

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 99 (1957)

Heft: 6

Artikel: Recherches sur l'inactivation du virus aphteux et du virus de Newcastle par le bêtapropiolactone (BPL) et le formol

Autor: Ubertini, B. / Nardelli, L. / Santero, G.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-591519>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 05.02.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Tierhk., Sonderteil 1955, S. 13. – Leoff: I. D. Gießen 1952. – Leue G.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1956, S. 55. – Lucas A.: Bull. of Internat. Epizootics 1947, S. 343. – id. und weitere: Recueil de Méd. vét. 1951, S. 222. – Marthaler E.: I. D. Bern 1957. – Merkt: D. t. W. 1951, S. 239. – Messerli W.: Schw. Arch. Thk. 1954, S. 287. – Meyn: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1953, S. 17. – id.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1954, S. 139. – Meyn und Gossger: D. t. W. 1950, S. 75. – Meyn und Schliesser: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1956, S. 157. – Middlebrook and Dubos: zit. nach Schmid H. R. – Mitscherlich: B. u. M. t. W. 1953, S. 105. – Müller und Kollmann: Tierärztl. Umschau 1956, S. 212. – Nassal J.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1956, S. 42. – Nottbohm H. und Funk G.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1956, S. 207. – Pangborn und Birkhang: zit. nach Brill. – Paterson: zit. nach Bederke. – Plum: 13. Internat. tierärztlicher Kongreß 1938, Bd. I. – Probst F.: I. D. Bern 1955. – Rychener U.: I. D. Bern 1953. – Schaaf J.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1955, S. 33. – Schaaf und Beerwerth: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1956, S. 103. – Schaaf, Beerwerth und Grodde: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1956, S. 144. – Schaaf, Groeger und Beerwerth: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1955, S. 86. – Schaetz F.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1956, S. 1. – Schmid H. R.: I. D. Bern 1951. – Schmid G., Schmid H. R. und Birn: Schw. Arch. Thk. 1952, S. 794. – Schmitthenner W.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1955, S. 259. – Schoop G.: Monatsschr. prakt. Tierhk. 1952, S. 189. – Seelemann und Rackow: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1953, S. 37. – id.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1954, S. 149. – id.: Monatsh. Tierhk., Sonderteil 1955, S. 153. – Sjollema: zit. nach Bederke. – Stenius R.: 13. Internat. tierärztl. Kongreß, Bd. I, S. 454. – Stephan: Veterinärmedizinische Nachrichten 1953, S. 188. – Stephan und Gericke: Vet.-med. Nachrichten 1955, S. 201. – Thomann H.: Schw. Arch. Thk. 1949, S. 237. – Tiele W.: B. u. M. t. W. 1955, S. 230. – Van Waveren: zit. nach Bederke. – Weber W.: Schw. Arch. Thk. 1955, S. 222. – Weisstanner M.: I. D. Bern 1937. – Wersching und Heidenreich: zit. nach Leue. – Zeller: zit. nach Stephan.

Zum Schlusse möchte ich allen, die mich in meiner Arbeit unterstützten, herzlich danken: Vor allem Herrn Prof. Dr. Schmid für seine wertvollen Anregungen und für die kostenlose Abgabe der Bakterienextrakte, Herrn Prof. Dr. Hauser für die Durchsicht der Arbeit, Herrn Dr. Neuenschwander, Kantonstierarzt, für seine Angaben betreffend Tuberkulosebekämpfung im Kanton Bern und Herrn Dr. Rutsch, Adjunkt des Kantonstierarztes, für die Zustellung der zahlreichen Sektionsberichte.

Istituto zooprofilattico sperimentale delle Provincie lombarde, Brescia
Directeur: Prof. B. Ubertini

Recherches sur l'inactivation du virus aphteux et du virus de Newcastle par le bêtapropiolactone (BPL) et le formol

Ubertini B., Nardelli L., Santero G., Cessi D.

Introduction

On sait très bien que la méthode la plus répandue d'inactivation du virus aphteux et du virus de Newcastle est représentée par le traitement à l'aide du formol et de la chaleur. Aucune des nombreuses autres méthodes qui ont été étudiées à ce propos, n'a donné jusqu'à présent de résultats tels à faire remplacer cette technique.

D'autres résultats, fort encourageants et de sources diverses, ont été obtenus au cours de ces deux dernières années grâce à l'inactivation de divers virus par le bêta-propiolactone (BPL). C'est pourquoi nous avons envisagé l'opportunité d'entreprendre une série de recherches avec la même substance sur le virus aphteux et sur le virus de Newcastle.

Littérature

Le bêta-propiolactone (BPL) a été découvert par Johansson en 1915. Il a acquis une grande importance au point de vue industriel depuis 1944 grâce à la production du matériel plastique. Il représente en effet la substance base de l'acide acrilique qui sert à la préparation des résines acryliques. Le BPL est un liquide incolore, visqueux, doué de propriétés vésicatoires. Il est stable à condition qu'il soit conservé à l'obscurité et à une température au-dessous de zéro dans des récipients en verre ou en acier inoxydable (Lépine et Atanasiu, 1956).

Son emploi en biologie est très récent et l'étude qui en a été faite intéresse surtout la stérilisation du plasma sanguin de l'homme en particulier à l'égard du virus de l'hépatite infectieuse (Mangum G. H., Kelly A. R., Sanders B. E., Piepes S. L., Wallbank A. M., et Hartman F. W. 1951; Hartman F. W., Piepes S. L., et Wallbank A. M. 1951; Kelly A. R. et Hartman F. W. 1951; Kelly A. R. et Hartman F. W. 1952; Kelly A. R. 1952; Hartman F. W. et Kelly A. R. 1953; Kelly A. R., Rupe C. E., Tazuma J. J. et Hartman F. W. 1954; Smolens J. et Stokes J. 1954; Basinski D. H. et Remp D. G. 1955).

Les recherches publiées par ces auteurs démontrent que sa toxicité résiduelle pour les animaux est basse et qu'il ne provoque que des altérations minima sur la structure des protéines.

Son usage s'est en outre étendu à la stérilisation des tissus artériels pour les greffes (Lo Grippo G. A., Overhulse P. R. et Szilagy D. E. 1954; Trafas P. C., Carlson R. E., Lo Grippo G. A. et Lam C. R. 1954; Szilagy D. E., Overhulse P. R. et Lo Grippo G. A. 1954).

Rappelons enfin qu'on a démontré que le BPL est actif envers les levures, les bactéries et les spores (Bernheim F. et Gale G. R. 1952; Gale G. R. 1953; Curran H. R. et Evans F. R. 1956).

Ces intéressantes propriétés ont porté en 1955 Lo Grippo et Hartman F. W. à étudier l'effet du BPL à l'égard de la conservation du pouvoir antigène de certains virus inactivés. Selon ces auteurs le BPL semble supérieur aux autres agents chimiques employés pour l'inactivation des virus dans la préparation des vaccins parce que :

a) il inactive complètement et d'une façon irréversible le virus en 10-15 minutes à 37° tandis que le formol et l'acide phénique, pour le faire, demandent plusieurs jours à la même température.

b) une concentration en excès, supérieure à la dose minima virulicide ne porte pas à la perte du pouvoir antigène; il existe donc une bien large marge de sûreté entre l'inactivation complète et la perte du pouvoir antigène.

c) le pouvoir antigène du virus inactivé par le BPL est d'une manière significative plus élevé que celui du virus traité par l'acide phénique ou le formol.

Les expériences des auteurs ont été effectuées avec la souche MM de l'encéphalomyélite de la souris et avec les virus de l'encéphalomyélite équine et de la rage.

En 1955 et en 1956 Mack W. N. et Chotisen A. obtiennent chez le poulet de bons résultats avec un vaccin préparé avec du virus de Newcastle inactivé avec 0,025% de BPL pendant deux heures à 37°.

En 1956 Lépine et Atanasiu observent que le virus de Newcastle est inactivé d'une façon complète s'il est traité par 0,01% de BPL pendant une heure à 37°. Le pouvoir hém-agglutinant et le pouvoir antigène vaccinal demeurent intacts.

D'Alessandro, Oddo et Inserillo communiquent en 1956 dans deux ouvrages les résultats de leurs recherches sur le virus poliomyélitique. La concentration minima de BPL suffisante pour détruire le pouvoir infectant du virus du type I se trouve entre 0,05% et 0,075%.

Le virus traité par une concentration de BPL allant jusqu'au 1% conserve encore un pouvoir antigène très élevé mais qui se détruit si la concentration rejoint les 2%.

Dans une très récente communication (1956) Hartman, Lo Grippo et Kelly font relever que les concentrations de BPL de 1000-3000 mg par litre de plasma peuvent réduire le titre des divers virus à tel point que les subcultures *in vitro* deviennent négatives. En injectant cependant à des animaux le plasma ainsi traité on note qu'un petit pourcentage de ceux-ci s'infecte. Ce pouvoir d'infection résiduel peut être complètement éliminé en portant la concentration de BPL à 4000-6000 mg par litre de plasma. Mais cette concentration altère les protéines plasmatiques.

C'est pourquoi les auteurs emploient les concentrations usuelles de BPL en combinaison avec les rayons ultraviolets.

A. Recherches avec le virus aphteux

Matériaux et méthodes

Virus: C'est le virus de type C et de type O cultivé *in vitro* selon la méthode de Frenkel sur épithélium lingual de bovin en survie. L'un et l'autre ont subi 8 passages *in vitro*. L'épithélium était extrait, comme il sera dit chaque fois, dans une solution tampon phosphatique M/180 pH 7,8 ou bien dans le liquide cultural propre, centrifugé, filtré sur Seitz EK, additionné ou non de lait écrémé.

Agents inactivants: Le BPL a été acheté à la Light et conservé en fioles à -25° . Il était dissous à 1:10 dans l'eau distillée au moment de l'emploi et conservé dans l'eau et glace jusqu'à ce que l'on ajoutait le virus.

Le formol est une solution d'aldéhyde formique de la C. Erba au 39%.

Contrôle de l'inactivation: Ce contrôle est obtenu en injectant dans le péritoine des souris de lait de 4 à 6 jours 0,1 cm³ de virus traité. Les animaux restent en observation pendant 8 jours. Ceux qui succombent sont contrôlés par la déviation du complément ou bien par l'inoculation intra-plantaire aux cobayes.

Préparation des vaccins: Avec le virus inactivé on prépare des vaccins selon la formule suivante:

Hydroxyde d'aluminium	cm ³ 60
Tampon glycolle	cm ³ 4
Virus inactivé	cm ³ 36

Le vaccin de contrôle est préparé selon la technique de Waldmann (1941) c'est-à-dire en inactivant le virus par le formol à 0,05% pendant 48 heures à 25° et adsorbé auparavant. Le pH des vaccins ainsi obtenus est de 8 à 8,2.

Contrôle de la stérilité et de l'innocuité des vaccins: Après agitation on prélève de chaque flacon contenant le vaccin les quantités suivantes pour ensemercer: les terrains injectés

1. 0,25 cm³ dans deux éprouvettes de bouillon glucosé.
2. 0,25 cm³ dans deux éprouvettes contenant chacune 15 cm³ de gélose nutritive glucosée dissoute et refroidie à $50-52^{\circ}$. On agite et on verse sur des plaques de Petri.
3. 0,25 cm³ dans deux éprouvettes de terrain de Gassner dissous et refroidi à $50-52^{\circ}$. On agite et on verse sur des plaques de Petri.
4. 0,25 cm³ dans deux éprouvettes de bouillon Tarozzi pour les anaérobies.

Les terrains ainsi inoculés sont incubés à 37° pendant 7 jours; après quoi on effectue la lecture des résultats selon la technique bactériologique.

Le contrôle de l'innocuité des vaccins est fait avec la même technique du contrôle de l'inactivation du virus.

Contrôle de la conservation du pouvoir antigène: Il est fait en dosant les anticorps neutralisants produits par les divers vaccins injectés aux cobayes.

a) Préparation des sérums neutralisants : Avec chaque vaccin on injecte des cobayes de 500–600 g de poids, provenant d'un élevage de notre Institut. Chaque cobaye reçoit par la voie sous-cutanée 2 cm³ de vaccin non dilué (en deux points divers).

Un mois après la vaccination on saigne complètement les cobayes après un jour de jeun.

De chaque cobaye de chaque groupe on prélève une quantité égale de sérum. On en fait un mélange de groupe qu'on filtre sur Seitz EK et qu'on inactive à 56° pendant 30 minutes.

b) Neutralisation : On use la technique de la recherche de la dilution neutralisante 50 de sérum à l'égard d'une quantité fixe de virus. On prépare les dilutions de sérum suivantes :

1:5; 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160; 1:320; 1:640.

A 1 cm³ de chaque dilution de sérum on ajoute 1 cm³ d'une suspension fixe de virus en solution tampon M/180 pH 7,8 et filtré sur Seitz EK.

Le mélange sérum-virus est tenu pendant une heure à température ambiante (25° C) en agitant de temps en temps et conservé ensuite au frigorifique jusqu'au moment de l'injection que l'on fait dans l'espace d'une heure. Celle-ci, à la dose de 0,1 cm³ est pratiquée par la voie intra-péritonéale aux souriceaux de lait de 4 à 6 jours.

La détermination de la dose infectante 50, de la dose neutralisante 50, de l'erreur standard, de l'erreur quadratique moyenne se font selon Reed et Muench (1938) et Pizzi (1950). On considère significative la différence qui est supérieure au double de l'erreur quadratique moyenne.

1. Détermination du pouvoir virulicide du BPL à l'égard du virus aphteux.

Le virus employé dans cette expérience est le virus C 328. La suspension virale est obtenue par extraction de l'épithélium-virus en solution tampon phosphatique M/180 pH 7,8, suivie par la centrifugation et la filtration sur Seitz EK.

Aux dilutions échelonnées de virus à base 10 (de 10⁻¹ à 10⁻⁶) en solution tampon phosphatique pH 7,8, on ajoute des quantités diverses de BPL pour obtenir les concentrations finales suivantes: 0,3%; 0,2%; 0,15%; 0,1%; 0,05%; 0,025%.

Les divers mélanges virus-BPL ainsi obtenus sont réchauffés au bain-marie à 37° pendant deux heures et aussitôt après refroidis dans l'eau et glace, et injectés dans un bref délai aux souriceaux de lait.

Chaque dilution de virus traité par les différentes quantités de BPL est injectée par la voie intra-péritonéale à 6 souriceaux de lait.

On a observé que tous les souriceaux inoculés avec les diverses dilutions de virus traitées par le BPL aux pourcentages 0,3 – 0,2 – 0,15 – 0,1 – 0,05 sont restés en vie. Seul le virus traité par 0,025% de BPL a présenté un résidu de virulence, qui s'est révélée par l'infection aphteuse mortelle de 4 souriceaux sur 6 inoculés avec la dilution 10⁻¹, tandis que ceux qui l'ont été avec les autres dilutions n'ont accusé aucun trouble.

Le virus qui nous a servi dans ces expériences a un titre souris de 10^{-5,86}. L'erreur standard de ce titrage est de ± 0,37.

Cette expérience démontre donc que le BPL a un très bon pouvoir virulicide.

2. Détermination du pouvoir virulicide du BPL envers le virus aphteux en suspension dans divers excipients et étude sur la conservation du pouvoir immunisant du virus traité par des quantités diverses de BPL.

a) Détermination du pouvoir virulicide. Les recherches précédentes ont été effectuées avec du virus en suspension dans la solution tampon phosphatique M/180. Dans ce deuxième groupe de recherches nous nous sommes proposé ce qui suit :

b) Etude du pouvoir virulicide du BPL à l'égard du virus aphteux constitué par de l'épithélium extrait dans le liquide cultural même, centrifugé et filtré, et à l'égard du même virus additionné du 20% de lait écrémé. Le liquide cultural contient fondamentalement du 3% de caséine hydrolysée, une quantité égale de peptones et en outre divers acides aminés et des sels.

c) Conservation du pouvoir antigène immunisant des virus nommés au paragraphe b). Au virus C 330 (épithélium I, liquide cultural 10) centrifugé et filtré sur Seitz EK on ajoute du BPL de façon qu'on puisse avoir les concentrations finales suivantes : 0,4%; 0,3%; 0,2%; 0,15%; 0,1%; 0,05%; 0,025%.

Le titre du virus avant l'inactivation est de $10^{-5,64}$. L'erreur standard est de 0,28.

Les mélanges virus-BPL sont tenus à 37° pendant deux heures puis dans l'eau et glaces jusqu'au moment de l'injection qui doit être faite dans le délai d'une heure.

Avec le virus non dilué (épithélium I + liquide cultural 10) traité par des diverses quantités de BPL on inocule 18 souriceaux. A 6 autres souriceaux on injecte le même virus dilué à 1:10 en solution tampon phosphatique.

On suit le même procédé avec le virus additionné au 20% de lait.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Concentration BPL	Epithélium extrait dans le liquide cultural				Epithélium + liquide cultural + 20% de lait			
	Virus non dilué		Virus dilué à 1:10		Virus non dilué		Virus dilué à 1:10	
	Souriceaux inocul.	infectés	Souriceaux inocul.	infectés	Souriceaux inocul.	infectés	Souriceaux inocul.	infectés
0,4%	18	0	6	0	—	—	—	—
0,3%	18	0	6	0	18	0	6	0
0,2%	18	0	6	0	18	0	6	0
0,15%	18	0	6	0	—	—	—	—
0,1%	18	0	6	0	18	1	6	0
0,05%	18	0	6	0	18	2	6	1
0,025%	18	18	6	0	—	—	—	—

Ce groupe de contrôle du pouvoir virulicide du BPL confirme en ligne générale le précédent. En comparant les divers résultats on peut se rendre compte de l'importance de la nature de l'excipient dans lequel le virus est en suspension pendant l'inactivation. Le pourcentage de BPL nécessaire à l'inactivation du virus est d'autant plus élevé que le contenu protéique de l'excipient est plus haut. Ce phénomène est semblable à celui qui a été observé dans l'inactivation par le formol (Ramon, 1955).

Avec les virus inactivés comme ci-dessus on prépare les vaccins respectifs qu'on injecte à des groupes de 15 cobayes chacun non sans les avoir soumis au contrôle bactériologique quant à leur stérilité.

Avec les sérums des cobayes vaccinés on effectue les épreuves de neutralisation avec la technique déjà exposée.

On détermine contemporanément la dose neutralisante 50 du sérum des 15 cobayes inoculés avec du vaccin préparé selon la technique de Waldmann à partir du même virus C.

Le virus qui sert à ces épreuves de neutralisation est le virus C 327 qui a un titre souris de $10^{-6,44}$ et que nous employons à la dilution de 1:2500.

Les dilutions neutralisantes 50 des mélanges des sérums qui correspondent à chacun des vaccins sont reportées dans le tableau suivant :

a) Sérums de cobayes inoculés avec du vaccin préparé avec du virus épithélium + liquide cultural :

% de BPL ajouté au virus	Dilution neutralisante 50 du sérum	Log. dilution neutralisante	Erreur standard
0,4	inférieure à 1:5	—	—
0,3	inférieure à 1:5	—	—
0,2	inférieure à 1:5	—	—
0,15	inférieure à 1:5	—	—
0,1	1:32	1,50869	0,1414
0,05	1:382	2,581	0,144
0,025	1:320	2,50515	0,1244
Vaccin contrôle selon Waldmann	1:498	2,697	0,10

b) Sérums de cobayes inoculés avec des vaccins préparés avec du virus d'épithélium + liquide cultural + 20% de lait écrémé :

% BPL ajouté au virus	Dilution neutralisante 50	Log. Dilution neutralisante 50	Erreur standard
0,3	inférieure 1:5	—	—
0,2	1:109	2,038	0,1549
0,1	1:413	2,616	0,083
0,05	1:383	2,565	0,1341
Vaccin contrôle selon Waldmann	1:422	2,625	0,083

Ces données interprétées selon Pizzi démontrent que les différences entre la dilution neutralisante 50 des sérums donnés par le vaccin (épithélium + liquide cultural) préparé avec 0,1% de BPL (et d'avantage avec 0,15%; 0,2%; 0,3%; 0,4%) d'une part et les dilutions neutralisantes des sérums des vaccins préparés avec 0,05% et 0,025% sont significatives, tandis que ne le sont pas celles des sérums donnés par le vaccin préparé avec le BPL au 0,05% et au 0,025% d'une part et celles du sérum du vaccin Waldmann.

L'élaboration des données des vaccins préparés à partir du virus avec le 20% de lait a donné les résultats suivants :

Les différences entre les dilutions des sérums du vaccin BPL au 0,1% et 0,05% et celle du sérum vaccin Waldmann ne sont pas significatives, tandis qu'elles le sont à l'égard des sérums BPL au 0,3% et 0,2%.

Pour évaluer convenablement ces résultats il faut se rappeler que le vaccin BPL au

0,025% préparé avec le virus épithélium extrait dans le liquide cultural et que les vaccins BPL au 0,05% et 0,1% préparés avec le virus-épithélium extrait dans le liquide cultural additionné à 20% de lait, se sont démontrés infectants pour le souriceau. Injectés aux cobayes par la voie sous-cutanée ils n'ont provoqué aucun signe d'infection, mais malgré tout on ne peut les considérer comme inoffensifs.

Commentaire

Les résultats exposés ci-dessus permettent de relever ce qui suit :

1. Le BPL est doué d'un très bon pouvoir virulicide à l'égard du virus aphteux.
2. La marge de sûreté entre l'inactivation complète (perte du pouvoir infectant) par le BPL et la perte complète du pouvoir antigène n'est pas très large.
3. La concentration de BPL nécessaire à l'inactivation complète du virus est en rapport avec la nature du milieu de suspension du virus. Il faut en effet une concentration majeure de BPL en présence de lait. On a donc avec le BPL le même phénomène observé avec le formol.
4. La conservation du pouvoir antigène du virus inactivé par le BPL n'est point supérieure à celle du virus traité par le formol.

3. Recherches sur la durée de l'inactivation à diverses températures par le BPL et le formol

Les recherches du 1^{er} groupe exposées précédemment ont mis en relief l'infériorité, sous divers aspects, du BPL par rapport au formol.

Parmi les diverses causes nous avons pris en considération la température d'inactivation qui pour le virus traité par le BPL est de 37° tandis qu'elle est de 25° pour le virus traité au formol.

Nous avons donc étudié opportunément l'influence de la température sur l'inactivation soit par le BPL soit par le formol, prenant en considération les températures de 37°, 30° et 25°.

Dans cette expérience nous avons employé le virus C 334 (épithélium + liquide cultural). Le titre souris du virus avant l'inactivation est de 10^{-6,74}.

On prend 300 cm³ de virus filtré qu'on distribue et qu'on traite de la façon suivante :

Quantité de virus	Agents inactivants	Concentration	Température d'inactiv.	Durée de l'inactivation
50 cm ³	BPL	0,05%	37°	2 heures
50 cm ³	BPL	0,05%	30°	2 heures
50 cm ³	BPL	0,05%	25°	2 heures
50 cm ³	Formol	0,05%	37°	2 heures
50 cm ³	Formol	0,05%	30°	2 heures
50 cm ³	Formol	0,05%	25°	2 heures

Le contrôle de l'innocuité a donné les résultats suivants :

Substances inactivantes	Température d'inactivation	Rapport entre le nombre des souris infectées et inoculées avec les dilutions suivantes de virus inactivé					
		non dilué	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
BPL 0,05%	37°	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	30°	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	25°	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Formol 0,05%	37°	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	1/6
	30°	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	1/6
	25°	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	4/6

Ces résultats démontrent qu'il existe une différence considérable entre la vitesse d'inactivation par le BPL et celle du formol. En effet tandis qu'avec le BPL, aux trois températures, on arrive à inactiver complètement le virus en deux heures, avec le formol on obtient seulement une baisse modeste du titre infectant.

Le même virus transformé en vaccin selon la technique de Waldmann, c'est-à-dire inactivé après adsorption et réchauffement à 25° pendant 48 heures et conservation pendant deux semaines en frigorifique, s'est démontré inoffensif.

Ayant observé dans la pratique courante de la préparation du vaccin anti-aphteux que des résidus éventuels de virulence, après les 48 heures à 25°, disparaissent après quelques jours de séjour au frigorifique, nous avons à nouveau contrôlé la virulence des vaccins préparés avec le virus en objet.

Le contrôle a été fait contemporanément à celui du vaccin préparé selon Waldmann, c'est-à-dire deux semaines après sa préparation en l'étendant également aux vaccins préparés avec du virus inactivé par le BPL de façon à rendre plus significatif le résultat de l'innocuité obtenu précédemment avec le virus seul. Le contrôle de l'innocuité a été fait en cette occasion non seulement sur le souriceau mais aussi sur le cobaye par la voie intra-plantaire.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Vaccin inactivé par :	Température d'inactivation	Rapport souris infectées et inoculées par du vaccin non dilué	Rapport cobayes infectés et inoculés
BPL 0,05% pendant 2 heures avant l'absorption	37°	0/24	0/3
	30°	0/24	0/3
	25°	0/24	0/3
Formol 0,05% pendant 2 heures avant l'absorption	37°	24/24	1/3
	30°	24/24	3/3
	25°	24/24	2/3
Formol 48 heures après l'absorption	25°	0/18	0/3

Ce tableau confirme clairement l'innocuité des vaccins préparés avec du virus inactivé par 0,05 % de BPL pendant deux heures à 25°-30° et 37°. Le pouvoir infectant des vaccins préparés avec du virus inactivé par le formol au 0,05 % pendant deux heures à 37°, 30° et 25° existe encore après deux semaines de frigorifique à + 5°, tandis que le vaccin préparé avec le même virus selon la technique de Waldmann se démontre inoffensif.

4. Etude de la durée de l'inactivation du virus par le formol 0,1 % et réchauffement à 25°

Il ressort des expériences précédentes que le processus d'inactivation par le formol est très lent. Nous avons voulu contrôler l'évolution du processus en soumettant à l'épreuve le pouvoir infectant du virus formolé après 12, 24, 36 et 48 heures à 25°.

Nous avons fixé la concentration du formol au 0,1 % car dans des recherches que nous n'avons pas publiées, nous avons constaté fréquemment qu'en présence du virus en suspension dans notre milieu cultural, le formol au 0,05 % est souvent incapable d'inactiver le virus dans un délai de 48 heures.

Le virus employé dans cette expérience est le virus C 349, qui possède un titre de $10^{-5,71}$ avant l'inactivation.

Les résultats peuvent être ainsi résumés :

après 12 heures d'inactivation le titre tombe à $10^{-1,60}$;

après 24 heures d'inactivation on note seulement un pouvoir infectant résiduel décelé par l'infection de 3 souriceaux sur 8 inoculés avec du virus non dilué, tandis qu'aucun souriceau inoculé par les dilutions 10^{-1} (12 souriceaux), 10^{-2} (6 souriceaux), 10^{-3} (6 souriceaux), 10^{-4} (6 souriceaux) n'a été infecté;

après 36 heures un seul souriceau sur 12 injectés par du virus non dilué s'est infecté et aucun par des dilutions supérieures (12 souriceaux avec 10^{-1} , 12 encore avec 10^{-2}). Après 48 heures aucun souriceau n'a été infecté ni par le virus non dilué ni par celui dilué à 10^{-1} et 10^{-2} (12 souriceaux pour chaque dilution).

Cette expérience démontre qu'avec le formol au 0,1 % le temps d'inactivation doit être de 48 heures à 25°.

5. Etude comparative de l'inactivation et de la conservation du pouvoir antigène du virus aphteux traité par diverses quantités de BPL et de formol

Les résultats du premier groupe des expériences exposées dans cet ouvrage indiquent que la marge de sûreté entre l'inactivation complète par le BPL et la perte complète du pouvoir antigène n'est pas bien large. Nous avons voulu opportunément nous rendre compte si cette marge étroite de sûreté était, dans le cas du BPL, semblable à celle du formol.

Dans cette expérience le temps d'inactivation par le BPL est fixé à deux heures, tandis que pour le formol à 48 heures. La température d'inactivation a été dans les deux cas de 25°. Ceci selon les résultats des expériences du groupe 3 et 4.

Les concentrations finales des agents inactivants sont 0,2%; 0,15%; 0,1%; 0,05%; 0,025%.

Le virus employé dans cette épreuve est le virus C 346, constitué par de l'épithélium extrait dans le propre liquide cultural dans un rapport de 1 à 10.

Le virus ainsi extrait a été ensuite centrifugé et filtré sur Seitz EK.

600 cm³ de virus ainsi obtenus sont subdivisés et versés dans 12 flacons de 50 cm³ chacun. On prélève de chacun d'eux 2 cm³ que l'on remplace par une dilution de BPL ou de formol pour obtenir la concentration finale désirée. Dans les deux flacons de contrôle qui servent à l'étude de l'influence de la température sans agent inactivant, les 2 cm³ de virus sont remplacés par de l'eau distillée.

Le titre souris du virus employé dans cette expérience est de 10^{-6,13} (l'erreur standard est de 0,36).

Nous reproduisons sur le tableau suivant les résultats du contrôle du pouvoir infectant résiduel du virus ainsi traité effectué aussitôt terminée son inactivation à 25° :

Agent inacti- vant	Concen- tration de l'agent	Durée de l'inacti- vation	Rapport nombre souriceaux infectés-souriceaux inoculés avec les dilutions suivantes de virus				Titre infectant résiduel	pH après inacti- vation
			10 ⁻⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		
BPL	0,2%	2 heures	0/24	—	—	—	absent	5
	0,15%		0/24	—	—	—	absent	5,5
	0,1%		0/24	—	—	—	absent	6,35
	0,05%		24/24	24/24	—	—	plus de 10 ^{-1,5}	7,35
	0,025%		24/24	24/24	22/24	—	plus de 10 ^{-2,5}	7,65
Virus contrôle	—	2 heures	—	—	—	10 ^{-6,29} erreur standard 0,24	7,7	
Formol	0,2%	48 heures	0/24	—	—	—	absent	7,25
	0,15%		0/24	—	—	—	absent	7,35
	0,1%		0/24	0/24	—	—	absent	7,4
	0,05%		23/24	19/24	13/15	—	plus de 10 ^{-2,5}	7,7
	0,025%		24/24	24/24	24/24	16/18	plus de 10 ⁻³	7,7
Virus contrôle	—	48 heures	—	—	—	10 ^{-4,84} erreur standard 0,173	7,7	

A partir de tous les virus additionnés de formol et de BPL, inactivés ou non, on prépare les vaccins respectifs, que l'on contrôle à nouveau à l'égard de leur innocuité, après 12 jours de séjour au frigorifique.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant. Le vaccin est injecté sans être dilué.

Agent inactivant	Concentration %	Rapport souriceaux infectés-souriceaux inoculés
BPL	0,2	0/30
	0,15	0/30
	0,10	0/30
	0,05	27/30
	0,025	30/30
Formol	0,2	0/30
	0,15	0/30
	0,10	0/30
	0,05	30/30
	0,025	30/30

Ces épreuves démontrent que les concentrations au 0,2 – 0,15 – 0,1 pour-cent de BPL après deux heures de réchauffement à 25° sont suffisantes pour inactiver le virus, tandis que ne le sont pas les concentrations inférieures de 0,05 et 0,025 pour-cent. Des concentrations parallèles de formol soumises cependant à un réchauffement de 48 heures à 25° au lieu de deux heures, donnent les mêmes résultats.

Un séjour successif au frigorifique à + 5° pendant 12 jours des vaccins préparés avec ces virus confirme l'innocuité des vaccins préparés avec les virus traités par 0,2 – 0,15 – 0,1 pour-cent de BPL et de formol et la persistance du pouvoir infectant des vaccins préparés avec des quantités inférieures de BPL et de formol.

Le titrage du virus après deux heures de réchauffement à 25° ne montre aucun abaissement du titre et celui après 48 heures décèle la perte d'une puissance. L'élaboration statistique selon Pizzi montre que la différence entre les deux titres est significative.

Cela indique qu'il s'agit probablement de deux mécanismes différents d'inactivation.

En effet l'absence de diminution du titre infectant après deux heures à 25° témoigne que l'inactivation par le BPL est de nature presque exclusivement chimique, tandis que l'abaissement du titre après 48 heures à 25° prouve que l'inactivation par le formol est la résultante de deux processus simultanés et pour être plus précis l'un de nature thermique et l'autre de nature chimique.

Contrôle de la conservation du pouvoir antigène. Avec chacun des vaccins qui se sont montrés dépourvus de virulence dans l'épreuve précédente et qui ont prouvé leur stérilité au contrôle bactériologique, on vaccine 20 cobayes que l'on saigne complètement un mois après l'injection.

Le virus employé pour les épreuves de neutralisation est le virus C 345 qui a un titre souris de 10^{-7} et a été usé à la dilution de 1:10 000.

Les doses neutralisantes 50 des divers sérums sont reportées dans le tableau suivant :

Substances inacti- vantes à diverses concentrations	Dilution neutralisante du sérum	Log. dilution neutralisante du sérum	Erreur standard
BPL			
0,2%	inférieure 1:2	—	—
0,15%	inférieure 1:2	—	—
0,1%	1:64	1,8061	0,108
Formol			
0,2%	plus de 1:128	—	—
0,15%	1:147	2,167	0,118
0,1%	1:140	2,146	0,114

L'élaboration des données selon Pizzi montre que les différences entre les dilutions neutralisantes 50 des vaccins BPL au 0,1% et celles des vaccins formolés sont au point de vue statistique significatives, tandis que ne le sont pas entre elles les différences des dilutions neutralisantes des 3 vaccins formolés.

Commentaire. Ces expériences confirment la marge étroite de sûreté pour le BPL entre l'inactivation complète du virus et la perte du pouvoir antigène et montrent que pour le formol cette marge est plus large et que la conservation du pouvoir antigène du virus formolé est meilleure.

6. Recherches sur l'inactivation et la conservation du pouvoir antigène du virus aphteux avec diverses quantités de BPL et de formol en milieu constamment alcalin

Les recherches reportées dans le groupe 5° ont prouvé que le virus traité par le BPL dénote après deux heures à 25° un pH d'autant plus acide que la concentration du BPL est plus élevée.

En d'autres termes on peut relever un certain parallélisme entre la concentration du BPL, la diminution du pH et la diminution du pouvoir antigène du virus inactivé.

Cette remarque laisse penser que la diminution du pH soit la cause des inconvénients observés par le BPL d'autant plus que le virus formolé reste toujours alcalin. En outre on relève des expériences de Fogedby et de Randrup (1954) que les vaccins préparés à un pH de 6,2–6,5 sont dépourvus de pouvoir immunisant, tandis qu'il est possible de préparer de bons vaccins à un pH allant de 7,0 à 9,0.

Nous avons donc pensé d'effectuer le groupe suivant d'expériences sur l'inactivation du virus aphteux avec diverses quantités de BPL et de formol en milieu constamment alcalin.

Le virus employé dans ces recherches est le virus O₂ 353 culture (épithélium 1 + liquide cultural 10) centrifugé et filtré. On le subdivise en 10 parties de 50 cm³ chacune que l'on distribue dans de petits flacons.

Le traitement par le BPL est fait à 25° pendant deux heures, et celui par le formol à 25° pendant 48 heures. On ajoute au virus, dans la proportion de 1%, une solution indicatrice au rouge phénol pour pouvoir suivre les divers changements du pH et pour en permettre la correction à l'aide du bicarbonate de soude en poudre. Au terme de l'inactivation le pH est contrôlé par un pH mètre. SIS.

Le pH à la fin de l'inactivation à 25°, les concentrations des agents inactivants et la durée du réchauffement à 25° sont reportés dans le tableau suivant :

Substances inactivantes	Concentration finale	Durée de l'inactivation	pH à la fin de l'inactivation
BPL	0,2%	2 heures	7,5
	0,15%		7,4
	0,10%		7,5
	0,05%		7,6
	0,025%		7,8
Formol	0,2%	48 heures	8,2
	0,15%		8,1
	0,1%		8,1
	0,05%		8,2
	0,025%		8,1
Virus contrôle	-	2 heures	7,8
Virus contrôle	-	48 heures	8,1

Le contrôle de l'innocuité des virus ainsi traités sur les souriceaux a donné les résultats suivants :

Agent inactivant	Concentration	Rapport entre le n° des souris infectées et inoculées avec les dilutions de virus suivantes		
		non dilué	10 ⁻¹	10 ⁻²
BPL	0,2%	0/24	-	-
	0,15%	0/22	-	-
	0,1%	0/24	-	-
	0,05%	22/24	23/24	-
	0,025%	24/24	24/24	23/24
Formol	0,2%	0/24	-	-
	0,15%	0/24	-	-
	0,1%	0/24	-	-
	0,05%	24/24	22/24	-
	0,025%	24/24	24/24	24/24

Le virus titré avant l'inactivation a un titre souris de 10^{-6,63}. Après deux heures à 25° le titre est de 10^{-7,2}. Après 48 heures à 25° le titre est de 10^{-5,2}.

L'élaboration statistique selon Pizzi démontre que les différences entre les titres $10^{-6,63}$ et $10^{-7,2}$ ne sont pas significatives, tandis que le sont les différences comprises entre ces deux titres et le titre de $10^{-5,2}$.

Selon la technique habituelle on prépare les vaccins en partant des virus additionnés par 0,2 – 0,15 – 0,1% de formol et de BPL qui se sont révélés non infectants.

Les vaccins ainsi préparés sont contrôlés sur les souriceaux quant à l'absence de pouvoir infectant dans le but de rendre plus significatifs les résultats du contrôle de l'inactivité du virus effectué auparavant.

Les résultats du contrôle de l'absence de pouvoir infectant sont résumés dans le tableau suivant :

On injecte à chaque souriceau 0,1 cm³ de vaccin non dilué.

Vaccin	Rapport souris infectées souris inoculées
BPL 0,2%	0/30
BPL 0,15%	0/30
BPL 0,1%	0/30
Formol 0,2%	0/30
Formol 0,15%	0/30
Formol 0,1%	0/30

Les contrôles de stérilité ont exclus la présence de germes figurés.

Contrôle de la conservation du pouvoir antigène. Avec chacun des 6 vaccins décrits ci-dessus on inocule 15 cobayes que l'on traite selon la technique déjà exposée. On détermine ensuite la dilution neutralisante 50 des sérums relatifs.

Le titre du virus O₂ 353 dont nous nous sommes servis dans les épreuves de neutralisation est de $10^{-7,5}$ et son emploi a été fait à la dilution de 1 : 250 000.

Les dilutions neutralisantes 50 des sérums des divers groupes de cobayes sont reportées dans le tableau suivant :

Agent inactivant du vaccin	Concentration	Dilution neutralisante 50	Log. dilution neutralisante	Erreur standard
BPL	0,2%	inférieure 1 : 5	—	—
BPL	0,15%	inférieure 1 : 5	—	—
BPL	0,1%	1 : 28	1,4449	0,111
Formol	0,2%	1 : 256	2,4082	0,108
Formol	0,15%	supérieure à 1 : 256	—	—
Formol	0,1%	supérieure à 1 : 256	—	—

Les résultats exposés ci-dessus confirment plus nettement des précédents la supériorité de l'inactivation par le formol comparée à celle qui a été obtenue par le BPL.

B. Recherches avec le virus de Newcastle

Outre les recherches faites avec le virus aphteux et exposées précédemment, nous avons effectué un groupe de recherches avec le virus de Newcastle que nous reportons opportunément. Elles ont le but suivant :

a) de contrôler dans notre laboratoire ce qui a été fait par d'autres auteurs et qui a été recueilli dans la partie bibliographique de cet ouvrage.

b) de comparer le pouvoir antigène du virus traité par du BPL et par le formol, chose qui n'a été faite avant nous par aucun auteur.

Ce deuxième contrôle nous semble particulièrement important car jusqu'à présent on n'emploie habituellement que le vaccin formolé dans la pratique courante.

Matériaux et méthodes

Virus employé dans la préparation des vaccins. Il est constitué par les embryons et les liquides d'œufs infectés au 11^e jour par une souche pathogène de virus de Newcastle. Les embryons ont succombé dans l'espace de 24 à 36 heures après l'infection. Le mélange embryons-liquide est obtenu à l'aide de l'homogénéisation mécanique au Turmix.

Préparation des vaccins. A 160 cm³ de virus (liquide + embryons) on ajoute 240 cm³ de sérum physiologique. On obtient ainsi une suspension de virus au 40% (en volume).

On homogénéise encore une fois au Turmix pendant 10 minutes et on centrifuge également pendant 10 minutes à 3000 tours. On prélève 300 cm³ de matériel surnageant pour la préparation des vaccins et 10 cm³ pour les titrages de la virulence et du pouvoir hém-agglutinant.

Les 300 cm³ de virus sont divisés en trois parties de 100 cm³ chacune que l'on transforme ainsi en vaccin :

1. 100 cm³ de suspension de virus (au 40%) sont additionnés de formol au 10% (contenant le 38-40% d'aldéhyde formique) pour obtenir une dilution finale de 0,5%.

2. 100 cm³ de suspension de virus (au 40%) sont additionnés de BPL en solution au 10% dans l'eau distillée pour obtenir une dilution finale de 0,025%.

On maintient les deux suspensions pendant 2 heures à 37° en agitant de temps en temps. On en prélève 5 cm³ pour le contrôle de l'innocuité sur l'embryon de poule et pour le contrôle de la stérilité.

On ajoute un égal volume d'hydroxyde d'aluminium et précisément 100 cm³. On agite le tout pendant 30 minutes à température ambiante. On conserve au frigorifique.

3. Comme pour le vaccin 2 mais sans hydroxyde.

Titration de la virulence. On l'effectue sur des œufs embryonnés au 11^e jour d'incubation. La quantité inoculée à chaque œuf est de 0,1 cm³. Les dilutions sont préparées avec du sérum physiologique. Avec chaque dilution (au nombre de 10) on inocule 8 œufs. On contrôle si l'infection de chaque embryon inoculé est survenue non seulement par la constatation de la mort et des lésions, mais aussi à l'aide de l'hém-agglutination.

La dose infectante 50 a été calculée par la méthode de Reed et Muench (1938).

Titration du pouvoir hém-agglutinant. On l'effectue avec la technique habituelle en employant des globules rouges de dindon.

Contrôle de l'inactivation du virus après traitement par le formol et BPL pendant deux heures à 37°. On inocule 8 œufs embryonnés au 11^e jour d'incubation par 0,1 cm³ des dilutions suivantes : non dilué; 10⁻¹; 10⁻²; 10⁻³; 10⁻⁴; 10⁻⁵ (par voie amnio-allantoïdienne).

L'observation se poursuit jusqu'à la 84^e heure après l'inoculation.

On contrôle les embryons inoculés par la même technique suivie pour les titrages de virulence.

Dosage des anticorps inhibant l'hémo-agglutination. On l'effectue avec la technique habituelle en usant 3 unités hémo-agglutinantes de virus.

Vaccination des poulets. A des poulets de 110 jours on injecte par la voie sous-cutanée 2 cm³ de vaccin.

On vaccine 8 poulets avec le vaccin formolé additionné d'hydroxyde, 9 poulets avec le vaccin BPL sans hydroxyde, 8 poulets avec du vaccin au BPL et hydroxyde.

Les poulets dont nous nous sommes servis n'avaient jamais été vaccinés et leurs sérums étaient négatifs à l'épreuve d'inhibition de l'hémo-agglutination à l'égard du virus de la pseudo- peste.

Contrôle de la résistance conférée. Les poulets vaccinés sont inoculés par la voie intramusculaire avec une souche de virus pathogène ayant un titre mortel 50 pour l'embryon correspondant à 10⁻⁷. Cette souche de virus est capable de faire succomber ou de rendre gravement malades les poulets contrôles non vaccinés au moins jusqu'à la dilution 10⁻⁵.

Chaque poulet vacciné reçoit 1 cm³ d'une dilution au 1:100 de ce virus. On transmet l'infection 34 jours après la vaccination.

Résultats

1. Le titre infectant du virus employé pour la préparation des vaccins est de 10^{-5,8}.

2. Les contrôles d'inactivation n'ont pas décelé du virus capable d'infecter les embryons.

Tous les embryons inoculés étaient vivants 84 heures après l'inoculation. L'hémo-agglutination effectuée avec le liquide amniotique était négative.

3. Les titres inhibants l'hémo-agglutination évalués 20 et 28 jours après la vaccination sont résumés dans le tableau suivant :

<i>Vaccin formolé additionné d'hydroxyde d'aluminium</i>			<i>Vaccin inactivé par le BPL non additionné d'hydroxyde d'aluminium</i>			<i>Vaccin inactivé par le BPL additionné d'hydroxyde d'aluminium</i>		
N° poulets	Titre inhibant		N° poulets	Titre inhibant		N° poulets	Titre inhibant	
	après 20 jours	après 28 jours		après 20 jours	après 28 jours		après 20 jours	après 28 jours
533	—	—	524	—	—	501	1:40	1:40
534	1:20	1:10	527	—	—	526	1:20	1:20
535	1:40	1:20	537	1:10	1:10	530	1:20	1:40
787	1:20	1:20	551	—	—	783	1:20	1:10
789	—	—	786	—	—	791	1:40	1:20
796	1:40	1:20	788	—	—	798	1:10	1:10
799	1:20	1:20	792	1:10	—	902	1:20	1:20
905	1:80	1:40	794	—	—	904	—	—
			797	1:20	1:20			

Un aperçu peut-être moins précis mais plus clair sur la quantité d'anticorps produits par les divers vaccins nous est donné par la moyenne des titres inhibants de chaque groupe de poulets.

Titre inhibant moyen des poulets inoculés avec du vaccin formolé additionné d'hydroxyde		Titre inhibant moyen des poulets inoculés avec du vaccin BPL non additionné d'hydroxyde		Titre inhibant moyen des poulets inoculés avec du vaccin BPL additionné d'hydroxyde	
après 20 jours	après 28 jours	après 20 jours	après 28 jours	après 20 jours	après 28 jours
27,5	15,1	4,4	3,3	21,2	20

Commentaire du titrage du pouvoir inhibant

1. Les vaccins additionnés d'hydroxyde d'aluminium et inactivés respectivement par le formol et par le BPL donnent lieu à la formation d'une quantité d'anticorps inhibants qui ne sont pas significativement divers entre eux.

2. La différence de ces deux vaccins par rapport au vaccin inactivé par le BPL non additionné d'hydroxyde est par contre assez claire et significative. Cette observation n'est pas neuve, mais sert à confirmer seulement l'importance de l'adjuvant dans les vaccins inactivés.

Contrôle de la résistance des poulets vaccinés. Les poulets vaccinés (8 avec du vaccin formolé à l'hydroxyde d'aluminium, 9 avec du vaccin au BPL sans hydroxyde, 8 avec du vaccin au BPL à l'hydroxyde) sont infectés 34 jours après la vaccination selon la technique décrite précédemment.

Aucun des poulets vaccinés n'a présenté de symptômes assignés à la maladie de Newcastle (diarrhée, racles, symptômes nerveux).

L'observation s'est prolongée pendant trois semaines.

8 sujets contrôles, de même race et de même âge, ont été infectés simultanément avec la même dilution de virus.

De ces 8 poulets un a succombé au 4^e jour, 5 au 5^e jour, 2 au 6^e jour, avec le cadre clinique et anatomo-pathologique caractéristique de la pseudo- peste. 3 autres poulets de contrôle ont été inoculés par la voie intra-musculaire avec 1 cm³ de virus pathogène dilué au 1:10 000 et 3 autres encore avec une dilution de 1:100 000.

Tous les six poulets ont succombé au 5^e jour après l'inoculation en présentant les symptômes cliniques et anatomo-pathologiques de la pseudo- peste.

Cela démontre que les poulets vaccinés ont résisté au moins à 1000 doses mortelles de virus pathogène.

Etant donné que tous les poulets vaccinés ont supporté l'infection d'épreuve il nous est impossible de répondre en faveur ou non de la supériorité d'un vaccin sur l'autre. Nous pouvons dire seulement que les trois vaccins ont donné dans nos conditions d'expériences une bonne immunité.

En rassemblant les résultats des titres inhibants avec ceux de la résistance à l'infection nous pouvons tirer des conclusions non pas en faveur de la supériorité du vaccin au BPL par rapport au vaccin formolé mais pour une valeur équivalence (à condition bien entendu que tous les deux soient additionnés d'hydroxyde).

Conclusions générales et résumé

1. Le BPL a un excellent pouvoir virulicide soit à l'égard du virus aphteux qu'à celui de Newcastle.

2. La quantité de BPL nécessaire pour inactiver le virus varie en rapport avec le milieu de suspension du virus. Elle semble en outre varier de virus à virus.

3. L'inactivation du virus aphteux par le BPL est beaucoup plus rapide que l'inactivation par le formol à la température de 37°–30° et 25°.

4. L'inactivation du virus aphteux par le BPL est de nature chimique, tandis que celle par le formol est de nature chimique et thermique.

5. Le virus aphteux traité par le BPL montre un abaissement du pH d'autant plus grand que la concentration de BPL est plus haut. L'abaissement est également décelable avec le virus formolé, mais dans une mesure beaucoup plus inférieure et jamais au-dessous de pH 7.

6. Le virus aphteux traité par diverses quantités de BPL montre par rapport à celui formolé une marge de sûreté plus étroite entre l'inactivation complète et la perte du pouvoir antigène. Ce phénomène n'est pas dû au changement du pH durant l'inactivation, car on l'observe également pour des virus qui pendant l'inactivation sont tenus en milieu constamment alcalin très voisin au pH de départ du virus.

7. En comparant le pouvoir antigène immunisant des vaccins préparés avec les virus inactivés par le BPL et les vaccins préparés avec du virus formolé nous n'avons jamais observé la supériorité des vaccins au BPL. Cela vaut pour les vaccins contre la fièvre aphteuse que pour ceux contre la maladie de Newcastle.

Zusammenfassung

1. Das Betapropiolacton (BPL) ist ein ausgezeichnetes Virulizid, sowohl für das Maul- und Klauenseuche- wie auch für das Newcastlevirus.

2. Die Menge von BPL, welche notwendig ist, um das Virus zu inaktivieren, variiert im Zusammenhang mit dem Lösungsmittel des Virus. Sie scheint im übrigen von Virus zu Virus zu schwanken.

3. Die Inaktivierung des Maul- und Klauenseuchevirus durch BPL geht viel rascher als die Inaktivierung durch Formol, sowohl bei 37° bis 30° C als auch bei 25° C.

4. Die Inaktivierung des Maul- und Klauenseuchevirus durch BPL geht vorwiegend auf chemischem Wege vor sich, diejenige durch Formol sowohl chemisch als auch thermisch.

5. Das mit BPL behandelte Maul- und Klauenseuchevirus zeigt ein Absinken des pH, um so stärker, je höher die Konzentration des BPL ist. Dieses Absinken ist auch am formolisierten Virus feststellbar, aber in viel geringerem Maße und niemals unter pH 7.

6. Das mit verschiedenen Mengen BPL behandelte Maul- und Klauenseuchevirus zeigt gegenüber dem formolisierten eine engere Sicherheitsmarge zwischen völliger Inaktivierung und Immunisierungsvermögen. Diese Erscheinung beruht nicht auf dem Wechsel des pH während der Inaktivierung, da man sie auch bei Viren feststellen kann, die während der Inaktivierung dauernd in alkalischem Milieu gehalten werden, das den pH-Wert auf gleicher Höhe erhält wie zu Beginn.

7. Beim Vergleich des Immunisierungsvermögens von Vakzinen, die durch Einwirkung von Formol gewonnen wurden, haben wir nie eine Überlegenheit der BPL-Vakzine festgestellt. Dies gilt sowohl für Maul- und Klauenseuchevakzine wie auch für solche gegen Newcastle.

Riassunto

1. Il Betapropiolactone (BPL) è un virulicida eccellente, sia contro l'aftha epizootica che contro il virus di Newcastle.

2. La quantità di BPL occorrente per inattivare il virus varia in relazione con il suo mezzo di soluzione. Del resto esso sembra variare da virus a virus.

3. L'inattivazione del virus aftoso col BPL è molto più svelta di quella con il formolo, sia a 37-30° C che a 25° C.

4. L'inattivazione del virus aftoso con il BPL si sviluppa in prevalenza sotto l'aspetto chimico; quella del formolo avviene sia sotto l'aspetto chimico che quello termico.

5. Il virus aftoso trattato con il BPL presenta un abbassamento del pH in modo tanto più forte quanto più elevata è la concentrazione del BPL. Tale abbassamento si verifica anche nel virus formolato, ma in misura molto più ridotta e mai sotto il pH 7.

6. Il virus trattato con diverse quantità di BPL presenta, rispetto a quello formolato, un margine più stretto fra l'inattivazione completa e il potere immunizzante. Questa manifestazione non si fonda sul cambiamento del pH durante l'inattivazione, poichè la si può accertare anche nei virus che durante il processo d'inattivazione sono tenuti costantemente in ambiente alcalino, che a sua volta conserva il valore del pH alla stessa altezza come all'inizio.

7. Comparando il potere immunizzante di vaccini trattati con il formolo, non abbiamo mai verificato una superiorità del vaccino BPL. Ciò vale per il vaccino aftoso e per quello di Newcastle.

Summary

1. Betapropiolacton (BPL) is an excellent virulicide for foot and mouth disease virus and for the Newcastle virus as well.

2. The quantity of BPL required for the inactivation of a virus varies with the solvents and probably with the virus species.

3. The inactivation of the foot and mouth disease virus by BPL is quicker than the inactivation by formaldehyde either at 37°-30° or at 25°.

4. The inactivation of the foot and mouth disease virus by BPL is mainly a chemical, that by formaldehyde a chemical and at the same time a thermal process.

5. The foot and mouth disease virus treated with BPL undergoes a decrease of pH which is deeper at higher concentrations of BPL. This decrease is observed also with formaldehyde, but to a lesser degree, and never below 7.0.

6. The difference between the completely inactivating and the immunizing concentration is smaller with BPL than with formaldehyde. This is not due to changes of pH, as it is also observed if the pH is kept constant by performing the inactivation in an alkaline medium.

7. The immunizing potency of BPL foot and mouth and Newcastle vaccines is not superior to those prepared by formaldehyde.

Bibliographie

Basinski D.H. et Remp D.G.: (1955) - Federation Proc. 14, 178. - Bernheim F. et Gale G.R.: (1952) Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 80, 162-164. - Curran H.R. et Evans F.R.: (1956) J. Infect. Dis. 99, 212-218. - D'Alessandro G., Oddo F.G. et Inzerillo G.: (1956) Rivista Istituto Sieroterapico Ital. 31, 65-68 e 464-468. - Fogedby E.: cité par Randrup A. (1954). - Gale G.R.: (1953) J. Bact. 65, 505-508. - Hartman F.W.,

Piepes S.L., Wallbank A.M.: (1951) *Federation Proc.* 10, 358. – Hartman F.W. et Kelly: (1953) *Federation Proc.* 12, 390. – Hartman F.W., Lo Grippo G.A. et Kelly A.R.: (1956) *Federation Proc.* 15, 518. – Johanson: (1915) cité par Lépine P. et Atanasiu P. (1956). – Kelly A.R.: (1952) *Federation Proc.* 11, 419. – Kelly A.R. et Hartman F.W.: (1951) *Federation Proc.* 10, 361. – Kelly A.R. et Hartman F.W.: (1952) *Federation Proc.* 11, 419. – Kelly A.R., Rupe C.E., Tazuma J.J. et Hartman F.W.: (1954) *Federation Proc.* 13, 434. – Lépine P., Atanasiu P.: (1956) *Ann. Inst. Pasteur* 91, 100–102. – Lo Grippo G.A., Overhulse P.R. et Szilagyi D.E.: (1954) *Bact. Proc.* 61–62. – Lo Grippo G.A. et Hartman F.W.: (1955) *J. Immunol.* 75, 123–128. – Lo Grippo G.A. et Hartman F.W.: (1954) *Federation Proc.* 13, 503. – Mack W.N. et Chotisen A.: (1955) *Poultry Science* 34, 1010–1013. – Mack W.N. et Chotisen A.: (1956) *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 91, 288–290. – Mangun G.H., Kelly A.R., Sanders B.E., Piepes S.L., Wallbank A.M. et Hartman F.W.: (1951) *Federation Proc.* 10, 220. – Pizzi M.: (1950) *Human Biol.* 22, 151 et In Carlton E. Schwerdt et M. Merrel (1952) *Am. J. Hyg.* 55, 268–275. – Ramon G.: (1955) *Revue d'Immunologie* 19, 271. – Randrup A.: (1954) *Acta Path. Microbiol. Scand.* 35, 388–395. – Reed L.J. et Muench H.: (1938) *Am. J. Hyg.* 27, 493. – Smolens J. et Stokes J.: (1954) *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 86, 538–539. – Szilagyi D.E., Overhulse P.R. et Lo Grippo G.A.: (1954) *Clin. Res. Proc.* 2, 108. – Trafas P.C., Carlson R.E., Lo Grippo G.A. et Lam C.R.: (1954) *Arch. Surg.* 69, 415–424. – Waldmann O., Pyl G., Hobohm K.O. et Möhlmann H.: (1941) *Zbl. f. Bakt.* 1^o Orig. 148, 1–15.

Die Einschätzung von Nutz- und Zuchtvieh nach Richtlinien und Richtzahlen

Von Nationalrat A. Zeller, eidg. Schätzungsexperte, Walenstadt

Bis zum Erlaß der Weisung Nr. 1 des Eidgenössischen Veterinärarnamtes über die Einschätzung der im staatlichen Verfahren zur Bekämpfung der Rindertuberkulose auszumerzenden Tiere vom 4. Dezember 1944, welche Weisung sich auf die Verfügung des Eidg. Volkswirtschaftsdepartementes über Entschädigungen und administrative Maßnahmen bei der Bekämpfung der Rindertuberkulose vom 26. Juni 1944 bezieht, haben keine Richtlinien von grundsätzlicher Bedeutung bestanden für die Einschätzung von Nutz- und Zuchtvieh. Die vor diesem Zeitpunkte aus Anlaß der Tilgung akuter oder chronischer Seuchen ausgemerzten Tiere sind ohne Anpassung an ein bestimmtes Schema einfach gefühlsmäßig möglichst marktkonform eingeschätzt worden.

Mit dem weitreichenden und sehr bedeutsamen Bundesratsbeschuß über die Bekämpfung der Rindertuberkulose vom 27. Januar 1942 ist dann nicht nur die Tuberkulosebekämpfung ganz allgemein intensiviert, sondern auch die Ausgangslage für eine gezielte und einheitliche Schätzung geschaffen worden. Art. 9 dieses Bundesratsbeschlusses lautet:

«Die Viehbesitzer, die Viehversicherungskassen oder andere Organisationen erhalten an den Schaden, den sie durch die infolge Tuberkulose rechtzeitig erfolgten Ausmerzungen erleiden, kantonale Beiträge. Diese dürfen für den Viehbesitzer, zusammen