

Aucune corrélation entre les vaccins contre le poliovirus et l'émergence du SIDA

L'hypothèse selon laquelle le SIDA aurait été introduit dans la population Africaine dans les années 1957-1959 au cours des campagnes de vaccination contre le poliovirus de type I, utilisant le vaccin oral atténué développé par Hilary Koprowski, a été soulevée pour la première fois par le journaliste Tom Curtis [1]. Puis un autre journaliste, Edward Hooper, a développé l'hypothèse de Tom Curtis et a fourni un travail extraordinaire d'investigation sur plus d'une dizaine d'années [2]. Selon ces deux auteurs, ce mode de contamination serait la cause de l'émergence du VIH-1 dans les années 1957-1959 dans l'ancien Congo Belge, dénommé à présent République Démocratique du Congo.

Les préparations des lots de vaccins anti-poliovirus de type I oral (souche CHAT) qui auraient été réalisés à partir de cultures de reins de chimpanzés seraient à l'origine de cette émergence vitale. L'Unité de Rétrovirologie de l'Institut Pasteur (Paris), ainsi que les Instituts Roche (Californie) [3] et Max Planck (Leipzig) [4] ont été choisis par un comité d'experts afin d'analyser les échantillons ayant servi à la réalisation de ces lots de vaccins anti-poliovirus, gardés à l'Institut Wistar de Philadelphie pendant plus de 40 ans. Ces laboratoires nommés par le comité Wistar ont reçu au même moment les échantillons codés et ont réalisé leurs expériences, en parallèle et en aveugle. Dans un même temps, un groupe d'Edimbourg n'ayant pas été choisi par les experts a également analysé deux lots de vaccins [5].

Une brève description des échantillons donnés par l'institut Wistar est

présentée dans le *Tableau I*. CHAT *pool* 13 provient du lot vaccinal le plus utilisé au cours de ces campagnes. Des milliers de personnes, principalement des enfants, ont été vaccinés par ce lot à Léopoldville à la fin des années 1950 [6]. Trois autres échantillons du *pool* CHAT étaient également gardés au *Center for Disease Control* et ont été inclus dans cette analyse (CHAT *pool* 13, CHAT type 1 Wy4B-5, CHAT IFL).

Dans un premier temps, nous avons analysé les échantillons pour la présence de VIH/SIVcpz (virus de l'immunodéficience de singe-chimpanzé) et de poliovirus dans les différents lots ainsi que l'ADN mitochondrial 12S afin de connaître la source exacte de l'animal utilisé. Pour les lentivirus, l'analyse a été réalisée avec un choix d'amorces extrêmement conservées dans les trois groupes majoritaires des lentivirus M, N, et O retrouvés dans le monde, et également dans les isolats de chimpanzés. Une technique expérimentale et particulièrement sensible, nous a permis de détecter 50 à 80 copies d'ARN par millilitre de culture. Après extraction des acides nucléiques totaux, l'ARN viral a été soumis à une transcription inverse avec les amorces spécifiques de poliovirus et de lentivirus VIH-1/SIVcpz. L'ADNc ainsi obtenu a été amplifié par PCR, cloné puis séquencé. Les premiers résultats obtenus ont montré que les échantillons de l'Institut Wistar étaient négatifs pour la présence de VIH-1/SIVcpz. En revanche, la présence de poliovirus a été détectée dans la majorité des échantillons. Cette analyse nous a également montré que les échantillons avaient été conservés dans des conditions suffisamment satisfaisantes pour

permettre une bonne étude génétique, et a ainsi validé nos résultats.

Dans un second temps, nous avons cherché à déterminer la source de primates (macaques ou chimpanzés) utilisés dans cette production vaccinale. Cela a été réalisé par l'analyse d'une région de 140 paires de bases localisées dans le gène de l'ADN mitochondrial 12S [7, 8]. Les amorces utilisées pour la PCR sont extrêmement bien conservées et peuvent amplifier avec la même spécificité une grande famille de primates (singes verts, chimpanzés, Rhésus macaque, sooty mangabey). La présence d'ADN mitochondrial a été détectée dans la plupart des échantillons analysés (*figure 1*). Après amplification et clonage, entre 8 et 20 clones ont été séquencés pour chaque échantillon étudié. A l'exception de l'échantillon CHAT IFL, la majorité des séquences étaient phylogénétiquement proches du singe Rhésus macaque (*Macaca mulatta*) ou du cynomolgus (*Macaca fascicularis*). Il est également à noter que les séquences des Rhésus macaques obtenues sont divisées en deux grandes familles qui reflètent les populations de macaques originaires d'Inde et de Chine (*figure 1*) [9, 10]. Les séquences obtenues diffèrent uniquement par 0 à 2 bases de l'haplotype connu. Néanmoins, l'échantillon CHAT type 1 Wy4B possède un rapport 3/2 de l'haplotype *Macaca mulatta* et *Macaca fascicularis*. Cela est dû aux différents surnageants cellulaires mélangés dans les lots vaccinaux préparés. Par ailleurs, la présence de séquences *Homo* a été détectée dans l'échantillon CHAT IFL, provenant du fait que cette cul-

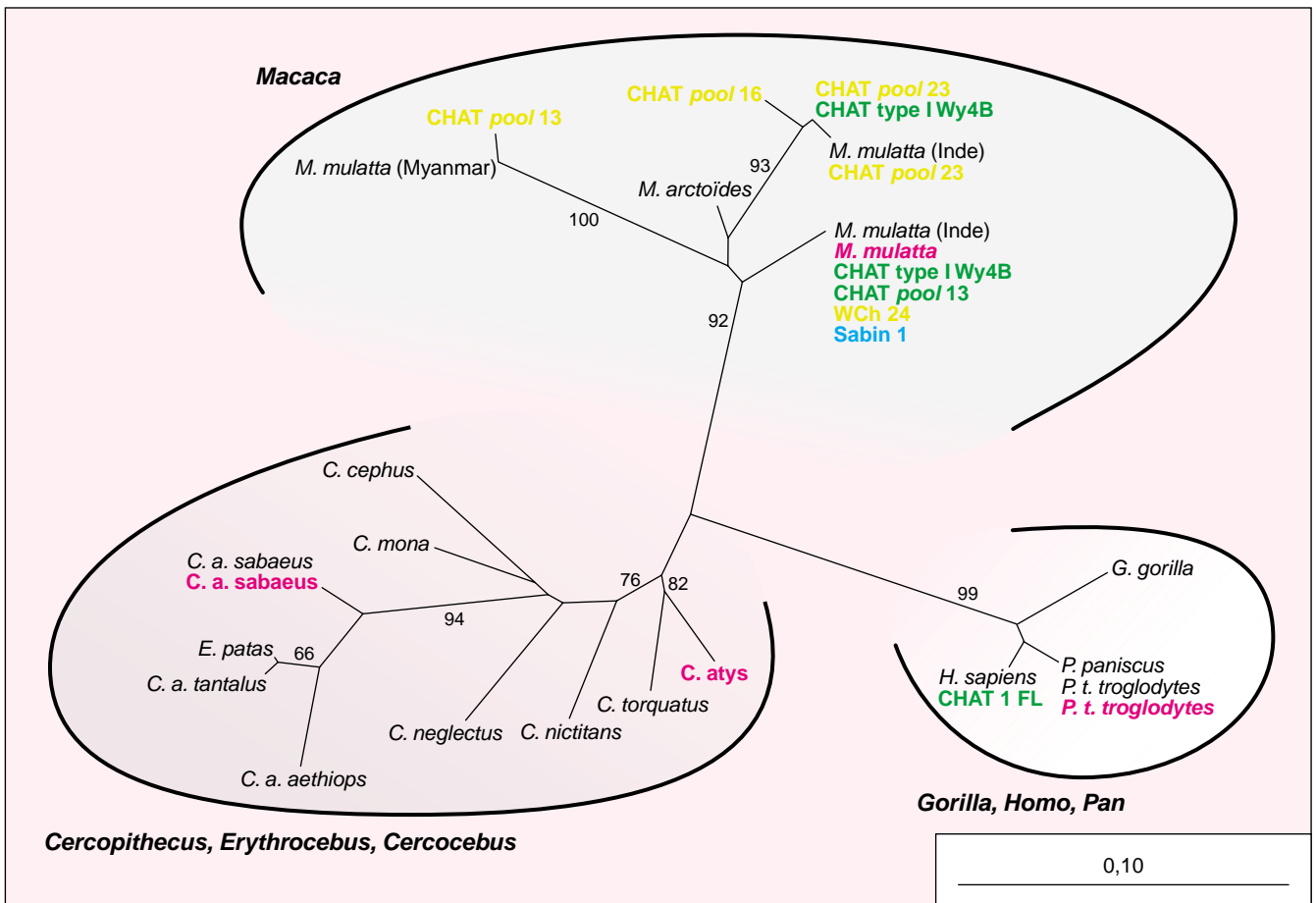


Figure 1. **Arbre phylogénétique de l'ADN mitochondrial 12S.** Les trois groupes principaux correspondant sont: Macaca, Cercopithecus et Gorilla/Homo/Pan. On peut noter que les singes rhésus macaques (*M. mulatta*) sont divisés en deux groupes correspondant aux sous-espèces de macaques de Chine et d'Inde. Tous les échantillons représentés dans les encadrés ont été analysés en aveugle. Les échantillons de l'Institut Wistar et du CDC (Center for Disease Control) sont respectivement représentés en jaune et vert. Les échantillons témoins d'ADN mitochondrial donnés par le CDC sont en rouge. La souche témoin Sabin 1 est représentée en bleu. Toutes les autres séquences de primates non humains proviennent des banques de données. Seules les valeurs indicatrices de fiabilité statistique > 60 sont indiquées sur l'arbre.

Tableau I. Description des échantillons de vaccins poliovirus analysés.

Échantillons Wistar	
CHAT pool 13	75 000 vaccinations à Léopoldville (ancien Congo Belge, maintenant Kinshasa, République Démocratique du Congo) Principalement des enfants
CHAT pool 16 A-5	Le plus proche passage du pool CHAT 13 disponible
CHAT pool 23 7.7. logs	Lots probablement utilisés dans d'autres campagnes vaccinales
W Ch 24 57C-40 137-71	Lots probablement utilisés dans d'autres campagnes vaccinales
W Ch 25	Passages tardifs du virus
Sabin 1	Culture sur des lignées cellulaires de rhésus LLC-MK2
Échantillons CDC	
CHAT pool 13	Passage du CHAT pool 13 sur des reins de singes (29 août 1960)
CHAT Type I Wy4B-5	Obtenu de l'Institut Wistar, réalisé à Wyeth
CHAT 1FL	Passage tardif du CHAT pool 13 sur des lignées cellulaires FL (15 octobre 1979)

ture a été réalisée sur la lignée cellulaire diploïde humaine FL.

Ces résultats ont été confirmés par l'analyse plus poussée de l'échantillon CHAT pool 13 qui fut utilisé en très grande quantité à Léopoldville. Celle-ci portait sur une seconde région de l'ADN mitochondrial 12S de 101 nucléotides, localisée en amont du segment précédent. Cent clones provenant de cet échantillon ont été séquencés, et à cette résolution, aucune cellule de chimpanzés n'a été détectée.

Ces résultats montrent l'utilisation quasi-exclusive de cellules de reins macaque, Rhésus et cynomolgus, dans la préparation des échantillons de vaccins de l'Institut Wistar. Cela semble confirmer les premiers articles décrivant le vaccin anti-poliovirus oral atténué [11-13], et les réponses de SA Plotkin et H. Koprowski qui affirmaient qu'aucune cellule de chimpanzé n'avait été employée pour leur réalisation [14]. En outre, l'espèce macaque, contrairement aux chimpanzés, n'est pas

infectée par le SIV à l'état sauvage et, effectivement, aucun virus SIVcpz ou proche de HIV-1 n'a été détecté dans les échantillons de vaccins.

1. Curtis T. The Origin of AIDS: a startling new theory attempts to answer the question «Was it an act of God or an act of man?» *Rolling Stone* 1992; 54-60.
2. Hooper E. *The River: A journey to the source of HIV and AIDS* (Penguin, London), 1999.
3. Blancou P, Vartanian JP, Christopherson C, et al. Polio vaccine samples not linked to AIDS. *Nature* 2001; 410: 1045-6.
4. Poinar H, Kuch M, Paabo S. Molecular analyses of oral polio vaccine samples. *Science* 2001; 292: 743-4.
5. Berry N, Davis C, Jenkins A, et al. Vaccine safety. Analysis of oral polio vaccine CHAT stocks. *Nature* 2001; 410: 1046-7.
6. Plotkin SA, Lebrun A, Courtois G, Koprowski H. Vaccination with the CHAT strain of type 1 attenuated poliomyelitis virus in Léopoldville, Congo. *Bull World Health Org* 1961; 24: 785-92.
7. Kocher, TD, Thomas WK, Meyer A, et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6196-200.
8. van der Kuyl AC, Kuiken CL, Dekker JT, Goudsmit J. Phylogeny of African monkeys based upon mitochondrial 12S rRNA sequences. *J Mol Evol* 1995; 40: 173-80.

9. Joag, SV, Stephens EB, Adams RJ, Foresman L, Narayan O. Pathogenesis of SIVmac infection in Chinese and Indian rhesus macaques: effects of splenectomy on virus burden. *Virology* 1994; 200: 436-46.

10. Champoux M, Higley JD, Suomi SJ. Behavioral and physiological characteristics of Indian and Chinese-Indian hybrid rhesus macaque infants. *Developmental Psychobiology* 1997; 31: 49-63.

11. Plotkin SA. Factors influencing a successful vaccination with live polio virus. *Proceedings of the sixth international congress of Microbiological Standardisation*. 1961 p. 48-73. Hoffman Verlag.

12. Koprowski H. Live poliomyelitis virus vaccines. *JAMA* 1961; 178: 1151-5.

13. Plotkin SA, Katz M, Brown RE, Pagano JS. Oral poliovirus vaccination in newborn African infants. *Am J Dis Child* 1966; 111: 27-30.

14. Plotkin SA, Koprowski H. Responding to *The River*. *Science* 1999; 286: 2450.

Jean-Pierre Vartanian
Philippe Blancou
Simon Wain-Hobson

Unité de rétrovirologie moléculaire, Institut Pasteur, 28, rue du Dr-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.



CNRSFormation
au service de l'Entreprise