machiavello (1945) avaient approchés de bien près, compte tenu des moyens techniques à leur disposition, le stade actuel de nos connaissances sur ce sujet.

Le bond en avant de ces dernières années n'a pu être possible que grâce aux nouvelles méthodes, ou modifications de méthodes, mises au point depuis la deuxième guerre mondiale pour l'étude d'autres virus.

En grande partie aussi, le regain d'intérêt pour les études sur le trachome est dû au stimulus apporté par l'Organisation mondiale de la Santé qui, fort justement, s'est penchée sur le grave problème qu'est cette maladie oculaire qui affectera 200 millions d'hommes. En effet, aucun progrès thérapeutique curatif ou préventif, aucun perfectionnement du contrôle épidémiologique n'est réellement possible sans une connaissance exacte et approfondie de l'agent étiologique. Cet axiome est vérifié pour toutes les maladies transmissibles.

Nos connaissances sur l'agent du trachome sont encore très incomplètes, mais laissent l'espoir de voir réaliser rapidement une importante moisson.

Le résumé que nous allons donner des acquisitions récentes, est tiré des publications suivantes: Renoux 1957, Giroud et Renoux 1956, Giroud, Renoux et Lalnou 1956, Renoux, Nataf et Giroud 1958, Giroud, Renoux et Nataf 1958 (a et b), Renoux, Giroud et Nataf 1958, Giroud et Renoux 1958 (a et b), Wang, Chang, Huang et Wang 1957, Collier et Sowa 1958, Collier, Duke, Elder et Jones 1958, Murray, Snyder et Bell 1958, Snyder et coll. 1959, Jones, Collier et Smith 1959, Renoux 1959, Giroud 1959. Nous regrettons de n'avoir pas eu à notre disposition les publications russes qui traiteraient du même sujet.

I. METHODES D'ISOLEMENT ET DE CULTURE DES AGENTS DU TRACHOME

1. Prélèvements

Les échantillons à inoculer ont été obtenus par écouvillonnage, par grattage ou par prélèvement au ciseau de la conjonctive de malades trachomateux. Sans qu'on puisse l'affirmer absolument, il semblerait que les chances de succès soient plus grandes si l'examen cytologique fait en même temps révèle un grand nombre de corpuscules élémentaires. Mais il est tout aussi possible que les différences observées, selon les auteurs, soient sous la dépendance de facteurs locaux. Par exemple Collier aurait isolé, en Gambie, quatorze souches à partir de quatorze échantillons riches en inclusions (corps de I.P.) tandis que Snyder et coll., en Arabie Saoudite - comme nous-mêmes en Tunisie - auraient obtenu plus facilement des résultats positifs quand les corps élémentaires étaient abondants dans les échantillons.

Plusieurs hypothèses viennent à l'esprit pour expliquer ces différences: caractéristiques particulières de certaines souches de virus trachomateux? Modalités particulières du prélèvement et de l'appréciation des corpuscules viraux présents sur les lames, faute d'une normalisation adéquate des méthodes? Jusqu'ici, aucune étude n'a été faite qui permette de trancher la question.

Quelle que soit la technique de prélèvement, celui-ci doit être immédiatement plongé dans un petit tube stérile contenant une des solutions de peptone à faible concentration moléculaire, utilisées habituellement en virologie. Cet échantillon doit être transmis au laboratoire sans délai. Si un transport est nécessaire, il faut l'effectuer en plaçant l'échantillon

dans la neige carbonique. Au laboratoire, les échantillons seront conservés à très basse température (-60°C) jusqu'au moment de l'inoculation.

L'état actuel de nos connaissances ne permet pas encore de décider le stade du trachome clinique qui permet le plus facilement l'isolement des souches. Bien évidemment, on ne doit employer que des échantillons provenant de malades sûrement trachomateux, sans infection bactérienne surajoutée

2. Cultures en oeufs embryonnés

Des cultures d'un agent, plus tard identifié au virus trachomateux, ont été réalisées dans les oeufs de poules embryonnés de six à huit jours, par tous les auteurs cités ci-dessus.

L'échantillon, convenablement dégelé si nécessaire, est soigneusement broyé ou homogénéisé dans un milieu tamponné additionné de streptomycine (1000 à 15 000 microgrammes par ml); après un temps de contact d'une heure à $+4^{\circ}\text{C}$ il est inoculé. La technique la plus couramment employée est l'inoculation dans le sac vitellin.

Le plus souvent, un ou deux - parfois trois - passages à l'aveugle seront nécessaires avant l'apparition, dans les cultures, de corps élémentaires.

La température d'incubation est le plus souvent 35°C ; cependant, et spécialement dans le cas de cultures sur la membrane chorioallantoïde, il nous a paru qu'une incubation des oeufs inoculés à 33°C augmentait les chances de succès et la rapidité des résultats.

3. Cultures en poumons de rongeurs

Les chercheurs de l'Institut Pasteur de Tunis et de l'Institut Pasteur de Paris ont également obtenu l'isolement d'agents, plus tard identifiés à celui du trachome, par l'inoculation par voie nasale dans les poumons de rongeurs, après légère anesthésie à l'éther, des mêmes échantillons qui avaient été employés dans les oeufs embryonnés. Des résultats positifs ont été acquis sur souris, merions et gerbilles.

Ces mêmes auteurs ont démontré que l'inoculation aux oeufs d'une souche isolée sur poumon de rongeur ou l'inoculation aux rongeurs d'une souche isolée sur oeuf, donnait les mêmes résultats que l'inoculation directe à partir d'un prélèvement fait sur l'homme. Les inoculations croisées de tissus normaux des diverses espèces animales sont constamment négatives.

Cette méthode, dérivée d'une technique classique dans l'étude des rickettsies et la préparation de vaccins antirickettsiens, exige que les animaux soient portés dans une ambiance où la température est maintenue constante à 16°C. Elle a l'avantage d'être simple, facile à exécuter sans trop d'appareillage spécial.

L'obtention de virus trachéomatoux par l'inoculation aux poumons de rongeurs permet de préparer des antigènes et des sérums en supprimant pratiquement (en ayant un réactif préparé à partir d'une souche "rongeur" et l'autre à partir d'une souche "oeuf") les absorptions qui seraient nécessaires dans le cas de produits préparés par cultures dans des tissus homologues.

La préparation d'allergènes ou de vaccins est aussi simplifiée - éventuellement - puisqu'on ne risque pas d'observer de réactions des humains aux constituants de l'oeuf; on sait que l'élimination des composants de l'oeuf dans un vaccin exige des techniques de purification souvent difficiles.

4. Conservation

Les gros virus ainsi isolés se conservent très bien à basse température (-60°C), cependant leur transport à longue distance pose encore des problèmes qui ne sont pas encore entièrement résolus.

II. PROPRIETES DU VIRUS TRACHÉOMATEUX

1) Le virus cultivé dans les oeufs embryonnés est morphologiquement semblable aux virus du groupe lymphogranulomatose-psittacose; quand ce virus se présente sous forme de corpuscules isolés, ses dimensions sont comprises entre 200 et 500 millimicrons; Collner et coll (1958) l'ont vérifié au microscope électronique. Ce virus se colore en rouge, pouvant aller au rouge rubis par la méthode de Macchiavello, en mauve par la coloration de Gramsa.

2) Les auteurs de l'Institut Pasteur de Tunis ont montré que le virus cultivé dans les poumons de rongeurs avait les mêmes dimensions et affinités tinctoriales.

3) Roger (1958) a poursuivi cette étude cytologique, montrant que le corps élémentaire est presque entièrement réduit à l'état d'un granule isolé de chromatine et peut être considéré comme un individu haploïde simplifié. Il se divise en deux particules - filles qui partagent son A D N. Les autres types de particules du virus sont plus complexes et comportent chromatine et cytoplasme.

4) Ces virus sont, comme Feng et coll (1957) l'ont montré, résistants à de fortes concentrations de streptomycine (1000 à 1500 microgrammes par ml). Au moins in vitro, ces virus seraient sensibles à la pénicilline.

5) Injecté à fortes concentrations dans le sac vitellin d'embryons de poulet de six à huit jours, ce virus exerce généralement une action létale entre quatre et neuf jours après l'inoculation. Nous avons constaté toujours une congestion et une hypervascularisation de l'embryon.

6) Inoculés aux singes ou à des volontaires humains, ces virus y créent des lésions identiques à celles du trachome spontané.

7) Le ou les virus du trachome est sérologiquement apparente aux virus du groupe lymphogranulomatose-psittacose, il contient l'antigène thermostable de ce groupe fixant le complément.

8) En outre, s'agissant des virus trouvés en Tunisie, on a montré que les serums de malades atteints de trachome, de volontaires inoculés, d'animaux immunisés agglutinent très spécifiquement le virus du trachome lui-même. Ainsi l'espoir existe d'une réaction de microagglutination spécifique qui permette le diagnostic sérologique du trachome et, peut-être, d'en suivre l'évolution et qui permette aussi l'identification sérologique des souches de virus isolées.

9) Plus récemment, Giroud (1959) a montré l'existence d'une allergie spécifique dans le trachome.

10) Enfin, l'inoculation par voie nasale dans les poumons de rongeurs a l'avantage de présenter des images qui ressemblent à celles constatées chez l'homme trachomateux. On pense qu'il sera ainsi possible d'étudier le cycle évolutif de ce virus pour en faciliter la compréhension.

III. ADENOVIRUS ISOLÉS

1) Au cours d'une enquête épidémiologique en Arabie Saoudite, Jell et coll (1959) et Feng et coll (1959) ont isolé des prélèvements oculaires de malades atteints de trachome clinique, soixante-cinq souches d'adénovirus appartenant à treize types différents (les types les plus fréquents étant 3, 8, 17 et Bar-2). Ces publications doivent être lues in extenso étant donné leur importance. Leurs auteurs émettent de prudentes conclusions. On n'en demeure pas moins sous l'impression que "le complexe clinique décrit en Arabie Saoudite sous le nom de trachome" peut être causé par ces adénovirus;

à tout le moins ils produisent, chez les sujets inoculés, des manifestations cliniques qui peuvent être décrites comme une conjonctivite folliculaire aiguë qui ne peut être cliniquement distinguée du trachome naturel à son début.

2) D'autre part, Jones, Jolliffe et Smith (1959) ont isolé des virus d'une femme ayant une cervicite à inclusions et d'un bébé avec une blennorrhée à inclusions (conjonctivite muco-purulente bilatérale avec présence de follicules à l'examen clinique et de corps de Halberstaedter-Prowazek typiques à l'examen cytologique). Les réactions tinctoriales et la morphologie de ces agents ne semblent à celles des virus du trachome et des autres membres du groupe lymphogranulomatose-psittacose; ils ont en commun un antigène fixant le complément. Un de ces virus a été inoculé à des babouins, créant de sévères conjonctivites à inclusions, ce qui est une forte présomption du rôle étiologique de cet agent dans la blennorrhée à inclusions.

Ainsi se trouve posé le problème de l'étiologie du syndrome clinique connu sous le nom de trachome. À côté du trachome "vrai", ou clinique et laboratoire coïncident, existerait-il un syndrome analogue, dû à l'action d'autres virus, seuls ou associés à des bactéries? Y a-t-il une corrélation précise entre la présence d'inclusions (corps de H.P.) dans les examens cytologiques et le trachome? Quelles méthodes employer pour mettre en évidence "à coup sûr" ces inclusions? Quelles sont quelques-unes des réflexions soulevées par ces observations.

IV. CONCLUSIONS

On le voit, la phase nouvelle de nos connaissances sur le virus trachomeux est récente, puisqu'elle n'a pas tout à fait trois ans. Il n'est donc pas étonnant que ces acquisitions soient fragmentaires et laissent beaucoup de points d'interrogation.

Quelques faits sont acquis:

- il existe des techniques générales de culture de cet agent; ces méthodes sont simples;
- les souches jusqu'ici isolées ont des caractéristiques qui les font ranger dans le groupe "psittacose-lymphogranulomatose"; elles appartiennent au genre Miyagavanella;
- le trachome, cliniquement maladie localisée, fait apparaître des anticorps dans le sang circulant et une allergie générale.

Quelques hypothèses sont probables et méritent, en tout cas, un complément d'étude:

- toutes les souches de virus trachomateux ne sont pas identiques;
- des syndromes, cliniquement impossibles à distinguer du trachome, pourraient bien être dus à des virus qui seraient différents des "virus trachomateux";
- le trachome clinique ne serait-il pas une manifestation locale d'une maladie plus généralisée? d'autres syndromes pourraient relever de la même origine.

Il est bien évident que la possibilité maintenant offerte de cultiver le ou les agents du trachome doit permettre de renouveler l'ensemble de nos connaissances sur cette maladie, doit être un puissant stimulant pour des études précises et détaillées afin d'aboutir à la disparition de ce fléau. Nous n'insisterons pas sur les expérimentations de science pure qui pourraient venir, d'ailleurs, à l'esprit de chacun. Il nous apparaît cependant qu'il est une question pratique primordiale qui mérite une promptre réponse, c'est celle de la sensibilité aux agents thérapeutiques (antibiotiques, en particulier) des souches de virus trachomateux. On sait trop les dépenses considérables engagées dans les traitements de masse, on voit trop les heureux effets d'un traitement efficace sur les individus et les collectivités pour ne pas souhaiter que des moyens puissants permettent de s'attaquer à ce problème. Problème qui ne sera réglé que par une étroite collaboration, non seulement des équipes nationales, mais aussi internationales: des résultats fragmentaires et incomplets peuvent être plus nuisibles, du point de vue qui nous intéresse, que pas de résultats du tout.

Trop souvent, dans le passé et dans tous les pays du monde, les crédits mis à la disposition des recherches pures ou appliquées n'ont été qu'une très faible fraction des sommes consacrées à la lutte, plus ou moins empirique, sur le terrain. Cependant, un problème bien réglé au laboratoire, vérifié par des constatations cliniques correctes assurera, aux moindres frais, les meilleurs résultats possibles dans la lutte et le contrôle des grandes endémies.

Plus particulièrement, s'agissant du trachome, les progrès de la prophylaxie ont été entravés par la pénurie des données épidémiologiques de base, par le fait que le traitement, bien qu'efficace, demande à être

prolonge longtemps, et par l'absence de tous moyens d'immunisation. Dans ces domaines, comme dans d'autres, il semble que l'isolement récent du virus du tracoma et sa culture en série et en quantité marqueront un tournant dans la recherche appliquée.

BIBLIOGRAPHIE

- Bell S.D., Mc Comb D.L., Murray E.S., Shih-man Chang et Snyder J.C., Am. J. trop. Med. Hyg. (sous presse 1959)
- Burnet Et., Guenod A. et Nataf R., Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1940, 30, 227
- Burnet Et., Cabasso V., Guenod A. et Nataf R., Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1942, 31, 165
- Collier L.H. et Sowa J., Lancet, 1958, 1, 993
- Collier L.H., Duke Elder S. et Jones B.R., Brit J. Ophthalm., 1958, 62, 705-720
- Guenod A. et Nataf R., Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1938, 27, 284
- Feng H., Shih-man Chang T., Smith T. et Snyder J.C., Am. J. Trop. Med. Hyg. (sous presse, 1959)
- Giroud P., C.R.Ac.Sc., 1959, 249, 805-807
- Giroud P. et Renoux G., C.R.Ac.Sc., 1956, 242, 1656
- Giroud P. et Renoux G., (a) Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1958, 35, 337
(b) ibidem. 1958, 35, 341
- Giroud P., Renoux G. et Malnov F., C.R.Ac.Sc., 1956, 242, 207
- Giroud P., Renoux G. et Nataf R., VIème Congrès intern. Méd. trop. Lisbonne 1958
- Giroud P., Renoux G. et Nataf R., Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1958, 35, 327
- Jones B.R., Collier L.H. et Smith C.H. Lancet, 1959, 1, 902-905
- Lecchiavello A., Rev. Ecuador. Hig. Med. 1944, 2, 211
- Murray E.S., Snyder J.C. et Bell S.D. VIème Congrès intern. Méd. trop. Lisbonne, 1958
- Renoux G., Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1957, 34, 311
- Renoux G., Tunisie med., 1959, 37, 247-261
- Renoux G., Nataf R. et Giroud P., XVIIème Congrès intern. Ophthalm., Bruxelles, 1958
- Renoux G., Giroud P. et Nataf R., Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1956, 35, 333
- Roger Ince A., Bull. Soc. Pathol. exot., 1958, 51, 480-484
- Snyder J.C., Page R.C., Murray E.S., Daggy R.H., Bell S.D., Nichols R.L., Haddad N.A., Hanna A.T., et Mc Comb D., Amer. J. Ophthalm. (à paraître 1959)
- T'ang E.F., Chang H.L., Huang I.T. et Wang K.C. Chin. Med. J., 1957, 75, 429-447.