

Thermoresistance Parameter of African Swine Fever Virus

R.S. MELO\* and J.D. VIGÁRIO\*

\* Departamento de Tecnologia de Indústrias Alimentares - Rua Vale Formoso 1 - LISBOA 1900

\*\* Laboratório Nacional de Investigação Veterinária - Estrada de Benfica 701 - LISBOA 4 PORTUGAL

We have carried out the study on African Swine Fever Virus (ASFV) heat resistance in meat extracts submitted at temperatures of 55, 56, 57, 58 and 59°C, in order to study the possibility of virus spread through heat treated cured meat products. It was showed that the thermal inactivation times of the virus at used temperatures follows a logarithmical curve. When the fresh meat and cured meats infected were treated by heat at lethal rate of 6 and 10 as referred to  $F_{140}^8$ , the virus was inactivated. Were studied the lethal rates of smoked sausages and cooked meats procedures used by portuguese industry and was concluded to be enough to inactivation of high concentration of the virus.

Hitzebeständigkeitsparameter des A.S.P. Virus

R.S. Melo a) et J.D. Vigário b)

a) Departamento de Tecnologia de Indústrias Alimentares -Rua Vale Formoso 1 - Lisboa 1900;

b) Laboratório Nacional de Investigação Veterinária -Estrada de Benfica 701 - Lisboa 4; Portugal

Um die Möglichkeit einer Ausaat des A.S.P. Virus in Warm behandelte Würstwaren zu untersuchen hat man die Hitzebeständigkeit dieses Virus an 55°, 56°, 57°, 58° und 59°C Temperatur in Fleischextrakt studiert. Man hat die Hitzeinaktivierungszeiten der verschiedenen Temperaturen berechnet. Man hat festgestellt, dass die Inaktivierung dieses Virus gemäss eine logarithmische Kurve erfolgt. Man hat verschiedenen warmbehandlungen in Würstwaren und in mit Viren infiziertem frischen Fleisch gemacht und so konnte man Inaktivierung des Virus mit letal werten zwischen 6 und 10, auf  $F_{140}^8$  bezogen beobachten. Man hat noch die letal werten von den Rauch- und Kochtafeln berechnet, welche man gewöhnlich in der portugiesischen Würstwarenindustrie verwendet. Wir schliessen daraus, dass sie genügend sind für die Inaktivierung von Virus in grosser Konzentration.

Paramètres de la Thermoresistance du Virus de Peste Porcine Africaine

R.S. MELO\* et J.D. VIGÁRIO\*\*

\*Departamento de Tecnologia de Indústrias Alimentares - Rua Vale Formoso 1 - LISBOA 1900;

\*\*Laboratório Nacional de Investigaçào Veterinária - Estrada de Benfica 701 -Lisboa 4;  
PORTUGAL

Pour étudier la possibilité de dissémination du virus de la peste porcine africaine (P.P.A.) dans les produits de charcuterie traités par la chaleur, on a fait l'étude de la thermoresistance de ce virus dans le surnageant d'un extrait de viande infectée aux températures de 55,56,57,58 e 59°C. Les temps d'inactivation thermique aux différentes températures ont été déterminés. On a vérifié que l'inactivation de ce virus se réalise suivant une courbe logarithmique. On a effectué plusieurs traitements thermiques dans les produits de charcuterie et des viandes fraîches infectées et on a vérifié l'inactivation du virus aux valeurs léthaux relatives à  $F_{140}^8$  de l'ordre de 6 et 10, respectivement. On a encore calculé les valeurs léthaux ( $F_{140}^8$ ) des barèmes de fumage et de cuisson généralement utilisés dans l'industrie charcutière portugaise; on a conclu qu'elles étaient assez pour inactiver le virus même s'il est présent à des concentrations élevées.

ПАРАМЕТРЫ ТЕРМОРЕЗИСТЕНЦИИ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ СВИНОЙ ЧУМЫР.С. Мелу<sup>+</sup> и Ж.Д. Вигарио<sup>++</sup>

Чтобы изучить возможность распространения вируса АСЧ в продуктах колбасно-сосисочного производства, обработанных теплом, было проведено исследование этого вируса в мясном экстракте при температуре 55,56,57,58 и 58 град. С. Время термической инактивации при различных температурах было определено, и стало ясно, что инактивация этого вируса проходила в соответствии с логарифмической кривой. Были проведены различные обработки (термические) на продуктах колбасно-сосисочного производства и на свежем мясе, подверженном воздействию вируса, была установлена инактивация вируса при летальных величинах, соответствующих  $F_{140}^8$  порядка от 6 до 10. Были рассчитаны также летальные величины ( $F_{140}^8$ ) для таблиц копчения и варки, обычно применяемых в португальском колбасном производстве, вследствие чего был сделан вывод о том, что они достаточны для инактивации вируса, если он присутствует в повышенной концентрации.

<sup>+</sup> отдел технологии пищевого производства, ул. Вале Формозу I, 1900 Лиссабон<sup>++</sup> нац. лаборатория ветеринарных исследований, шоссе Бенфика 701-Г, Лиссабон-4

## PARAMETRES DE LA THERMORÉSISTANCE DU VIRUS DE PESTE PORCINA AFRICAINE

R. S. MELO\* et J.D. VIGÁRIO\*\*

\* Departamento de Tecnologia de Indústrias Alimentares-Rua Vale Formoso 1 - LISBOA 1900;

\*\* Laboratório Nacional de Investigação Veterinária-Estrada de Benfica 701-LISBOA 4;

PORTUGAL

## RESUME

Pour étudier la possibilité de dissémination du virus de la peste porcine africaine (P.P.A.) dans les produits de charcuteries traités par la chaleur, on a fait l'étude de la thermorésistance de ce virus dans le surnageant d'un extrait de viande infectée aux températures de 55, 56, 57, 58 e 59°C. Les temps d'inactivation thermique aux différentes températures ont été déterminés. On a vérifié que l'inactivation de ce virus se réalise suivant une courbe logarithmique. On a effectué plusieurs traitements thermiques dans des produits de charcuterie et des viandes fraîches infectées et on a vérifié l'inactivation du virus aux valeurs léthales relatives à  $F_{140}^8$  de l'ordre de 6 et 10, respectivement. On a encore calculé les valeurs léthales ( $F_{140}^8$ ) des barèmes de fumage et de cuisson généralement utilisés dans l'industrie charcutière portugaise; on a conclu qu'elles étaient assez pour inactiver le virus même s'il est présent à des concentrations élevées.

## INTRODUCTION

La thermorésistance du virus de la peste porcine africaine (P.P.A.) a été étudiée par plusieurs auteurs sur différents substrats: sang (1, 4, 5 et 6), sérum (3 et 4) et surnageant de culture de tissus (2 a 7). Par ces résultats on peut estimer que le virus est très sensible au chauffage à 55 et 60°C. Nous avons étudié la thermorésistance de ce virus (souche S-60) dans le surnageant de l'homogénéisé des viandes infectées en ce qui concerne les temps de réduction décimale aux températures de 55 à 59°C, dans le but de faire de calcul de la valeur létale des traitements thermiques à appliquer aux viandes fraîches et aux produits de charcuterie pour inactiver le virus accidentellement présent dans ces produits pour éviter la dissémination de la maladie. Cet aspect est particulièrement important pour les pays où cette maladie existe en ce qui concerne le commerce interne et le commerce externe des produits carnés de porc.

## MATERIAL ET METHODES

- 1) Virus - Souche S-60 isolée au Portugal en 1960 sur des cas naturels de peste porcine africaine (suspension de râte de liophilisée).
- 2) Viandes - Provenant de porcs infectés expérimentalement avec le virus, tués après avoir présenté les symptômes de la maladie: hyperthermie, dispnée et prostration. On fait des examens anatomo-pathologiques et la recherche du virus. Avec ces viandes on a préparé plusieurs produits de charcuterie avec l'assaisonnement usuel (jambon cuit, saucisson sec, chorizo et épaule roulée) qui ont été traités par la chaleur.
- 3) Titration du virus dans les viandes fraîches et viandes assaisonnées. On a fait l'homogénéisation de la viande avec de l'eau physiologique dans la proportion 1:1 (p.p) dans le "Waring blender". L'homogénéisé a été filtré sur 4 épaisseurs de toile de gaze, après quoi le liquide résultant a été centrifugé à 2 000 r.p.m., pendant 10 mn, et le surnageant a été gardé dans des flacons stériles à 4°C. On a fait des dilutions décimales de ces surnageants, que l'on a ensemencé dans des cultures de cellules de moelle osseuse de porc, dans des tubes d'essai (3 par dilution). Ces tubes ont été incubés 7 jours à 37°C (temps nécessaire pour obtenir la multiplication des virus). Les taux en unités moyennes hemadsorbantes ( $UHA_{50}$ )

par ml ont été déterminés selon Malmquist et Hay (9) et calculés par la méthode de Reed et Muench (10).

4) Recherche du virus dans les viandes traitée - On l'a faite pour tous les produits sur culture de tissus, par la technique sur-citée, en recherchant le pouvoir d'hemadsorption.

5) Mésure de la thermorésistance - Le surnageant de l'homogénéisé des viandes fraîches infectées, à titre connu préparé par la technique curcitée, distribué dans des tubes de verre, avec le diamètre de 6mm e longueur de 100 mm, à raison de 1,5ml par tube. Les tubes, fermés à la flamme, ont été plongés dans un bain thermostaté à 0,1°C près, aux températures de 55, 56, 57, 58 e 59°C, et retirés à des temps préfixés pour être plongés dans de l'eau glacée. Les temps de chauffage ont été corrigés en tenant compte de la montée en température. Après, les tubes on été ouverts aseptiquement et une partie aliquote de leur contenu a été utilisée pour la recherche du virus par la technique sur citée. Pour le calcul des temps d'inactivation thermique on a utilisé la technique citée par Cheftel, H. et Thomas, G (11), admettant que chaque tube positif, de la même série où il y a des tubes négatifs, renferment seulement une unité infectieuse.

6) Traitement Thermique des Viandes Infectées - Viande fraîche a été coupée en tranches de 2,5cm d'épaisseur et plongée dans de l'eau chauffée à la température choisie au préalable (57 e 58°C). L'eau a été maintenue à température fixée pendant le traitement. Les jambons, les épaules roulées, les saucissons secs et les chourizo ont été traités dans une étuve Tyrode à température de 55/58°C. Jusqu'à ce que la température de 55°C ait été vérifiée pendant 30mn dans le point critique\*. Le controle et l'enregistrement de la température au coeur ont été fait par thermographe Ellab TCRA\*\* et Thermocouples Ellab TC 67, TC K2 et TCK8.

\* Point critique est celui qui subit le chauffage total le plus faible

\*\* Electric Precision Thermometer, Denmark

7) Traitements Thermiques Utilisés dans les Industries - On a fait des courbes de pénétration de la chaleur des traitements de cuisson et de fumage utilisés par l'industrie portugaise dans la fabrication des produits cités (jambon, épaule roubée, saucisson sec et chourizo). Pour cet effect on a utilisé le même équipement Ellab.

8) Valeur Lethale des Traitements Thermiques - On a calculé par la méthode de Bigelow (11) sur une table de coefficients lethaux relatifs à  $F_{140}^8$ .

#### RÉSULTATS ET DISCUSSION

1) Thermoresistance du virus - Le titrage du virus dans le surnageant du homogénéisé des viandes infectées pour l'étude de la thermoresistance etait 11 000 (UHA<sub>50</sub>) par cm<sup>3</sup>. Les résultats des traitement aux différentes températures sont présentés sur la tableau I.

TABLEAU I  
Thermoresistance du Virus de la P.P.A., souche S-60

Temps mn	55°C		56°C			57°C			58°C			59°C		
	Hemads. Tubes		Temps mn	Hemads. Tubes										
	Neg.	Pos.												
20	1	4	10	-	5	6	-	5	3	-	5	2	-	5
24	4	1	13	2	3	8	-	5	4	-	5	3	4	1
28	5	-	16	5	-	10	4	1	5	4	1	4	5	-
32	5	-	19	5	-	12	5	-	6	5	-	5	5	-

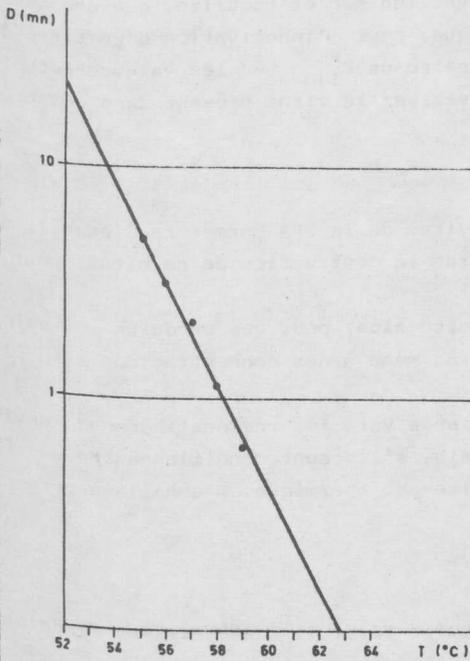


Fig. 1

Courbe d'inactivation thermique du virus de la P.P.A. (Souche S-60)

On a vérifié par ces résultats que au moins dans une série de chaque température, on trouve des tubes de  $D_{\text{he}}$  madsorption négatifs et d'autres positifs, ce qui nous permet de calculer le temps d'inactivation thermique à ces températures en employant l'équation  $D = \frac{t}{\log^a - \log^b}$  (11)

dans laquelle:  $D$  représente le temps, en minutes nécessaire pour réduire de 90% la suspension de virus infectieux;  $t$  représente la durée du chauffage dans la série des tubes;  $a$  la concentration initiale de virus;  $b$  le nombre des tubes avec hémadsorption positive dans la série. Le  $D$  obtenue pour les températures étudiées ont été:

$D_{55} = 5$ ;  $D_{56} = 3,05$ ;  $D_{57} = 2,1$ ;  $D_{58} = 1,1$ ;  $D_{59} = 0,63$ . Avec du papier semi-logarithmique, mettant en ordonnées les valeurs de  $D$  et en abscisses les températures correspondantes on a obtenu une courbe d'inactivation thermique du virus (Fig.1)

2) Valeur Lethale des Traitements Thermiques - Les valeurs lethales des traitements thermiques utilisés pour l'inactivation des virus contenus dans les viandes fraîches et produits transformés sont sur les tableaux 2 et 3. On y a vérifié que: dans les viandes fraîches avec en titre virus  $10^6$  seulement à partir d'une valeur lethale ( $F_{140}^8$ ) égal à 10 on a obtenu des résultats négatifs et par conséquent l'inactivation du virus existant; dans les produits transformés avec en titre situé entre  $10^5$

et  $10^6$  on a obtenu l'inactivation du virus à partir d'une valeur lethale de 5,4. Considerant que, d'après la courbe d'inactivation thermique déterminé pour ce virus (Fig.1), le temps de reduction décimale à  $140^\circ\text{F}$  est de 0,4 mn, pour détruire par la chaleur le virus contenu dans un produit avec une titre de  $10^6/\text{g}$  il sera nécessaire un traitement thermique avec une valeur lethale plus ou moins 2,4 (6D). Cependant, les tableaux 2 et 3 montrent que la destruction ne s'est vérifié qu'a des valeurs lethales très supérieures. Ce phénomènes pourrait être expliqué par l'existence, dans les viandes vermiques de facteurs de protection du virus que aurait été détruits par la technique de préparation de la suspension du virus employée dans l'étude des temps d'inactivation thermique.

TABLEAU II

Inactivation du virus-vian  
des fraiches

Temperat. de regime	$F_{140}^8$	Hemads.
$57^\circ\text{C}$	7,690	Pos.
$57^\circ\text{C}$	9,390	"
$57^\circ\text{C}$	10	Neg.
$58^\circ\text{C}$	10,185	"
$58^\circ\text{C}$	10,265	"
$58^\circ\text{C}$	10,355	"
$58^\circ\text{C}$	11,515	"

TABLEAU III

Inactivation do virus-pro  
duits fabriqués

Produits	Temperat. de regime	$F_{140}^8$	Hemads.
Chourizo	$55/58^\circ\text{C}$	5,6	Neg.
Epaule roulée	"	5,4	"
Saucisson sec	"	5,5	"
Jambon	"	5,8	"

TABLEAU IV

Traitement Thermique-Indus  
trie-valeurs lethales

Produits	Temperat. de regime	$F_{140}^8$
Chourizo	$68^\circ\text{C}$	843
Epaule roulé	$67^\circ\text{C}$	476
Saucisson sec	$65^\circ\text{C}$	202
Jambon	$65,5^\circ\text{C}$	701

Les valeurs lethales des traitements thermiques employés couramment par l'industrie portugaise dans la production de jambon cuit, épaule roulée, saucisson sec et chourizo, que nous avons calculé, sont présentées sur le tableau 4. Considérant que, pour l'inactivation d'un titre de virus de  $10^6/g$  dans les produits étudiés, il est nécessaire un  $F_{140}^8 = 6$ , les valeurs lethales contenues dans le tableau 4 seraient assez pour inactiver le virus présent dans ces produits à une concentration beaucoup plus élevée.

## CONCLUSION

La connaissance des paramètres de thermorésistance du virus de la PPA permettra d'établir des barèmes de traitements thermiques sûrs en ce qui concerne la destruction de ce virus, pour les produits de charcuterie cuite ou fumés à chaud.

Les traitements thermiques employés, par l'industrie portugaise, pour ces produits a une valeur lethale supérieure à la nécessaire pour détruire ce virus même à des concentrations très élevées.

La commercialisation de ces produits des régions contaminées vers les régions indemnes deviendra possible, sans risques de propagation de la maladie, s'ils sont conditionnés de manière à être protégés d'une contamination postérieure au traitement thermique. L'emballage sera ensuite désinfecté.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - DE KOCH, G., ROBINSON, E.M., and KEPPEL, J.J.G. - Swine fever in South Africa. "Onderstepoort J. Vet. Sci." 14, 31-93, 1940.
- 2 - CARNERO, R, LUCAS, A., et LARENAUDIE, B. - Peste porcine africaine: sensibilité du virus à différents agents physico-chimiques. "Réc. Méd. Med., Alfort", 144, 457-462, 1968
- 3 - GEIGER, W. - "Virusschweinepest und afrikanische virussenche der schweine". Tiororzliche Hochschule, Hannover, Thèse 1937.
- 4 - MONTGOMERY, R. E. - On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony) "J. Comp. Path. and Therap.", 34, 159-191 et 243-262, 1921.
- 5 - STEYN, D.G. - East african virus discase in pigs in South Africa. "Director of Veterinary Services and Animal Industry" Eighteenth report, 99-100.
- 6 - WALKER, J. - "East african swine fever". Veterinary Faculty, University of Zurich, Thèse.
- 7 - PLOWRIGHT, W. and PARKER, J. - The stability of african swine fever virus with particular reference to heat and pH inactivation. "Archiv Fur Die Gesamte Virusforsehung", 21, 3-4, 1967.
- 8 - NEITZ, W. O. - La peste porcine africaine, "Maladies Nouvelles des Animaux", FAO n° 61, Rome, 1964.
- 9 - MALMQUIST, W.A., and Hay, D. - Haemadsorption and cytopathic effect produced by african swine fever in swine bone marrow and coat cultures. "Amer. J. Vet. Res." 21, 104-108, 1960
- 10 - REED, L.J., and MUENCH, H. - A simple method of estimating fifty percent endpoints. "Amer. J. Hyg.", 27, 493-497, 1938.
- 11 - CHEFTEL, H. et THOMAS, G. - Principes et méthodes pour l'établissement des barèmes de stérilisation des Conserves Alimentaires. Etabelts. J. J. Carnoud e Forges de Basse - Indre Bull. n°14 - Paris, 1963.