

Thermorésistance du virus de la fièvre aphteuse dans le lait de vaches infectées

par Mme Léone DHENNIN et Jacques LABIE*

RÉSUMÉ

Les essais de destruction par la chaleur du virus aphteux contenu dans le lait écrémé de vaches expérimentalement infectées ont montré qu'un temps de chauffage de 20 secondes à 70° C abaisse le titre du virus au voisinage de 0 sans pour autant amener sa disparition complète.

A la température de 60° C une durée de chauffe de 320 secondes donne le même résultat.

Dans le lait virulent chauffé 20 secondes à 90° C il est encore possible de déceler la présence du virus aphteux.

Au début du siècle ESSER et SCHUTZ [1] puis NOCARD et LECLAINCHE [2] découvrirent la présence du virus de la fièvre aphteuse dans le lait de vaches atteintes de cette maladie.

GALLOWAY [3] étudia la survie du virus dans le lait et sa résistance à la chaleur. Utilisant du lait normal dans lequel il ajoutait de la lymphé aphteuse de cobaye il concluait, qu'à 65° C, l'infectiosité, nulle après une exposition de 5 secondes, était encore appréciable après 2 secondes 1/2. Après déshydratation partielle, le lait est toujours virulent après chauffage de 10 secondes à 100° C.

NIKITIN et VLADIMIROV [4] ont trouvé que dans du lait sec contaminé avec du virus aphteux puis chauffé à haute température, le virus persiste pendant 2 ans.

Plus récemment SELLERS [5], HYDE *et al.* [6] ont montré que la température de 72° C maintenue pendant 15 à 17 secondes était insuffisante pour obtenir la destruction totale du virus qui survit même à un chauffage de 80° C pendant la même durée. Pour les

* Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, 22, rue Pierre-Curie - 94700 Maisons-Alfort.

auteurs Russes TOLZTYAK, BAKUMENKO, OMELAJENKO et MAZHAR [7] la stérilisation instantanée à 85° C ne tue pas le virus aphteux dans le lait. Il faut atteindre 90° C pour obtenir « une efficacité suffisante ».

La résistance du virus aphteux dans le lait aux températures usuelles de pasteurisation et même à des températures nettement plus élevées présente un handicap considérable pour les pays exportant du lait et des produits laitiers vers des pays indemnes de fièvre aphteuse où les bovins ne sont pas vaccinés.

Pour cette raison, à la demande des services vétérinaires, nous avons réalisé au Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires une série d'études afin de déterminer la température qui permettrait d'assurer une destruction totale du virus aphteux dans le lait de vaches infectées.

La France exportant principalement du lait écrémé et des produits laitiers fabriqués à partir de ce lait, nous donnerons ici les résultats obtenus à partir du lait écrémé.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1) *Obtention de lait virulent*

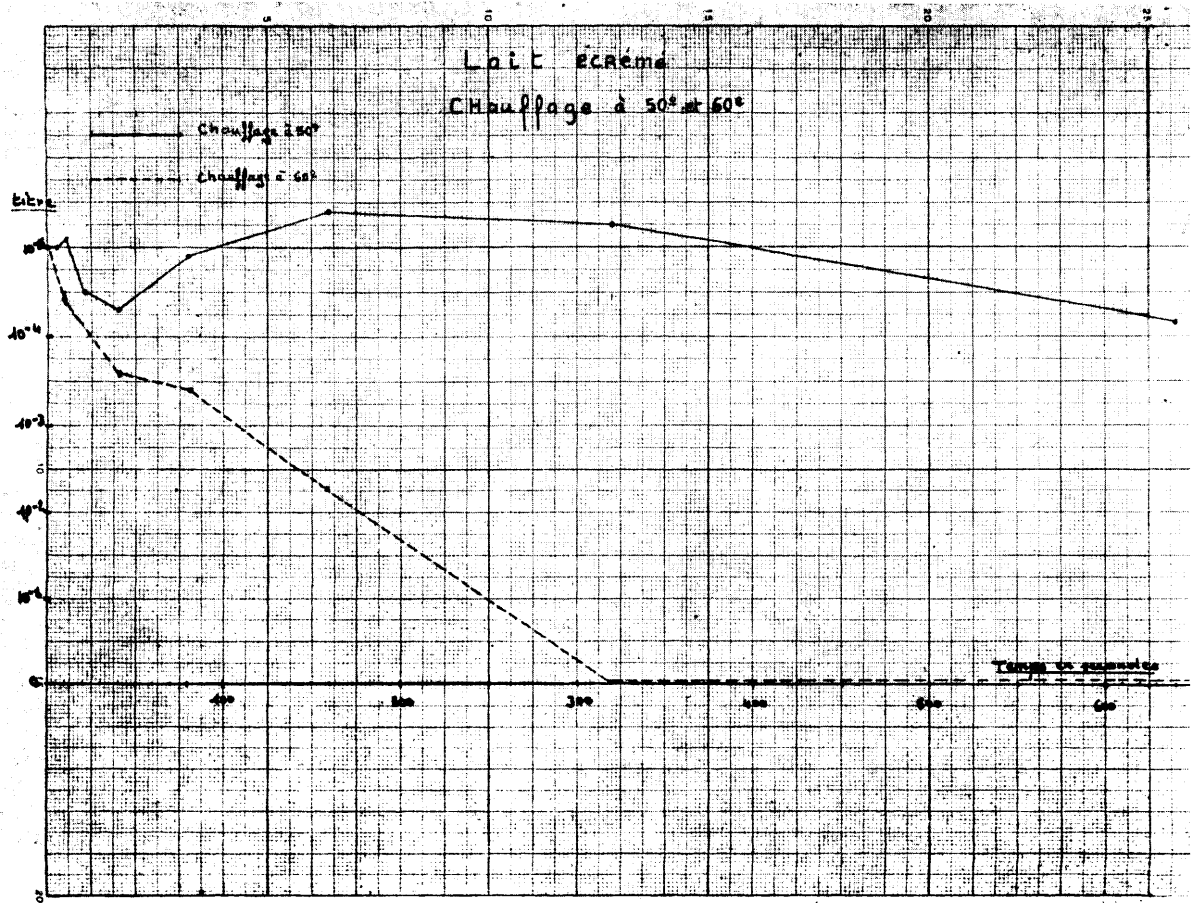
Deux vaches laitières de race bretonne pie-noire, âgées de 6 ans, indemnes d'anticorps aphteux ont été inoculées avec une suspension de virus bovin O Lausanne (collection du Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires).

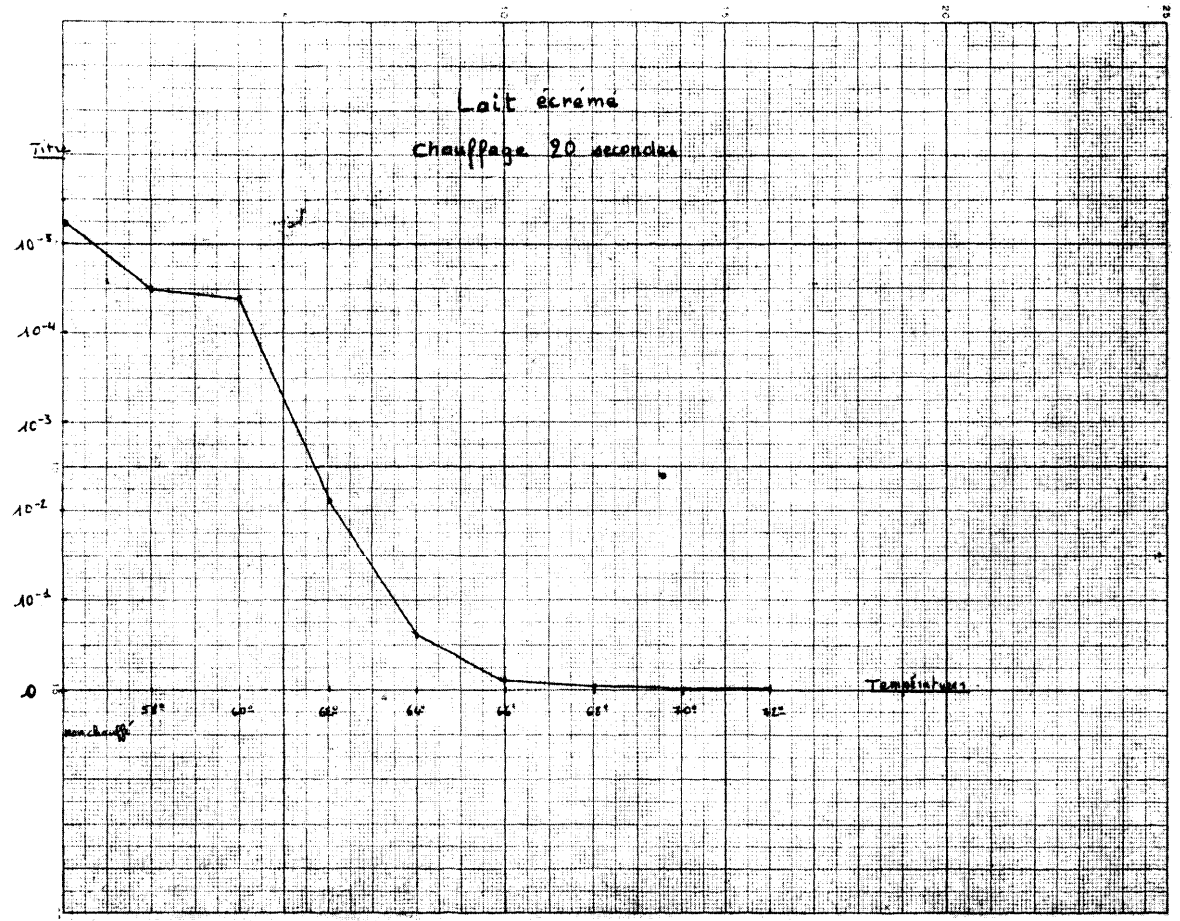
1 g d'aphtes a été broyé au disperser émulsionneur avec 9 ml de solution tampon de Sorensen. Après centrifugation 15 mn à 2.000 g, le surnageant (titre sur souriceaux 10^(-7,5)) a été dilué à 1/500 puis inoculé aux deux vaches à raison de 2 ml par voie intraveineuse et 1 ml par voie diathélique dans chacun des trayons.

Des aphtes à la langue, aux pieds et à la mamelle sont apparus au 3^e jour après l'inoculation virulente. Le lait prélevé matin et soir pendant 5 jours après l'inoculation est immédiatement congelé. Un échantillon de lait de chaque traite est titré sur souriceaux de manière à sélectionner les laits les plus virulents pour des expériences ultérieures. Dans le cas présent on a retenu pour les deux vaches le lait de la 24^e h. Le mélange de ces deux laits a été écrémé, titré puis conservé au congélateur. Avant chaque essai le titre a été à nouveau déterminé.

2) *Chauffage du lait*

Pour nous rapprocher le plus possible des principes de pasteurisation industrielle où le temps de montée en température est très court, nous avons mis au point un montage permettant le chauffage





du lait en couche mince. Deux tubes cylindriques en aluminium, de diamètre légèrement différent, emboîtés l'un dans l'autre, sont plongés dans un bain-marie thermostaté, le tube intérieur étant rempli d'eau à la même température. Le lait réchauffé à la température ambiante est introduit dans l'espace annulaire resté libre. Dans ces conditions l'équilibre de température se fait en quelques secondes.

3) Mise en évidence du virus

Elle est effectuée qualitativement ou quantitativement par inoculation des produits supposés virulents à des souriceaux OF1 âgés de 4 à 6 jours, chaque animal recevant par voie intrapéritonéale 0,03 ml. La souche de virus utilisée provoque la mort des souriceaux en 24 à 48 h. En vue des titrages on effectue pour chaque échantillon des dilutions logarithmiques, chaque dilution étant inoculée à une portée de 10 souriceaux. Pour confirmer que la mort des souriceaux est bien due au virus aphteux, les cadavres sont systématiquement prélevés et servent d'antigène pour une réaction de fixation du complément.

Nos expériences ont comporté trois séries d'essais :

I. — Chauffage à temps fixe et température variable (50 à 68° C) avec titrage (recherche quantitative).

II. — Chauffage à temps fixe et température variable (70 à 90° C) avec recherche qualitative.

III. — Chauffage à température fixe et temps variable.

I. — Pour cet essai le temps de chauffage a été de 20 secondes, les températures s'échelonnant de 2° C en 2° C entre 58° C et 68° C. Le titre du lait après chauffage a été déterminé par inoculation d'une portée de 10 souriceaux pour chaque dilution.

Les résultats obtenus sont rapportés sur le tableau et la courbe ci-jointe.

Température	58° C	60° C	62° C	64° C	66° C	68° C
Titre	10-4,5	10-4,4	10-2,1	10-0,6	# 0	# 0

Si on reporte le résultat obtenu sur les courbes, on constate que la virulence du lait décroît rapidement entre 60 C °et 68° C. A cette dernière température un seul souriceau fut trouvé mort de fièvre aphteuse.

II. — Dans cet essai nous avons chauffé le lait 20 secondes aux températures suivantes : 70° C - 73° C - 75° C - 78° C - 83° C - 85° C et 90° C.

Comme les résultats de la première expérimentation le laissent prévoir, dans cette gamme de température la quantité de virus résiduel est trop faible pour permettre un titrage. Nous avons donc simplement effectué une recherche du virus en inoculant 20 portées de 10 souriceaux pour chaque échantillon. Pour chacune des températures nous avons pu mettre en évidence le virus aphteux. Il faut remarquer que le pourcentage d'animaux morts est très faible et qu'il est donc indispensable de multiplier les inoculations pour déceler la présence éventuelle du virus.

III. — Devant ces résultats nous avons voulu déterminer l'influence du temps de chauffage sur la virulence du lait à des températures qui pendant une durée de 20 secondes n'ont aucune action sur le titre du lait virulent.

Pour ce faire nous avons choisi comme températures 50° C et 60° C, les temps de chauffage s'échelonnant en progression géométrique de 5 à 640 secondes, le titre du lait avant chauffage étant de 10^{-5} .

Les résultats des titrages sont résumés dans le tableau et les courbes ci-jointes :

Temps en sec.	5	10	20	40	80	160	320	640
50° C	10-5	10-5,1	10-4,5	10-4,6	10-4,9	10-5,4	10-5,25	10-4,4
60° C	10-4,6	10-4,4	10-4,5	10-3,6	10-3,4	10-2,3	# 0	# 0

On constate qu'à 50° C le temps de chauffage n'a pratiquement aucune influence sur le titre du lait mais, qu'en revanche, à la température de 60° C, le titre baisse assez rapidement à partir de 80 secondes pour être presque nul après 320 secondes.

CONCLUSIONS

Les recherches effectuées au cours des dernières décennies ont montré que, contrairement à l'opinion admise, le virus aphteux possède une thermorésistance surprenante (DIMOPOULOS [8]).

Le virus associé aux protéines du lait semble être particulièrement protégé. Ce fait peut expliquer que dans les conditions de nos expériences nous n'ayons pu obtenir sa destruction totale. Pour atteindre ce but il faudrait soit augmenter la température, soit prolonger le temps de chauffage ce qui semble peu compatible avec les techniques industrielles usuelles de dessiccation et de pasteurisation.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ESSER (J.) und SCHUTZ (W.). — Mitteilungen aus den amtlichen Veterinär Sanitats berichten Maul und Klauenseuche. *Arch. Tierheilkde.*, 1901, 27, 281-287.
- [2] NOCARD (E.) et LECLAINCHE (E.). — Les maladies microbiennes des animaux. Fièvre aphteuse. Masson, Paris, 1903, 553, 467-568.
- [3] GALLOWAY (I.-A.). — Fourth Progress Report of the Foot-and-Mouth. *Disease Research Committee*, 1931, 248.
- [4] NIKITIN (E.-E.) and VLADIMIROV (A.-G.). — Survival of viruses in dried milk and in food albumin. *Veterinariya.*, 1965, 42, 99-101.
- [5] SELLERS (R.-F.). — Inactivation of foot-and-mouth disease virus in milk. *Br. vét. J.*, 1969, 125, 163-167.
- [6] HYDE (J.-L.) et coll. — Effect of Pasteurisation and Evaporation ou Foot-and-Mouth Disease Virus in whole Milk from infected Cows. *Canadian Journal of Comparative Medecine*, 1975, vol. 39, n° 3, 305-309.
- [7] TOLSTYAK (Yi.-Yu.), BAKUMENKO (M.-D.), OMELAJENKO (O.-A.), CHECHOTKYINA (N.-P.) et MAZHAR (B.-K.). — A propos de la thermorésistance du virus de la fièvre aphteuse dans le lait. *Visn. sil'skogospodar. Nauky* (U.R.S.S., S.S.S.R.), 1974, n° 9, 86-88.
- [8] DIMOPOULOS (G.-T.). — Effects of physical environment on the virus of foot-and-mouth disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 83, (4), 706-726.

**

MM. BAZILLE, LAGNEAU, LADRAT *participent à la discussion.*

L'insertion de cette communication, au Bulletin, a été votée à l'unanimité.