

Quelques considérations théoriques sur la concentration des vaccins anti-aphteux à l'hydroxyde d'alumine

Autor(en): **Moosbrugger, G.A.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **90 (1948)**

Heft 1

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-588533>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

SCHWEIZER ARCHIV FÜR TIERHEILKUNDE

Herausgegeben von der Gesellschaft Schweizerischer Tierärzte

XC. Bd.

Januar 1948

1. Heft

Office vétérinaire fédéral (Directeur Prof. Dr. G. Flückiger).
Institut vaccinal fédéral de Bâle (Chef Dr. G. A. Moosbrugger).

Quelques considérations théoriques sur la concentration des vaccins anti-aphteux à l'hydroxyde d'alumine.

Dr. G. A. Moosbrugger.

Dès l'apparition du vaccin antiaphteux à l'hydroxyde d'alumine, le premier reproche formulé à son égard a été les hautes doses prescrites dans son emploi. En effet, Waldmann a préparé un vaccin actif à la dose de 60 cc par tête de gros bétail, alors que le vaccin de Sven Schmidt doit s'employer soit en deux fois 15 cc, soit en une fois 30 cc.

Il est donc naturel que l'on se soit efforcé de réduire ces doses pour faciliter l'application pratique de la prophylaxie de la fièvre aphteuse fondée sur l'emploi du vaccin.

Ce mémoire ne voulant avoir aucun caractère de polémique, si léger soit-il, nous nous abstenons sciemment de mentionner aucun de ces vaccins à faible dose et nous renonçons même à toute indication bibliographique quelconque.

Lorsque, en décrivant une préparation de vaccin, on mentionne le pourcentage de virus qu'il contient, il faut tout d'abord définir ce qu'on entend sous ce terme. Il s'agit en effet non pas de virus pur, comme on compte le nombre de microbes au cc, mais de matériel virulent, cette virulence étant déterminée, en règle générale, par la plus haute dilution à laquelle une quantité donnée de ce matériel est encore capable de causer une maladie évolutive. Relevons d'emblée que cette détermination est assez imprécise et que l'on est encore très loin de pouvoir fournir un vaccin dosé en unités infectieuses minimum.

Mais beaucoup plus important est le point suivant: Le virus, dans ce matériel, se trouve soit dans les couvercles des aphtes, soit dans la lymphe coagulée ou liquide que celles-ci contiennent. Or le virus se forme au niveau du corps muqueux de Malpighi

(stratum spinosum) et de la couche granuleuse (stratum granulosum). C'est de là qu'il diffuse dans la lymphe où il se rassemble au fur et à mesure de sa formation, mais d'où il disparaît aussi soit par destruction, soit parce qu'il se répand de là dans l'organisme. Nous omettons volontairement d'envisager à cette occasion le phénomène d'auto-activation de Pyl qui n'a été observé jusqu'à présent qu'*in vitro*.

Pratiquement le problème se pose comme il suit: Nous disposons d'une certaine quantité de matériel qui contient un virus seul utile dans l'immunisation. Ce qui est important n'est pas le poids de matériel (de matière première pour ainsi dire) que l'on emploie, mais bien la quantité de virus que l'on va faire passer dans le vaccin. Il s'agit donc tout d'abord d'extraire ce virus et de le mettre en suspension et ensuite de ne pas le perdre en cours de fabrication. Nous allons donc étudier ces deux opérations pour fixer leurs limites.

a) Extraction.

Les divers instituts ont indépendamment les uns des autres mis au point des techniques remarquablement convergentes. En principe il s'agit tout d'abord de disloquer les cellules puis d'extraire le virus par action de l'eau distillée ou alcalinisée. Or la quantité d'eau indispensable est assez élevée. Dans la description de sa technique, Waldmann indique employer en eau 15 fois le poids initial de matériel virulent pour le vaccin monovalent, mais huit fois et demi seulement pour la vaccin bivalent. Ce dernier chiffre est, selon les expériences de l'institut de Bâle, trop faible. En effet, ce problème capital a attiré dès le début notre attention, et, pendant les cent fabrications exécutées au cours des deux dernières années, nous avons pu réunir des observations précieuses dans ce domaine. La méthode la meilleure pour vérifier les suspensions quant à leur teneur en virus aurait théoriquement été de titrer ce virus après chaque opération. Mais d'une part cette titration est d'une valeur très inégale, nous l'avons dit, et d'autre part, elle demanderait un nombre invraisemblable d'animaux d'expérience, infectés presque simultanément. Car il s'agirait de faire vingt à trente titrations pendant les quelques heures de la durée de fabrication; or chaque titration nécessite l'emploi de 40 cobayes, soit 800 à 1200 cobayes à infecter en moins de cinq heures pour éviter que le taux du virus ne baisse uniquement par l'attente. C'est une opération trop compliquée pour un résultat de prime abord aléatoire.

Il fallait donc chercher plus simple. Le virus est selon toute vraisemblance une nucléo-protéine. En contrôlant uniquement la teneur en protéines des suspensions nous aurons donc la possibilité d'en observer les variations qui, si elles ne sont pas à coup sûr identiques à celles du virus, sont vraisemblablement parallèles.

Pour déterminer quantitativement la teneur en protéines nous avons employé une méthode que nous avons mise au point nous-même, bien qu'ayant constaté après coup qu'elle n'était pas originale. Nous déterminons par la cellule photo-électrique au sélénium, l'absorption de lumière produite par le précipité floconneux de protéines causé par l'action de l'acide trichloracétique. La méthode est simple, rapide et remarquablement précise pour les teneurs faibles. Simultanément nous avons vérifié la température des suspensions, leur opacité et leur P_H . Le tableau I donne les valeurs moyennes de 20 fabrications.

Ce tableau, malgré le nombre important d'opérations qu'il exige en cours de fabrication est assez incomplet dans le début des opérations; cela tient à ce qu'à ce moment là les prélèvements sont assez difficiles, toute la suspension étant récoltée dans un unique récipient. Une description succincte de cette phase le fera mieux comprendre.

Nous avons dit que les aphtes triturées mécaniquement sont mises en présence d'eau distillée constamment renouvelée pour permettre une extraction aussi complète que possible par diffusion dans un liquide neuf et donc plus actif. La trituration doit bien entendu tout d'abord être poussée à fond. L'institut de Bâle y procède de la façon suivante: Les aphtes et la lymphe sont congelées à -40° C, puis hâchés dans une machine à trous de 3,5 mm; le hâchis est reporté à -40° C, pendant 48 heures, pour permettre aux cellules, qui ont perdu le soutien du tissu environnant, d'éclater de l'intérieur par congélation. La masse durcie est repassée par la machine à hâcher, montée cette fois avec une plaque aux trous de 2 mm de diamètre. La pâte est mise dans un cutter aux couteaux affilés comme des rasoirs, la cuvette ayant été refroidie au préalable à la glace carbonique. Vingt minutes plus tard, le matériel infectieux forme une crème semi-fluide qui est mise sur un tamis de bronze très fin (3000 trous au cm^2). C'est sur ce tamis que se fait l'extraction, la finesse des trous, retardant l'écoulement permet un contact prolongé et intime de l'eau avec le matériel à épuiser. Le résidu est repris dans un mortier où il est écrasé en présence de glace et d'eau, puis repassé sur le tamis, pressé à trente atmosphères, remis dans le mortier, passé une troisième fois

Tableau I. Moyennes des contrôles de température, d'opacité, de teneur en protéines et du P_H des suspensions de virus de 20 fabrications.

Suspension	Moment du contrôle	Température en ° C.	Opacité en % d'extinction de la lumière	Protéines en ‰ de protéines sèches	P _H
Virus en suspension dans l'eau distillée	Après 1 ^{er} passage au tamis	0,25	—	—	—
	Pendant 1 ^{er} passage au mortier	0	—	—	—
	Pendant 2 ^e passage au mortier	0	—	—	—
	Avant 1 ^{re} centrifugation	0,825	85	—	—
	Avant 2 ^e centrifugation	1,56	72,6	—	—
	Avant 1 ^{re} filtration (clarifiante)	2,25	60,5	2,339	8,12
	Au 10 ^e l. de la 1 ^{re} filtration	5,625	5,7	1,126	8,17
	Au 20 ^e l. de la 1 ^{re} filtration	4,25	9,3	—	—
	Au 30 ^e l. de la 1 ^{re} filtration	3,62	10,6	—	—
	A la fin de la 1 ^{re} filtration	3,3	15,4	1,700	8,23
	Avant la 2 ^e filtration (valeur moyenne de la 1 ^{re} filtration)	0,4	9,4	1,335	8,13
	Au 10 ^e l. de la 2 ^e filtration	5,7	4,2	0,563	8,22
	A la fin de la 2 ^e filtration	4,75	5,0	1,270	8,12
Solution tampon aux phosphates Na ₂ HPO ₄ 0,91 g, KH ₂ PO ₄ 0,1 g ad 1000 H ₂ O	Avant la 1 ^{re} filtration	5,88	0	0	7,66
	Au 10 ^e l. de la 1 ^{re} filtration	4,475	0,8	0,199	7,72
	Au 25 ^e l. de la 1 ^{re} filtration	4,675	0,6	—	—
	Au 35 ^e l. de la 1 ^{re} filtration	4,7	0,73	—	—
	A la fin de la 1 ^{re} filtration	4,8	0,45	0,033	7,72
	Avant la 2 ^e filtration	0,375	0,85	0,140	7,73
	Au 10 ^e l. de la 2 ^e filtration	3,55	0,63	0,195	7,79
	Au 40 ^e l. de la 2 ^e filtration	3,45	0,5	—	—
A la fin de la 2 ^e filtration	3,3	0,22	0,07	7,76	

au tamis et pressé à fond à la même pression que précédemment. Pendant toute cette extraction nous rajoutons de l'eau distillée refroidie à 0° C jusqu'à concurrence de 12 fois le poids initial pour un vaccin bivalent.

Bien que nous nous tenions à presque la moitié en dessus de la quantité indiquée par Waldmann, nous sommes en réalité exactement à la limite inférieure de ce qui peut être toléré. En effet, à la dernière pressuration, on trouve encore 0,3 pour mille de protéines sèches dans le liquide, soit environ un huitième de la concentration totale. C'est dire qu'avec une quantité d'eau moins grande on n'épuiserait certainement pas tout le virus contenu dans le matériel infectieux.

On voit immédiatement que cette proportion à elle seule, impose une limite à la concentration effective du vaccin. En effet, on ne pourra pas mettre plus de 8% de virus dans un vaccin quelconque puisque l'eau d'extraction formera à ce moment 96% du liquide total. Toute concentration supérieure sera illusoire puisque les quantités supplémentaires de matériel infectieux conserveront une partie toujours croissante de leur virus.

Cette limite va d'ailleurs s'abaisser rapidement si l'on tient compte des autres produits qui doivent figurer dans le vaccin.

b) Perte de virus en cours de fabrication.

Il est connu que le virus aphteux est éminemment adsorbable. Or la première qualité d'un vaccin doit être l'inocuité. On ne peut pas courir le risque, en protégeant des animaux de la fièvre aphteuse, de leur inoculer le bacille de Bang, par exemple. Le vaccin doit être totalement stérile et la seule méthode qui permette de répondre à cette exigence consiste à filtrer la suspension de virus. Théoriquement on pourrait se servir de filtres de verre qui n'adsorbent pas ou très peu. Mais leur débit est trop faible pour permettre une fabrication en grande quantité; de plus, le virus étant très sensible à la température, il faut que l'opération soit terminée dans le minimum de temps. Il n'est pas intéressant d'éviter les pertes par adsorption pour subir les mêmes pertes du fait de la température. Force est donc de se servir de filtres d'amiante en essayant de parer à la perte probable. Heureusement toute adsorption est immédiatement réversible et le meilleur éluant connu pour le virus aphteux est une solution tampon de phosphates monopotassique et disodique de P_H 7,65. C'est avec cette solution que nous pourrions laver les filtres.

Le tableau I montre combien cette solution tampon se charge de protéines. Mais il s'agit de déterminer la quantité minimum indispensable pour procéder à un lavage complet. Waldmann a estimé cette quantité à quatre fois celle de la suspension de virus. Notre tableau démontre que la marge de sécurité est un peu trop grande. En effet on ne peut pas tenir compte des chiffres de la seconde filtration (filtration stérilisante) puisque le tampon se présente sur le filtre déjà chargé de virus lavé sur le premier filtre. Sans vouloir entrer dans le détail des calculs, nous sommes arrivés à la conclusion qu'une quantité un peu supérieure à celle de la suspension de virus constitue ce strict minimum indispensable. Expérimentalement nous l'avons confirmé, le tampon, à la fin de la

première filtration, et employé en quantité un peu supérieure à celle de la suspension de virus, ne contient plus que 0,01 à 0,02 pour mille de protéine sèche.

Ajoutons à 12 fois le poids initial du virus une quantité un peu supérieure, et nous arrivons à 25 fois ce poids. La concentration maximum du vaccin se réduit à 4% de virus. Et nous n'avons pas encore étudié l'hydroxyde d'alumine qui doit trouver sa place dans le mélange.

c) Autres produits et composition finale.

L'hydroxyde d'alumine est une substance très colloïdale, c'est-à-dire à la fois très visqueuse et très inerte à l'action de la chaleur faite de courants internes. Avec le temps ce gel se réunit en grumeaux très désagréables au moment de l'injection du vaccin. Il est donc nécessaire pour parer à cet inconvénient de l'homogénéiser avant la stérilisation. Or l'homogénéisation augmente encore sa viscosité et par là son inertie à la chaleur. De ce fait, sa stérilisation dans cet état serait des plus aléatoire. Il faut le diluer avec au moins la moitié de son poids pour être sûr que l'action de la chaleur se fasse sentir dans la totalité de la masse. Et nous devons nous demander encore quelle est la quantité minimum par rapport au virus qu'il faut employer pour avoir une marge de sécurité qui garantisse contre tout aléa.

Il ressort des expériences faites tant au Danemark qu'à Bâle, que l'hydroxyde d'alumine préparé industriellement peut adsorber le tiers de son poids de matériel virulent. Une marge de sécurité de 15 fois la capacité adsorbante doit être considérée comme juste suffisante. Nous devons donc avoir dans le vaccin au moins 45 fois plus d'hydroxyde d'alumine que de matériel infectieux.

Si nous récapitulons les chiffres obtenus en se fondant sur les résultats expérimentaux dont nous disposons et en tenant compte du glycolle et du formol, autres produits nécessaires, nous arrivons à la composition suivante en partant d'un poids de virus:

Virus	1 repris en suspension	
	dans de l'eau distillée	12
Solution tampon phosphatée		16
Hydroxyde d'alumine		45
Eau distillée pour sa dilution		25
Glycolle		1
Eau formolée		1
	Total	<u>100</u>

C'est la formule que l'institut vaccinal fédéral de Bâle a choisie pour préparer un vaccin à la plus haute concentration effective possible.

Si nous la comparons à la formule de Waldmann

Hydroxyde d'alumine	50
Eau distillée	30,2
Virus 0,4 repris dans eau distillée . . .	3,6
Tampon phosphate	14,2
Glycocolle	1
Eau formolée	1

nous voyons que nous n'avons pu que doubler la quantité de virus ce qui permet de diminuer les doses utiles de moitié seulement, et cela en réduisant à l'extrême tolérable tous les liquides du vaccin.

Comment se fait-il alors que des vaccins plus concentrés et à dose plus faible soient préparés et mis en application pratique avec des succès apparents? Celà tient à deux causes que nous voulons encore étudier brièvement.

Tout d'abord il est possible de réduire la marge de sécurité de l'hydroxyde d'alumine à 10 ou même à 5 en doublant ou en triplant la quantité de virus. A vrai dire on aura une perte de virus notable de sorte que cette augmentation sera plus apparente que réelle. Admettons la chose comme néanmoins possible et examinons ce qui va se passer. L'expérience apprend que l'hydroxyde d'alumine n'est pas un corps toujours semblable à lui-même et que l'on observe de notables différences entre les diverses fabrications. Le contrôle de son pouvoir adsorbant avec du virus et sur le cobaye ne donne pas des résultats d'une précision toujours parfaite. Cette imprécision peut aller du simple au double. Or un simple affaiblissement du pouvoir adsorbant de moitié réduit la marge de sécurité à 7. En outre le contrôle consistant à rechercher la quantité d'hydroxyde nécessaire à l'adsorption de tout le virus capable d'infecter le cobaye, mais cette quantité étant très inférieure à celle que l'on doit employer pour infecter le bovin, et comme il n'y a pas parallélisme absolu entre la virulence à l'égard des deux animaux, on peut, selon les souches employées courir le risque de lourdes erreurs. Dans un domaine où il y a encore tant d'inconnues, la plus grande prudence est de rigueur.

Il est néanmoins évident que dans les pays où la fièvre aphteuse sévit avec intensité, on peut prendre des risques beaucoup plus

grands. D'une part les contaminations de vaccination seront cr dites aux infections en période d'incubation, d'autre part ces accidents n'ont pas l'importance qu'ils ont dans un pays indemne. Et en effet, on constate que ces vaccins concentrés sont fabriqués exclusivement dans les régions où la fièvre aphteuse est endémique.

C'est d'ailleurs aussi pourquoi ils sont efficaces et c'est la seconde cause de leur emploi. Bien, que dans la préparation, la concentration soit plus apparente que réelle, ils ont l'avantage d'être préparés avec les souches mêmes qui sévissent dans le pays. Il ressort en effet des expériences de l'institut de Bâle que, contre les souches de fabrication, on peut obtenir une immunité totale à une dose bien inférieure à celle nécessaire dans le terrain contre une souche d'autre origine. Or dans un pays comme la Suisse, menacé de tous les côtés, il est indispensable d'avoir un vaccin qui soit efficace dans tous les cas. Il ne sert à rien de laisser la fièvre aphteuse se développer, pour un mois après commencer à la combattre avec un produit qui sera certes actif à une dose moitié moindre, mais qui arrivera trop tard pour être encore utile.

C'est pourquoi l'institut vaccinal fédéral de Bâle n'a pas voulu réduire les doses de vaccin avant d'avoir réuni expérimentalement toutes les garanties pour l'efficacité du produit. Les expériences faites à l'étranger sur de grands nombres d'animaux et dans des régions envahies par la fièvre aphteuse, ont démontré ces deux dernières années seulement qu'il est possible de réduire la dose de moitié au plus avec de bons résultats. Les conditions très spéciales de la Suisse ont exigé d'attendre tout d'abord confirmation de ces essais avant de passer à leur réalisation pratique, qui, dans un pays indemne, pouvait avoir des résultats catastrophiques.

Les considérations qui pr c dent ne pr judicient nullement une nouvelle réduction de doses si l'on arrive d'une part à trouver un mode de préparation de l'hydroxyde d'alumine qui multiplie notablement son pouvoir adsorbant et d'autre part à découvrir de nouvelles méthodes de mise en suspension qui nécessitent des plus petites quantités de liquide.

Jusque là, nous estimons qu'il est sage de se servir du vaccin dans une formule qui ne diverge que très peu de celle de Waldmann, car celle-ci a fait ses preuves, sans vouloir l'améliorer sur un point en l'affaiblissant dangereusement sur un autre.
