

Il y a 60 ans (1949), les cultures cellulaires permettaient enfin de multiplier aisément les virus de la poliomyélite *

par Claude CHASTEL **

Cette avancée, due à trois virologistes américains, John F. Enders, Thomas H. Weller et Frederick C. Robbins, de l'École de médecine de Harvard, fut rapidement récompensée par un prix Nobel conjoint de physiologie et médecine (1954). Tous trois étaient des spécialistes de la pathologie infectieuse pédiatrique et, en 1949, ils ont apporté au monde scientifique la possibilité de cultiver les virus, de façon relativement simple, en utilisant des cultures cellulaires de différentes natures, embryonnaires et humaines. La technique des cultures cellulaires était, certes, connue depuis le début du XX^{ème} siècle (R.G. Harrison, 1907 ; Alexis Carrel, 1912), mais elle était difficilement praticable en routine, du fait de contraintes techniques. De plus, elle était sérieusement concurrencée par l'inoculation à l'œuf de poule embryonné, mise au point par E.W. Goodpasture *et al.*, en 1931, plus simple, tout en ayant aussi d'importantes limites.

Une ère nouvelle s'ouvrait en virologie

Le travail d'Enders et de ses collaborateurs, paru dans *Science*, en 1949 (1), provoqua une véritable révolution en virologie : on pouvait enfin cultiver, de façon reproductible et en masse, les trois virus de la poliomyélite. Or, cette maladie redoutable faisait à l'époque d'immenses ravages, dans les pays industrialisés et dans les régions tropicales (2). La culture des virus poliomyélitiques permit la mise au point de vaccins anti-poliomyélitiques qui s'avèrent d'emblée très efficaces (J. E. Salk, 1953 ; A. B. Sabin, 1955) et qui sont toujours utilisés actuellement dans le programme O.M.S. d'éradication mondiale de cette maladie. Prévue initialement pour 2000, celle-ci n'est toujours pas achevée à cause de difficultés majeures relevant de facteurs virologiques, environnementaux et socio-culturels (3).

Bien plus, les cultures cellulaires ont permis de multiplier de très nombreux autres virus, déjà cultivés dans l'œuf de poule (rougeole, oreillons) ou responsables de maladies dont la nature virale était fortement soupçonnée, comme la rubéole ou la maladie des inclusions cytomégaliqes, voire des virus dont on ignorait totalement l'existence

* Comité de lecture du 14 février 2009.

** 3, rue Rouget de l'Isle, F- 29200 Brest. Courriel : chastelc@aol.com.

Cultivation of the Lansing Strain of Poliomyelitis Virus in Cultures of Various Human Embryonic Tissues¹

John F. Enders, Thomas H. Weller,²
and Frederick C. Robbins³

Research Division of Infectious Diseases, Children's Hospital, and Departments of Bacteriology, Comparative Pathology, and Pediatrics, Harvard Medical School, Boston

An extraneural site for the multiplication of the virus of poliomyelitis has been considered by a number of investigators (2, 5). The evidence that this may occur is almost entirely indirect, although recent data indicate that Theiler's mouse encephalomyelitis virus as well as various mouse pathogenic poliomyelitis-like viruses of uncertain origin may multiply in nonnervous tissue (1, 3). Direct attempts by Sabin and Olitsky (4) to demonstrate *in vitro* multiplication of a monkey-adapted strain of poliomyelitis virus (MV strain) in cultures composed of certain nonnervous tissues failed. They obtained, however, an increase in the agent in fragments of human embryonic brain.

The general recognition that the virus may be present in the intestinal tract of patients with poliomyelitis and of persons in contact with them emphasizes the desirability of further investigation of the possibility of extraneural multiplication. Accordingly, experiments with tissue cultures were undertaken to determine whether the Lansing strain of poliomyelitis virus could be propagated

¹ Aided by a grant from the National Foundation for Infantile Paralysis, Inc.

² Post doctorate Fellow of the U. S. Public Health Service.

³ Senior Fellow in Virus Diseases of the National Research Council.

(*adenovirus*, *enterovirus* non poliomyélitiques). Ceci déboucha, plus tard, sur l'obtention d'autres vaccins anti-viraux, notamment contre la rougeole, la rubéole, les oreillons et la varicelle, en même temps que le diagnostic de ces infections virales était amélioré. La virologie générale profita aussi des cultures cellulaires : concentration, purification, analyse physico-chimique et structurale des virus, génétique virale. Par exemple, la technique des plages de lyse en cultures cellulaires de Dulbecco (4), outre le fait qu'elle fournissait des marqueurs phénotypiques, permettait de titrer les virus avec précision et d'obtenir des clones viraux purs.

Trois fortes personnalités scientifiques

John Franklin Enders (1897-1985) est né à West Hartford, Connecticut, le 10 février 1897. Il était le fils d'un banquier de la ville, John O. Enders, et de Harriet G. Whitmore, son épouse. Il fit d'excellentes études secondaires, d'abord à la "Noah Webster School", à Hartford, puis à la "St Paul's School", à Concord, New Hampshire. Puis il s'inscrivit à l'université de Yale, mais ses études universitaires furent interrompues en 1917, par l'entrée en guerre des États-Unis, aux côtés des Alliés. Enders participa à la Grande Guerre, comme pilote de l'U.S. Air force, avec le grade d'enseigne. Après la fin des hostilités, il put reprendre ses études à Yale et fut reçu "Bachelor of Arts" en 1919 ; enfin il obtint une maîtrise, en 1920.

Ainsi diplômé, il s'essaya d'abord au métier des affaires, mais réalisa rapidement qu'il était peu fait pour ce genre d'activité et s'inscrivit à l'Université, à Cambridge, Connecticut. Là, il fut d'abord attiré par les lettres, avec l'idée de devenir professeur d'anglais. Toutefois, il se rendit bientôt compte que ce n'était pas non plus sa voie. Comme il fréquentait volontiers, à Harvard, des étudiants en médecine, il fut finalement attiré par cette discipline et se convertit à la bactériologie et à l'immunologie, sous l'influence de Hans Zinsser, responsable du Département correspondant à Harvard. Zinsser était au début d'une brillante carrière durant laquelle il allait s'illustrer par des travaux fondamentaux sur le typhus exanthématique. Il eut une influence déterminante sur l'avenir scientifique du jeune Enders qui commença à préparer un diplôme de Ph. D. qu'il obtint en 1930. En 1940, il participa avec H. Zinsser et H. Plotz (5) à la mise au point d'un vaccin contre le typhus exanthématique, faisant appel à des cultures de cellules embryonnaires de poulet. Cette technique, tout comme l'inoculation des rickettsies dans le jaune de l'œuf de poule embryonné (Cox, 1938), permettait de produire en masse un vaccin d'intérêt "stratégique", puisque la Seconde Guerre mondiale venait de commencer et que le typhus demeurait un des principaux fléaux des armées en campagne.

En 1941, il étudia, avec P.Y. Liu et John C. Synder (6), l'infection de la souris blanche par la rickettsie du typhus exanthématique, après irradiation par les rayons X. Cette technique en déprimant les défenses immunitaires de l'hôte, fournissait un animal de laboratoire d'usage plus pratique que le cobaye, pour l'étude du typhus exanthématique.

Mais, dès 1938, Enders avait aussi commencé à s'initier à l'étude des virus humains et à leur multiplication dans les tissus de l'œuf de poule embryonné. En 1941, utilisant des cultures de poumon embryonnaire de poulet, il examina les effets de la température ambiante sur la multiplication du virus grippal A chez l'embryon de poulet et chez le poulet (7). Il montra ainsi que le virus se développait bien à 37°C, mais que sa culture était complètement inhibée à 41°C. Par cette observation, il se plaçait en précurseur de l'étude des effets des facteurs non spécifiques (température, pH) sur le déroulement du cycle viral. En effet, ce problème fondamental fut ultérieurement repris avec le virus

poliomyélique (M. Likar et D.C. Wilson, 1958 ; A. Lwof, 1959) lorsque ce virus fut aisément cultivable et quantifiable, grâce aux travaux d'Enders, Weller et Robbins. En 1941, également, il commença l'étude des oreillons en collaboration avec S. Cohen et L.W. Levens. De 1943 à 1946, de nombreux aspects, expérimentaux et immunologiques, de l'infection ourlienne furent abordés avec succès (8). Entre autres résultats, ils parvinrent à atténuer le virus ourlien par des passages répétés sur l'embryon de poulet. Il y avait là, en germe, les futurs vaccins contre la maladie (9).

En 1946, Enders fut chargé de créer un centre de recherche au "Children's Medical Center" de Boston où se trouvait l'hôpital des enfants malades. Il dirigea ce service pendant toute sa vie scientifique. Il y constitua une équipe destinée à révolutionner la virologie et comprenant Thomas H. Weller, jeune post-doctorant, dont il s'était déjà occupé de 1939 à 1942, et Frederick C. Robbins, autre jeune chercheur, ayant une bonne expérience de la virologie clinique .

En 1949, ils avaient réussi à multiplier les virus de la poliomyélite dans des cultures de cellules humaines, non nerveuses (1), ce qui leur valut de recevoir conjointement le prix Nobel, à peine cinq ans plus tard. Cette même année 1954, Enders réussissait, avec T. C. Peebles, la culture du virus de la rougeole dans des cellules cultivées de rein de singe (10), ouvrant la voie au diagnostic de laboratoire de cette infection et à sa prophylaxie par un vaccin vivant, toujours utilisé actuellement. Peu après, il donnait à un groupe de virus respiratoires particuliers leur nom de genre, universellement adopté, les *adenovirus* (11).

En 1959, Enders mit en évidence, avec M. Ho (12), dans des cultures de cellules rénales humaines, inoculées avec le *poliovirus* type II, un facteur soluble séparable du virus et qui avait une très forte activité inhibitrice sur ce même virus cultivé en cellules amniotiques humaines. Ce facteur, également actif sur les *poliovirus* type I et III, le virus Sindbis, les virus de la vaccine et de l'herpès, correspondait en fait à l'interféron, découvert peu de temps auparavant (E. Isaacs et J. Lindenmann, 1957). À deux ans près, la priorité d'une autre très grande découverte venait d'échapper à Enders.

Les travaux de John F. Enders lui ont valu d'être sollicité par de nombreuses sociétés savantes, américaines et étrangères. Il faisait partie de la Society for General Microbiology, de la Royal Society for the Promotion of Health de Grande-Bretagne et de la Deutsche Akademie der Naturforscher. Il était correspondant étranger de la British Medical Association et de l'Académie Royale de Médecine, de Bruxelles. Il s'est éteint en 1985.

Thomas Huckle Weller est né le 15 juin 1915 à Ann Arbor, Michigan. Il fit ses études secondaires dans différentes écoles publiques de cette ville, avant de commencer, en 1932, des études supérieures à l'Université du Michigan. En 1936, il y obtint le diplôme de "Bachelor of Arts". Les débuts de sa carrière furent marqués par une forte attirance pour les sciences naturelles et la zoologie. Pendant deux étés, il travailla sur des parasites de poissons, dans une station biologique de l'Université du Michigan. En fait, il semble avoir hésité toute sa vie entre la parasitologie et la virologie, mais c'est dans cette dernière discipline qu'il s'illustra le plus. Ses travaux sur la trichinellose ou les bilharzioses n'ont pas beaucoup retenu l'attention du monde scientifique.

En 1936, il se décida pour des études médicales et rejoignit la Harvard Medical School, à Boston, où il commença à travailler dans le Department of Comparative Medicine and Tropical Medicine, sous la direction d'Ernest E. Tyzzer et de Donald L. Augustine, deux parasitologistes. Toutefois, Tyzzer n'était pas uniquement parasitolo-

giste. En 1904, à la prison de Manille, aux Philippines, où le grand pathologiste américain W. T. Councilman l'avait dépêché pour étudier les lésions de la variole, il avait fait la différence entre variole et varicelle. Il avait examiné des coupes microscopiques de peau et montré que ces deux affections se manifestent par des lésions cutanées entièrement différentes. Tyzzer avait mis en évidence, dans le noyau de cellules infectées par la varicelle, des inclusions nucléaires caractéristiques. En 1937, Weller était reçu "Master of Sciences".

En 1939, à Harvard, il rencontra J.F. Enders qui le prit dans son service où il commença à s'initier à la recherche sur les virus, à leur culture dans l'œuf et à l'utilisation des cultures cellulaires. Dans ce dernier domaine, Weller profita de l'expérience d'un autre étudiant en médecine, Laurence C. Kingsland junior qui commençait à maîtriser les cultures cellulaires en tubes roulants ("roller tubes"), selon la technique de George O. Gey. En 1940, Weller obtint son diplôme de docteur en médecine et commença une formation clinique à l'Hôpital des Enfants Malades, de Boston.

Mais la Seconde Guerre mondiale vint interrompre ces débuts prometteurs. En 1942, il rejoignit le Service de santé de l'Armée américaine, à Puerto Rico, et fut affecté dans un laboratoire d'armée. Pendant 32 mois, il y dirigea le Département de bactériologie, virologie et parasitologie. Il termina la guerre avec le grade de Major ; il avait 29 ans.

Dès 1947, il retrouva J. F. Enders à Boston et l'aïda à développer le Service de recherche du Children's Medical Center, où il devait s'illustrer, en même temps que Frederick C. Robbins et J. F. Enders (13). En 1949, il était directeur-adjoint de ce Service et devint enseignant dans le Department of Comparative Pathology and Tropical Medicine et professeur associé de la Harvard Medical School of Public Health, une façon de revenir à la parasitologie par le biais de la médecine tropicale. En fait, presque tous ses travaux ultérieurs ont été orientés vers la virologie médicale. En 1954, il fut nommé professeur de santé publique tropicale à Harvard. Cette même année, il publia un travail sur la culture de *Toxoplasma gondii*, l'agent de la toxoplasmose, en utilisant des cellules embryonnaires murines et humaines, cultivées en tubes roulants (14). Il obtint une intense multiplication intracellulaire du parasite. À l'époque, il y avait longtemps que les virologistes avaient déjà cultivé le toxoplasme *in vitro* (C. Levaditi et P. Lépine, 1929 ; A.B. Sabin et P.K. Olitski, 1937), car c'était eux qui avaient la maîtrise des cultures cellulaires. Cette culture, réalisée directement à partir de prélèvements cliniques, est devenue un excellent outil de diagnostic au laboratoire de la toxoplasmose, au cours des années 1980.

Mais dorénavant, les virus de la varicelle et du zona (15), ainsi que le *cytomegalovirus* (16) vont faire l'objet de toute son attention. Il montrera notamment, en 1958, avec H. M. Witton et E. J. Bell, que les virus de la varicelle et du zona ne sont qu'une seule et même entité virale (17), le virus varicelle-zona (VZV). VZV et cytomégalovirus ont progressivement acquis dans nos sociétés occidentales une importance considérable, du fait de l'augmentation progressive de l'âge des malades et de la place croissante de l'immunodépression, dans la médecine contemporaine.

T. H. Weller a également étudié la pleurodynie épidémique, ou maladie de Bornholm, infection virale provoquée par des *coxsakievirus* B. Ses compétences en pathologie infectieuse et parasitaire valurent à Weller de diriger, entre 1953 et 1959, la Commission des maladies parasitaires de l'Armée américaine. En 1985, il devint professeur émérite de Harvard. En 1991, encore, il participa à New York à la première conférence mondiale sur le VZV et y prononça la conférence inaugurale (18). En 2005, T.H. Weller était encore

capable de rédiger sa propre biographie [<http://www.nobel.se>]. Il est décédé, dans son sommeil, le 23 août 2008.

Frederick Chapman Robbins (1916-2003) est né le 25 août 1916, à Auburn, Alabama. Son père, Williams J. Robbins, était botaniste et devint plus tard directeur du New York Botanical Garden. Sa mère était Christine Chapman.

Il fit ses études supérieures à l'Université du Missouri dont il obtint, en 1936, le grade de Bachelor of Arts et, en 1938, celui de Master of Sciences. En 1940, il fut diplômé de la Harvard School of Medicine et fut affecté comme médecin résident en bactériologie, à l'Hôpital des Enfants Malades, à Boston. Il y poursuivit sa formation jusqu'en 1942, moment où il rejoignit le Service de santé de l'Armée américaine. Il y fut chargé de diriger la section des maladies virales et rickettsiennes du Fifteenth Medical General Laboratory. Avec ce laboratoire, il servit aux États-Unis et en Afrique du nord, et débarqua en Italie. Pendant cette période, il fut confronté aux hépatites infectieuses, au typhus exanthématique et, surtout, à la fièvre Q (19), en même temps qu'il avait la responsabilité du diagnostic de routine des infections virales. Ainsi, il s'intéressa à l'immunologie des oreillons, une virose frappant aussi bien les enfants que les jeunes recrues militaires (20). En 1945, il fut décoré de la Bronze Star for Distinguished Services et lorsqu'il quitta l'armée, en 1946, à trente ans, il avait comme Weller le grade de Major .

De retour à la vie civile, Robbins réintégra l'Hôpital des Enfants Malades pour y compléter sa formation clinique et virologique. De 1948 à 1950, il fut aux côtés de J.F. Enders comme "chercheur senior" en maladies virales, boursier du National Research Council. Il y participa activement à la mise au point des cultures *in vitro* des virus poliomyélitiques (1949), apportant au reste de l'équipe sa grande expérience de la virologie clinique (1,13). De 1950 à 1952, Robbins appartint à l'Université de Harvard où il étudia les virus des oreillons, de l'*herpès simplex* et de la vaccine. Il était l'adjoint de J.F. Enders, chargé de la recherche en virologie pédiatrique et du Service de l'isolement, à l'Hôpital des Enfants Malades.

En 1952, Robbins quitta Harvard pour Cleveland, Ohio, où il fut nommé professeur de pédiatrie à la Western Reserve University School of Medicine, en même temps que directeur du Département de pédiatrie et des maladies infectieuses du Cleveland Metropolitan General Hospital, fonctions qu'il assura jusqu'à sa retraite, en 1986. À partir de 1957, F.C. Robbins fut président du Committee on Medical Education of the Western Reserve University Medical School. Dans cette deuxième partie de sa carrière scientifique, Robbins s'est surtout consacré à la prophylaxie des maladies virales de l'enfant : vaccination contre la rougeole et études sur les marqueurs biologiques des souches du vaccin vivant anti-poliomyélitique. Il a également approfondi d'autres aspects de la virologie pédiatrique : infections à *coxsackievirus* B, autres entéroviroses, méningites aseptiques, *poliovirus*, varicelle, zona, rougeole et rubéole (21, 22, 23).

Robbins a été conseillé en épidémiologie, membre associé de la Commission des maladies virales de l'Armée américaine, et consultant de la National Association for Retarded Children. Il fut membre de l'Académie américaine de pédiatrie et appartint au Conseil de la Santé publique de l'Ohio. Il fut aussi consultant du "National Institute of Allergy and Infections Diseases et du Centre de recherche en primatologie de l'Orégon. En 1955, il reçut le diplôme de Doctor of Science honoraire de la John Carroll University of Cleveland. En 1958, la même distinction lui a été conférée par son université d'origine, celle du Missouri. En 1961, il fut élu président de la Society for Pediatric Research

et, en 1962, membre titulaire de la prestigieuse American Academy of Arts and Sciences. F.C. Robbins est décédé le 4 août 2003.

Des travaux d'une très grande portée générale

On pourrait se poser la question de savoir pourquoi, parmi toutes les découvertes médicales majeures de la première moitié du XX^{ème} siècle, le jury Nobel a justement choisi de récompenser trois virologistes américains, pour la culture *in vitro* des virus de la poliomyélite. Après tout, de nombreux virus humains ou animaux avaient déjà été isolés avec la seule aide des animaux de laboratoire ou de l'œuf de poule embryonné. Le virus de la fièvre jaune, identifié dès 1901, avait été isolé par Stokes *et al.*, en 1925, par inoculation au singe rhésus. En 1933, le virus de la grippe A avait nécessité d'infecter des furets, puis des souris blanches. L'année suivante, Charles Armstrong et R.D. Lillie avaient isolé le virus de la chorioméningite lymphocytaire, également en inoculant des souris. Quant aux virus de la poliomyélite, dès 1904 Karl Landsteiner et E. Popper avaient réussi à le transmettre expérimentalement au singe, tandis qu'en 1913, C. Levaditi l'obtenait dans des cellules nerveuses cultivées (24).

En quoi, l'isolement des virus poliomyélitiques dans des cultures cellulaires, représentait-il une avancée majeure, une découverte fondamentale ? C'est que la démarche scientifique adoptée par J.F. Enders, T.H. Weller et F.C. Robbins constituait une rupture par rapport aux modes de pensée habituels de l'époque (25). Le concept qui prévalait alors était que pour réussir à multiplier un virus en cultures cellulaires, il fallait se rapprocher le plus possible des conditions de la maladie virale. On devait donc, logiquement, utiliser des cellules de même origine que celles qui présentaient les lésions caractéristiques de la maladie. C'était le dogme du tropisme propre à chaque virus (25). On parlait de "virus neurotropes" pour désigner ceux qui provoquaient des lésions du système nerveux central, comme ceux de la rage et de la poliomyélite. Il y avait aussi des virus "épithéliotropes", attaquant les cellules épithéliales de la peau ou des muqueuses, comme le virus de la vaccine que l'on cultivait dans l'épithélium de la cornée du lapin, inoculée par scarification (test de Paul). Lorsqu'il fut démontré que l'on pouvait inoculer le virus de la vaccine dans le testicule du lapin, on se servit de cellules testiculaires de cet animal, en culture *in vitro*, pour y multiplier ce virus. Le dogme commençait à s'ébrécher...

Enders et ses collègues partirent d'une toute autre idée. Ils savaient que la poliomyélite n'était pas qu'une infection neurologique (1). Le virus se multipliait dans les ganglions mésentériques, était présent dans la gorge et dans le tube digestif des malades, et pas seulement dans la moelle épinière. Il n'était pas uniquement "neurotrophe". Ils préparèrent des cultures de cellules d'embryons humains d'origines très diverses : peau, muscle, intestin, utérus, cerveau, ou encore, de fibroblastes provenant de prépuce de jeunes enfants (13). Dans tous ces types de cellules, le virus poliomyélitique de type II, souche Lansing, se multipliait activement, provoquant des lésions cellulaires caractéristiques, ce que l'on appela un effet cytopathogène. Enders a d'ailleurs consacré, en 1954, une étude exhaustive aux effets cytopathogènes des virus (26). Il y prédisait que, pour chaque type de virus, on trouverait la lignée cellulaire la mieux adaptée à sa multiplication et présentant des lésions cytologiques, sinon spécifiques, du moins capables d'orienter vers un groupe particulier d'agents viraux. Ceci s'avéra entièrement exact.

L'ère des cultures cellulaires, accessibles à tous, s'ouvrait enfin. On pouvait s'affranchir de l'inoculation à l'œuf ou à l'animal de laboratoire, furet, souris, et surtout singe. Avec un seul singe, animal coûteux, encombrant, irascible et dangereux, on ne pouvait

réaliser qu'une seule inoculation de virus poliomyélitique. Au contraire, avec un seul rein de ce même singe, on pouvait préparer, avec un peu de chance, jusqu'à 1000 tubes de cellules rénales, très sensibles aux virus poliomyélitiques. Les possibilités de la virologie, notamment industrielle, pour la production de vaccins, se trouvaient multipliées par un facteur 1000 ! De plus, après la Deuxième Guerre Mondiale, on a pu disposer d'antibiotiques, sans action sur les virus, mais que l'on pouvait ajouter aux milieux de culture, pour protéger les cultures cellulaires des très fréquentes contaminations bactériennes qui rendaient acrobatiques les cultures cellulaires "historiques" (25).

On savait qu'il existait trois types sérologiques de virus poliomyélitiques, les types I, II et III. Leur identification précise avait une grande importance pratique, pour comprendre l'épidémiologie de la maladie et préparer des vaccins polyvalents, c'est-à-dire capables de protéger contre ces trois types. Pour réaliser ce "typage" des souches provenant de malades, les cultures cellulaires constituaient un outil moins coûteux que le singe et très performant. Il était temps ! Pour typer les cent premières souches de virus poliomyélitiques isolées aux États-Unis, entre 1948 et 1951, il avait fallu sacrifier des milliers de singes ! De plus, la poliomyélite était en pleine recrudescence (2).

La suite est connue. Les vaccins antipoliomyélitiques inactivés de Jonas Salk, aux États-Unis, de Pierre Lépine, en France, et de Sven Gard, en Suède, furent prêts au cours des années 1950. Dès le début de leur emploi, on observa une chute spectaculaire des statistiques de morbidité et de mortalité par poliomyélite, dans les pays où ils furent utilisés (2). Puis, le vaccin vivant d'Albert Sabin (1955) vint rapidement compléter notre arsenal prophylactique, en particulier pour les pays en développement. Enfin, l'isolement ou l'adaptation en cultures cellulaires, du virus de la rougeole, du virus varicelle-zona, du virus des oreillons et de celui de la rubéole, fruits des travaux de la même équipe, débouchèrent sur la mise au point d'autant de précieux vaccins antiviraux, pouvant être associés, comme dans le vaccin ROR (Rubéole, Oreillons, Rougeole).

Depuis le milieu des années 1980, en grande partie sous la pression du Sida, la virologie est entrée dans une nouvelle ère révolutionnaire. La Biologie moléculaire a complètement bouleversé nos modes de pensée et de travail. Il n'est plus nécessaire actuellement de cultiver un virus dans un quelconque système cellulaire pour pouvoir le caractériser avec précision. Les techniques d'amplification génique ou PCR (Polymerase chain reaction) permettent d'identifier un virus sans l'avoir jamais cultivé au préalable. C'est ce que l'on a appelé la "virologie sans virus". Elle permet de faire face à l'émergence de n'importe quel virus qu'il soit déjà connu ou plus ou moins inconnu (hépatites C et E, hantavirose respiratoire). De plus, ces techniques moléculaires permettent de définir avec précision, non plus des types sérologiques d'un même virus, mais des types génomiques, basés sur les caractères génétiques propres à chaque souche et d'en dresser les arbres phylogénétiques (Épidémiologie moléculaire).

Il ne faudrait pas croire, cependant, que les techniques moléculaires aient entièrement supplanté les cultures cellulaires. Celles-ci demeurent encore indispensables dans de nombreux domaines de la virologie, en particulier dans le développement de vaccins à usage médical ou vétérinaire. Ainsi, le vaccin contre l'hépatite B, bien qu'obtenu par recombinaison génétique, utilise la lignée cellulaire CHO d'ovaire de hamster pour exprimer les antigènes de surface du virus, S et pré-S2. Enfin, grâce aux cultures cellulaires on peut tester *in vitro* l'activité de nouvelles molécules à potentialité antivirale, un domaine primordial de la virologie clinique, si l'on veut un jour pouvoir traiter de

nombreuses maladies virales encore inaccessibles à la thérapeutique antivirale : Ébola, dengue, West Nile, Chikungunya, par exemple.

Autres applications en biologie humaine et animale

Actuellement, il est possible de cultiver *in vitro* un grand nombre de types cellulaires même hautement différenciés (27) : ostéoblastiques, musculaires squelettiques ou cardiaques, nerveuses, hépatocytaires, endothéliales et hématopoïétiques, pluripotentes induites, etc. La culture des lymphocytes B permet la multiplication du virus d'Epstein-Barr et celle des lymphocytes T celle des HIV du sida. Des lignées cellulaires de moustiques permettent d'isoler de nombreux arbovirus. Enfin, sur un plan beaucoup plus général, la technique des cultures cellulaires a permis de brillants succès dans la recherche sur les maladies génétiques, la cancérologie, les différentes techniques de fécondation *in vitro*, les greffes de cellules et d'organes, les clonages, la toxicologie, la thérapie génique, la production de médicaments *in vitro* et des études fondamentales de biologie cellulaire.

Conclusion

L'avènement, en 1949, des cultures cellulaires pratiquées en routine a permis des progrès considérables et rapides dans de nombreux domaines de la virologie humaine et animale : diagnostics, épidémiologie, prophylaxie vaccinale et thérapeutique. Elles ont aussi bouleversé d'autres domaines de la biologie, permettant d'accéder aux fondements mêmes de la vie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) ENDERS J.F., WELLER T.H. et ROBBINS F.C. - Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various embryonic tissues. *Science*, 1949, 109, p. 85-87.
- (2) CHASTEL C. - L'émergence de la poliomyélite (XIX^{ème}-XX^{ème} siècles). In *Virus émergents ; vers de nouvelles pandémies ?* Vuibert. ADAPT-SNES Edit, Paris, 2006.
- (3) WRIGHT P.F. et MODLIN J.F. - The demise and rebirth of Polio- A modern phoenix ? *J. Infect. Dis.*, 2008, 197, p. 335-336.
- (4) DULBECCO R. - Production of plaques in monolayer tissue cultures by single particles of an animal virus. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1952, 38, p. 747-752.
- (5) ZINSSER H., PLOTZ H. et ENDERS J.F. - Mass production of vaccine against typhus fever of the European type. *Science*, 1940, 91, p. 51-52.
- (6) LIU P.Y., SNYDER J.C. et ENDERS J.F. - Fatal infection of irradiated white mice with European typhus by the intra-abdominal route. *J. Exp. Med.*, 1941, 73, p. 669-680.
- (7) ENDERS J.F. et PEARSON H.E. - Resistance of chicks to infection with influenza A virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1941, 48, p. 143-146.
- (8) ENDERS J.F. - Observations of immunity in mumps. *Ann. Int. Med.*, 1943, 18, p. 1015-1019.
- (9) ENDERS J.F. - Mumps : techniques of laboratory diagnosis, tests for susceptibility, and experiments on specific prophylaxis. *J. of Pediatrics*, 1946, 29, p. 129-142.
- (10) ENDERS J.F. et PEEBLES T.C. - Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents from patients with measles. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, 86, p. 277-286.
- (11) ENDERS J.F., BELL J.A., DINGLE J.H., FRANCIS T.F., HILLEMANN M.R., HUEBNER R.J. et PAYNE A.M.M. - "Adenoviruses" : group name proposed for new respiratory-tract viruses. *Science*, 1956, 124, p. 119-120.
- (12) HO M. et ENDERS J.F. - An inhibitor of viral activity appearing in infected cell cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1959, 45, p. 385-389.
- (13) WELLER T.H., ROBBINS F.C. et ENDERS J.F. - Cultivation of poliomyelitis virus in cultures of human foreskin and embryonic tissues. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1949, 72, p. 153-155.

- (14) CHERNIN E. et WELLER T.H. - Serial propagation of *Toxoplasma gondii* in roller tube cultures of mouse and human tissues. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, 86, p. 789-794.
- (15) WELLER T.H. et STODDARD M.B. - Intranuclear inclusion bodies in cultures of human tissue inoculated with varicella vesicle fluid. *J. Immunol.*, 1952, 68, p. 311-319.
- (16) WELLER T.H., MACAULEY J.C., CRAIG J.M. et WIRTH P. - Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants with illnesses resembling cytomegalic inclusion disease. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, 94, p. 4-12.
- (17) WELLER T.H., WITTON H.M. et BELL E.J. - The etiologic agent of varicella and herpes zoster. Isolation, propagation, and cultural characteristics *in vitro*. *J. Exp. Med.*, 1958, 108, p. 843-868.
- (18) WELLER T.H. - Varicella and herpes zoster : a perspective and overview. *J. Infect. Dis.*, 1992, 166, suppl 1, p S 1-S 6.
- (19) ROBBINS F.C. et RAGAN C.A. - Q fever in the Mediterranean area : report of its occurrence in Allied Troops. *Am. J. Hyg.*, 1946, 44, p. 6-22.
- (20) ROBBINS F.C. - An evaluation of the test for antihemagglutinin in the diagnosis of infections by the mumps virus. *J. Immunol.*, 1949, 61, p. 235-242.
- (21) RIVADENEIRA J.C., ROBBINS F.C., CREA M. et EIBEN R.M. - The distribution of group B coxsackie viruses in children's institution. *Pediatrics*, 1957, 20, p. 468-476.
- (22) LEPOW M.L., CARVER D.H. et ROBBINS F.C. - Clinical and epidemiologic observations on enterovirus infection in a circumscribed community during an epidemic of ECHO 9 infection. *Pediatrics*, 1960, 26, p. 12-26.
- (23) LEPOW M.L., CARVER D.H., WRIGHT H.T., WOODS W.A. et ROBBINS F.C. - A clinical, epidemiologic and laboratory investigation of aseptic meningitis during the four year period, 1955-1958. *N. Engl. J. Med.* 1962, 266, p. 1181-1193.
- (24) LEVADITI C. - Virus de la poliomyélie et culture de cellules *in vitro* . *C.R. Séances Soc. Biol.*, 1913, 75, p. 202-205.
- (25) CHASTEL C. - La merveilleuse histoire des cultures cellulaires. In : *Histoire des Virus ; de la variole au Sida*, Boubée, Paris, 1992.
- (26) ENDERS J.F. - Cytopathology of virus infections (Particular reference to tissue culture studies). *Ann. Res. Microbiol.*, 1954, 8, p. 473-502.
- (27) BARLOWATZ-MEIMON G. et ADOLPHE M. - *Culture des cellules animales*, INSERM, Paris, 2003.

INTERVENTIONS :

Louis-Armand HÉRAUT.

Je voudrais intervenir pour signaler l'extraordinaire efficacité de la vaccination anti-poliomyélitique dont j'ai pu observer les effets sur le terrain en Afrique noire. En 1968, médecin capitaine des Troupes de marine et jeune assistant des hôpitaux, j'avais été nommé responsable du service de pédiatrie de l'hôpital Adolphe Sice de Pointe Noire, ville portuaire du Congo-Brazzaville. Le service de 80 lits recevait 10 enfants chaque jour et la mortalité y était importante, en moyenne un décès tous les deux jours. C'était une pathologie lourde : paludisme pernicieux, déshydratations aiguës de diverses origines, drépanocytose, méningites à méningocoques et à pneumocoques, staphylococcies bulleuses, kwashiorkor, tétanos, tuberculose... Sur ce fond pathologique habituel sont apparus d'abord quelques cas isolés de "poliomyélite antérieure aiguë" sous forme de monoplégie qui, au membre inférieur, devait être différenciée des monoplégies sciatiques, conséquence d'une injection intramusculaire mal faite de "quinoforme" dans les fesses d'enfants dénutris (pour ma part le diagnostic était simple : si l'enfant pleurait après une piqûre cutanée en zone paralysée c'était une polio, s'il ne réagissait pas c'était une atteinte sciatique). Puis arrivèrent dans les trois semaines qui suivirent des cas de plus en plus nombreux avec toutes les formes à expressivité neurologique. Devant l'incurie des autorités locales en proie à des désordres politiques graves, par l'intermédiaire d'un camarade, on fit appel au "Lions-club" local qui fit venir en urgence des USA 80 000 doses de vaccin buccal. Si je me souviens bien, ce vaccin buvable ne comportait que deux

souches de virus atténués au lieu des trois souches du vaccin Lépine injectable. Les doses furent distribuées en 48 heures dans la ville indigène et en huit jours il n'y eut plus aucun enfant hospitalisé pour une atteinte paralytique d'origine poliomyélitique. Sur un peu plus d'une centaine de cas hospitalisés dans le service la mortalité immédiate fut de 15 % mais il y eut de très nombreuses séquelles paralysantes graves. Ces séquelles dont je fus le témoin m'amènèrent à reconnaître une nouvelle fois (comme cela avait été le cas en 1966 en Haute-Volta au cours d'une épidémie de rougeole qui fit 40 000 morts chez les enfants entre 4 mois et 3 ans), les limites de la médecine de soins occidentale en milieu sous-développé. Que sont devenus ces enfants infirmes qui ne pourraient pas travailler et qui resteraient à la charge de populations ayant à peine de quoi se nourrir ? Combien ont survécu à long terme ? Des questions sans réponses. Ce dont je suis certain, c'est que la solution passe nécessairement par l'éducation sanitaire, par la lutte contre les préjugés locaux et par des vaccinations de masse pratiquées sous l'égide d'organismes sanitaires pérennes aux actions coordonnées dont le modèle exemplaire fut le "Service des Grandes Endémies" mis en place par Muraz, Richet, Labusquière et Lapeyssonnie, les continuateurs de Jamot.

Références : HÉRAUT L., ROUSSEAU É. et AUBRY P. - Une épidémie de poliomyélite antérieure aiguë à Pointe-Noire (Congo), *Médecine tropicale*, 1969, 29, 3, 362-364.

Alain SÉGAL

Le problème de la réactivation de la poliomyélite en Afrique préoccupe beaucoup les Américains, au point que la fondation de Bill Gates, moderne philanthrope, en passant par la Fondation du Rotary International, vient de déposer une importante somme de 250 millions de dollars, si ma mémoire ne me trahit pas, pour réactiver cette lutte. Depuis fort longtemps et avec efficacité, le Rotary International s'est préoccupé de cette lutte contre la poliomyélite.

RÉSUMÉ

En 1949, trois virologistes américains, John F. Enders, Thomas H. Weller et Frederick C. Robbins, ont fait faire à la virologie un bon en avant sans précédent. Formés à la Harvard Medical Scholl et travaillant au Children's Medical Center, à Boston, ils avaient réussi à multiplier, de façon aisée et reproductible, les trois virus de la poliomyélite dans des cellules non-nerveuses cultivées in vitro. Peu après (1954), ils furent tous les trois honorés d'un prix Nobel de physiologie et médecine. En effet, leur découverte ouvrait une ère nouvelle en virologie, permettant non seulement de mettre au point rapidement des vaccins anti-poliomyélitiques efficaces (J.E. Salk, 1953 ; A.B. Sabin, 1955), mais aussi d'isoler facilement d'autres virus déjà connus (rougeole, rubéole, oreillons, herpès et zona), ou encore totalement inconnus à l'époque (adenovirus, echovirus, cytomégalovirus). Il en est aussi résulté des progrès considérables dans le diagnostic, la surveillance et la prophylaxie vaccinale des maladies virales humaines et animales. Cette révolution ne s'est pas limitée à la virologie ; elle a aussi eu de nombreuses applications en biologie cellulaire, en cancérologie, en génétique, en biologie de la reproduction et en médecine régénérative.

SUMMARY

In 1949, three American virologists, John F. Enders, Thomas H. Weller and Frederick C. Robbins, from the Harvard Medical Scholl and working at the Children's Medical Centre, Boston, Mass., have provoked a true revolution in Virology. Here, they have succeeded in readily multiplying the three poliomyelitis viruses in vitro, in non-nervous cells cultures. A few years afterwards (1954), they were collectively honoured by the Nobel Prize of Physiology and Medicine. This discovery not only has quickly led to the production of efficient poliomyelitis vaccines (J.E. Salk, 1953 ; A.B. Sabin, 1955) but also has permitted to easily isolate a number of already known viruses (measles, rubella, mumps, herpes simplex and herpes zoster) or until then totally unknown viruses (adenovirus, echovirus, cytomegalovirus). These progresses have significantly contributed to improve diagnosis, sanitary surveillance and vaccinal prophylaxis of human and animal viral diseases. Moreover, the cells cultures techniques have also benefited to other domains of fundamental Biology, such as cellular biology, genetics, cancerology, biology of the reproduction and regenerative medicine as well.

