

Joubin, La vie dans les oceans. 1912.

Lenz, Der jetzige Zustand der Lehre von der Seheband und dem Sehzentrum. Berliner Fortbildungskurs für Augenärzte, 1926 S. 19.

Parinaud, La vision. Paris 1898, p. 53-65.

Landois - Rosemann, Physiologie. 22α έκδοσις, 1942, p. 697.

Nagel, Der Farbensinn der Tiere. Wiesbaden 1914.

Fuchs E., Augenheilkunde. Wien 1900, p. 532.

Schieck u. *Krückner*, Kurzes Handbuch der Ophtalmologie. Bd. II, S. 363, Berlin.

Pollak, αναφέρεται ἐν τῇ *Traité d'Ophtalmologie T. III*, p. 339, 1939.

Studnitz et Granit, αναφέρεται ἐν τῷ συγγράμματι τοῦ *Magitot*, Paris 1946, p. 324.

Ἄλεξ. Χ. Βουρνάζου.— Ἡλεκτρόλυσις ὀργανικῶν οὐσιῶν ἕως ἀνθρακος, Ἀνακάλυψις τοῦ κολλοειδοῦς ἀνθρακος*.

Ἰωάννου Πολίτου.— Πειράματα ἐπὶ τῆς ἐκφύσεως ριζῶν ἐκ τοῦ στελέχους καὶ τῶν φύλλων τῆς κριάμβης.

Σωτηρίου Σκίπη.— Περὶ τοῦ ἐν Μασσαλία συμβουλίου τῶν πνευματικῶν ἑλληνογαλλικῶν σχέσεων.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΙΣ ΠΡΟΣΕΔΡΟΥ ΜΕΛΟΥΣ

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ.— Μέθοδος παρασκευῆς ἀντιχολερικοῦ ἐμβολίου ἀκινδύνου καὶ βελτιωμένου ἀντιγονικῶς. ὑπὸ Ἑμμ. Μανουσάκη.**

Μεταξὺ ὄλων τῶν μεγάλων μέσων πρὸς τὴν ὑγίαν τοῦ ἀνθρώπου, ἐν τούτων εἶναι οἱ προφυλακτικοὶ ἐμβολιασμοί. Οἱ ἐπιστήμονες γενικῆς μορφώσεως, οἱ ἔξω τοῦ στενοῦ κύκλου τῶν εἰδικῶν, τῶν διανυόντων ζωὴν δλόκληρον εἰς τὰ ἰνστιτούτα, ὀφείλουν πάντοτε νὰ διατηροῦν τὴν θέσιν των ἐντεῦθεν τῶν συνόρων τῆς ἀρμοδιότητός των.

Διατὶ ὅμως τοῦτο;

Ἄπλούστατα διότι οἱ πειραματισμοὶ ἐκεῖθεν τῶν ὀρίων τῆς εἰδικότητος ἐκάστου ἔξ ἡμῶν δὲν ἐκθέτουν εἰς κινδύνους τὴν ὑγίαν ἑνός μόνον ἀτόμου, ἀλλὰ τοῦ λαοῦ ἐν τῷ συνόλῳ του.

Ἄτιχῶς οἱ μὴ εἰδικοὶ συγχέουν ἐνίοτε τὰ ὅρια τῆς ἀρμοδιότητός των καὶ

* Ἐδημοσιεύθη εἰς τὰς *Πραγματείας τῆς Ἀκαδημίας*, τομ. 14 (1949) ἀρ. 4.

** **EMM. MANOUSSAKIS: Sur un nouveau vaccin anticholérique.**

ὡς προϊστάμενοι ὑπηρεσιῶν λαμβάνουν ἀποφάσεις ἀνεξαρτήτους τῶν καταλλήλων εἰσηγήσεων.

Ἐναφέρομεν ὡς παράδειμα τὸ σοβαρὸν ζήτημα τὸ δημιουργηθὲν διὰ τὸν Στρατόν μας κατὰ τὸν Ἑλληνοϊταλικὸν πόλεμον. Ὄτε ἐξεργάγη οὗτος, ὁ ἐφοδιασμός μας ἔξωθεν εἰς ἐμβόλια ἦτο ἀδύνατος, διότι οἱ Βρεττανοὶ σύμμαχοί μας εἶχον καὶ αὐτοὶ τὰς ἀνάγκας των.

Τὰ ἐμβόλια λοιπὸν ἔπρεπε νὰ παρασκευασθοῦν ἐδῶ.

Αὐτὴ ὅμως ἡ λύσις, ἡ ὁποία προϋπέθετε σοβαρὰς καὶ μακροχρονίους προπαρασκευάς, ἀπὸ μακροῦ μάλιστα ὑποδειχθείσας, ἐθεωρήθη τόσον ἀπλῆ ἀπὸ τοὺς τότε ὑπευθύνους καὶ ἀντιμετωπίσθη μὲ τόσην αἰσιοδοξίαν, ὥστε ἐνομίσθη ὅτι μὲ τὴν ἔκδοσιν διαταγῆς ταχείας πολιτικῆς ἐπιστρατεύσεως τῶν εἰδικῶν, τὰ ἀναγκαῖα ἐμβόλια θὰ περιήρχοντο ἐγκαίρως εἰς τὸν ἐπιστρατευθέντα ἤδη καὶ συγκεντρωθέντα μάλιστα εἰς ἐνδημικὴν ζώνην Στρατόν μας.

Ἐν τούτοις, ὡς ἦτο ἐπόμενον, αἱ ἀποστολαὶ τῶν ἐμβολίων, παρὰς τὰς καταβληθείσας προσπαθείας, δὲν περιήλθον εἰς τὸ μέτωπον, εἰμὴ ὀλίγας ἐβδομάδας πρὸ τῆς καταρρεύσεως.

Εὐτυχῶς δὲν ἐλησμονήθη τὸ πάθημα, οὔτε ἀπέβη ἄκαρπος ἡ προσπάθεια τῶν ἐργασθέντων τότε εἰδικῶν, καὶ μὲ τὴν ἀναδιοργάνωσιν τοῦ ὁ Στρατὸς ἐνεθυμήθη τὸ παρελθὸν καὶ τὸ Κέντρον του, τὸ ὁποῖον προάγει ἔκτοτε συνεχῶς μὲ στοργὴν ἐπὶ ὑγιῶν βάσεων αὐτὴν τὴν φορὰν, ἐπ' ἀγαθῶ καὶ τῆς ὑγείας καὶ τῆς ἐπιστημονικῆς ἀνεξαρτησίας τοῦ Στρατεύματος.

Παρακαλῶ, διὰ νὰ μὴ πέσῃ καὶ πάλιν ἡ χώρα μας θῦμα ἀναλόγου ἐλλείψεως προβλέψεων, νὰ μεταφερθῇ τὸ ἴδιον πρόβλημα καλύψεως ἀναγκῶν εἰς ἐμβόλια, εἰς τὴν σημερινὴν περίπτωσιν ἐκδηλώσεως ἐπιδημίας χολέρας ἐγγὺς ἡμῶν, καθ' ἣν ἀντιμετωπίζεται ὄχι πλέον ἢ παρασκευὴ 200-400.000 δόσεων ἐμβολίων, ἀλλὰ πολλῶν ἑκατομμυρίων τοιούτων.

Ὅπως συμβάλλωμεν εἰς τὴν ἐμπεριστατωμένην ἐκτίμησιν τοῦ προβλήματος τούτου ἀκριβῶς καὶ τὴν γνῶσιν ὅλων τῶν στοιχείων ἐπιτυχοῦς αὐτοῦ λύσεως, ἐσκέφθημεν νὰ ἀνακοινώσωμεν τὸ συντομώτερον τὰς σχετικὰς προτάσεις μας.

Ἀρχόμεθα ἀπὸ μιᾶς γενικῆς παρατηρήσεως.

Πιστεύεται εὐρῶς, ὅτι ἀρκεῖ νὰ σταθεροποιήσωμεν μίαν τεχνικὴν βιομηχανικῆς παραγωγῆς ἐμβολίων, νὰ δημιουργήσωμεν δηλαδὴ τὰς αὐτὰς συνθήκας καλλιεργητικῶν μέσων, ἐπφάσεως, συγκομιδῆς, ἀδρανοποιήσεως ἔκπ., διὰ νὰ ἐπιτυγάνωμεν πάντοτε σταθερὰς ἀξίας ἐμβόλια.

Ἡ σχετικὴ μου πεῖρα ἀπὸ τὴν ἐμβολιοπαρασκευὴν εἰς τὸν τυφοειδῆ καὶ τὴν δυσεντερίαν, μὲ ἐδίδαξεν ὅτι ἡ ἀντίληψις αὕτη εἶναι ἐσφαλμένη καὶ ὅτι μία

παραγωγή δὲν ὁμοιάζει πάντοτε μὲ τὴν ἄλλην, ὁσηδήποτε καὶ ἂν καταβληθῆ ἢ προσπάθεια πραγματοποιήσεως τῶν αὐτῶν συνθηκῶν παρασκευῆς.

Ἐπάρχουν πολλοὶ παράγοντες σοβαρώτεροι ἐκείνων διὰ τοὺς ὁποίους ἔχομεν τὰ μέσα νὰ τοὺς σταθμίσωμεν, οἱ ὅποιοι ἐξασκοῦν μεγίστην ἐπίδρασιν ἐπὶ τῆς βιολογίας τοῦ μικροβίου, μία ἀπὸ τὰς ἐκδηλώσεις τῆς ὁποίας εἶναι τὸ νὰ προκαλῆ τοῦτο ἀνοσίαν.

Διὰ τοῦτο ἔχομεν τὴν ὑποχρέωσιν νὰ ἐλέγχωμεν ἐξονυχιστικῶς κάθε παραγωγήν μας πρὸ πάσης διαθέσεώς της, οὕτω δὲ ἐνεργοῦμεν ἡμεῖς εἰς τὸ Κέντρον Ἐμβολιοπαρασκευῆς τοῦ Στρατοῦ, παρ' ὅλον ὅτι ἡ ἀγωγή αὕτη ἐπιβραδύνει τὴν διάθεσιν τῶν ἐμβολίων καὶ πολλαπλασιάζει τὰς ἀνάγκας, ἰδίᾳ εἰς εἰδικούς ἰατρούς.

Πιστοὶ εἰς τὴν ἀρχὴν ταύτην, παρηκολουθήσαμεν τὰ τελευταίως τεθέντα ἐν χρήσει ἀντιχολερικά ἐμβόλια, κατὰ τὴν διενέργειαν τῶν ὁποίων παρετηρήθησαν τὰ ἐξῆς ἀπροσδόκητα συμβάμματα, ἀκριβῶς διότι πολλὰ εἶναι εἰσέτι τὰ ἀστάθμητα τῆς ἐμβολιοπαρασκευῆς.

1. Προεκάλεσαν ἐνίοτε ἀσυνήθη φαινόμενα δυσανοχῆς, ὡς ἐμμέτους, διάρροϊαν καὶ ὑψηλὸν πυρετόν.

Φοβούμεθα ὅτι ἂν συνεχισθῆ ἡ διάθεσις τοιούτων ἐμβολίων, τὸ κοινὸν θὰ διαστάσῃ πολὺ νὰ δεχθῆ τὸν γενικὸν ἐμβολιασμόν, ἐὰν ποτε παραστῆ ἀνάγκη ἐφαρμογῆς τοιούτου.

Δεύτερον καὶ σοβαρώτερον, ὁ γενόμενος ἔλεγχος εἰς τὸ Κέντρον Ἐρευνῶν διεπίστωσεν ὅτι οἱ ἐμβολιασθέντες δις ἢ τρις στρατιῶται, δὲν παρουσίασαν συγκολλητίνας εἰς τὸν ὄρρον των, εἰμὴ εἰς σπανίας περιπτώσεις.

Ἡ ἀπουσία τῶν ἀντισωμάτων αὐτῶν εἰς τὸ αἷμα, ἂν καὶ δὲν ἀποτελεῖ ἀπόδειξιν ἀνεργείας τοῦ ἐμβολίου, εἶναι ἐν πάσῃ περιπτώσει τεκμήριον σοβαρᾶς ἀτελείας του, κατ' ἐπικρατήσασαν δὲ ἀρχὴν τὰ τοιαῦτα ἐμβόλια δὲν εἶναι φρόνιμον νὰ τίθενται ἐν κυκλοφορίᾳ.

Αἱ ἀναφερθεῖσαι παρατηρήσεις δὲν ἔχουν θέσιν σχολίων ἢ ἐπικρίσεων. Μόνον οἱ ἐκτὸς τοῦ ζητήματος δύνανται νὰ ὑποπέσουν εἰς ἀναλόγους ἐκτιμήσεις. Ἡμεῖς ἀντιθέτως ἀποβλέπομεν ἀπλῶς, νὰ συμβάλωμεν εἰς τὴν ἐπιτυχίαν βελτιωμένης λύσεως ἐνὸς τόσο σοβαροῦ ζητήματος τῆς δημοσίας ὑγείας.

Ἐρχόμεθα λοιπὸν ἀμέσως εἰς τὰς βελτιώσεις, ἃς ἔχομεν νὰ προτείνωμεν.

Αὗται ἀνάγονται: 1) Εἰς τὴν χρῆσιν τοῦ ἐπιδεικνυομένου καταιωνητῆρος εἰδικοῦ διὰ τὰς σποράς, καὶ εἰς τὴν ἀντικατάστασιν τοῦ συνήθους πωματισμοῦ τῶν δοχείων καλλιεργείας διὰ πάματος φέροντος στενὸν σωλῆνα διὰ τὴν σποράν.

Μὲ τὴν ἀπλουστάτην ταύτην λύσιν, ἀπηλλάγημεν ἀπὸ τὰς ἐπιμολύνσεις τῶν καλλιεργημάτων ὑπὸ σαπροφύτων τοῦ ἀέρος, τὰς ἀπωλείας συγκομιδῆς ἃς συνε-

πήγοντο, και ὅπερ σπουδαιότερον, ἀποφεύγομεν τὴν μείωσιν τῆς ἀντιγονικῆς ἀξίας τῶν ἐμβολίων, ἣν προεκάλουν, εἰς βαθμὸν μάλιστα δυσαναλόγως ἔντονον και ὅταν εἰσέτι ἦτο ἀσθενεστάτη ἢ ἐπιμόλυνσις.

Ἡ δευτέρα πρότασίς μας ἀφορᾷ εἰς τὸ εἶδος καλλιεργείων, αἵτινες πρέπει νὰ προτιμῶνται.

Τὸ χολερικὸν καλλιέργημα ἔχει τοξίνας παθογονικῶς ὁμοιοτρόπους μετὰ τὰς δυσεντερικὰς, τὰς ὁποίας εἶχον μελετήσῃ ἄλλοτε πολὺ καλά. Εἶναι δηλαδὴ τοξίνοι ἐντεροτρόποι και νευροτρόποι συνάμα ¹.

Ἀπὸ τὴν ἔρευνάν των εἶχον διδαχθῆ, ὅτι διὰ τὴν ἐπιτυχίαν καλοῦ ἀντιδυσεντερικοῦ ἐμβολίου, ἀπαιτεῖται νὰ ἀναχωροῦμεν μεν ἀπὸ συγκομιδὴν μετὰ ὑψηλὸν φόντον εἰς τοξικὰς μονάδας, ἀλλά, ὅταν πρόκειται νὰ χρησιμοποιηθῆ τὸ ἐμβόλιον, δὲν ἐπιτρέπεται νὰ ἔχη τοῦτο οὐδὲ τὴν ἐλαχίστην ὑπολειμματικὴν τοξικότητα, διότι ἄλλως εἶναι τελείως ἀνενεργές.

Ὅθεν πρὸς ἐπιτυχίαν τοιαύτης συγκομιδῆς και ἐπὶ χολέρας, τὰ συνήθως ἐν χρήσει καλλιεργήματα 2-3 ἡμερῶν δὲν εἶναι τὰ καταλληλότερα.

Ἡμεῖς προκρίνομεν καλλιεργήματα 8-12 ἡμερῶν και δὴ προτείνομεν νὰ παρατείνεται ἢ ἐπ' αἰσὶς των ἐπὶ ὅσον χρόνον εἶναι ἀναγκαῖον, ἵνα τὸ μικρόβιον ἀναπτύξῃ εἰς τὸ ἔπακρον τὴν γνωστὴν χρωμογόνον του ιδιότητα. Τὴν ἐκδήλωσιν δὲ τῆς ιδιότητος ταύτης θεωροῦμεν ὡς μὴ ἀμελητέον μάρτυρα καλῆς ἀντιγονικῆς ἀξίας.

Τοῦτο δὲ ἀκριβῶς εἶναι τὸ νέον μας ΤΕΣΤ ἐκτιμῆσεως τῶν χολερικῶν καλλιεργημάτων ἀπὸ ἀντιγονικῆς ἀπόψεως.

Τὰ τοιαῦτα καλλιεργήματα εἶναι ἐπιπροσθέτως τριπλασίας τοῦλάχιστον περιεκτικότητος εἰς μικροοργανισμούς, τουτ' ὅπερ ἐπαυξάνει ἀντιστοίχως τὴν ἀπόδοσιν εἰς ἐμβόλια ἐνὸς Κέντρου παραγωγῆς και διευκολύνει σπουδαίως τὴν λύσιν τοῦ προβλήματος καλύψεως τῶν ἀναγκῶν μιᾶς χώρας.

Διὰ νὰ ἔχωμεν δὲ ἔτι μᾶλλον ἐπιυξημένας και τὰς δύο ταύτας ἀποδόσεις, ἦτοι ὑψηλὴν ἀντιγονικὴν ἀξίαν και πλουσίαν συγκομιδὴν, ἐνεργοῦμεν **πρῶτον** τὴν σπορὰν εἰς τὰς φιάλας Ρουῆς (Roux) ἐκ 15-20 κ.ἔ. καλλιεργήματος δονακίου εἰς ζωμὸν ἀραιωμένον τρίς, ὥστε ἅπασα ἢ ἐπιφάνεια τοῦ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ μέσου νὰ ἐπικαλύπτεται διὰ λεπτῆς στιβάδος ζωμοῦ.

Δεύτερον δὲ και σπουδαιότερον ἐκτελοῦμεν τὴν τελικὴν αἰώρησιν τῆς συγ-

¹ Μετὰ εἰδικωτέραν ἐπίδρασιν ἐπὶ τοῦ φυτικοῦ ἰδίου συστήματος, εἰς τοῦ ὁποίου τὴν προσβολὴν ἀποδίδωμεν ὅλα τὰ βαρῆα φαινόμενα τῆς χολέρας (ἀφυδάτωσιν, ἀποπλασματώσιν, collapsus κτλ.).

κομιδῆς ὄχι εἰς ἀπλοῦν φυσιολογικὸν ὄρρον, ὡς συνήθως ἐγένετο μέχρι σήμερον, ἀλλὰ εἰς φυσιολογικὸν ὄρρον εἰς τὸν ὁποῖον προεκαλλιεργήσαμεν τὸ δονάκιον τῆς χολέρας, διότι καθ' ἃ εἴχομεν παρατηρήσει τὸ μικρόβιον τοῦτο λαμβάνει εἰς τὸν ἀπλοῦν φυσιολογικὸν ὄρρον οὐχὶ ἀμελητέαν ἀνάπτυξιν, ἐὰν προστεθῆ εἰς αὐτὸν μικρά τις ποσότης ζωμοῦ. Ἡ τροποποιήσις αὕτη πενταπλασιάζει τοῦλάχιστον τὴν παραγωγὴν. Μὲ ὅλας δὲ τὰς ἐκτεθείσας διαδοχικὰς βελτιώσεις ἠψύξισαμεν τὴν ἀπόδοσιν τοῦ εἰδικοῦ τμήματος τοῦ ὑφ' ἡμᾶς Κέντρου ἔρευνῶν, ἀπὸ 20.000 κ.έ. εἰς 160.000 κ.έ. ἑβδομαδιαίως.

Ἡ τελευταία βελτιώσις ἦν προετεινάμεν, καὶ ἦτις ἀφορᾷ ὄχι πλέον εἰς τὴν ἐπιτυχῆ λύσιν τοῦ προβλήματος ἐγκαίρου καλύψεως τῶν ἀναγκῶν τῆς χώρας, ἀλλὰ εἰδικώτερον εἰς τὸ πρόβλημα τῆς ποιοτικῆς ἀξίας τοῦ ἐμβολίου, εἶναι ἡ μέθοδος ἀνενεργοποιήσεως τῶν καλλιεργημάτων. Ὁ συνήθης τρόπος ἀνενεργοποιήσεως διὰ θερμάνσεως, κρίνεται λίαν ἀνεπαρκῆς ἰδίᾳ εἰς συγκομιδὰς αἱ ὁποῖαι, ὕπως καὶ αἱ εἰδικαί μας, ἔχουν πλήρη φόρτον εἰς τοξικὰς μονάδας.

Ἄντ' αὐτῆς προτεινομένην τὴν συνδεδυασμένην ἐπενέργειαν θερμάνσεως καὶ φορμόλης, ἦτις ἔδωσε τόσον καλὰ ἀποτελέσματα εἰς ἄλλους τομεῖς τῆς ἐμβολιο-παρασκευῆς, μετὰ τὰς λαμπρὰς περὶ ἀνατοξινῶν ἐργασίας τοῦ Ramon.

Πρὸς τοῦτο, πρὶν γίνῃ ἡ συγκομιδὴ τοῦ καλλιεργήματος ἐκ τοῦ κυτίου Roux ἢ ἡ ἀνάληψις ἐκ τοῦ σπαρέντος διὰ χολέρας φυσιολογικοῦ ὄρρου, ἐγγέομεν φορμόλην, διὰ τοῦ ἐπιδειχθέντος καταϊωνητῆρος, εἰς ἀναλογίαν 4‰ εἰς τὰ Roux καὶ 2‰ εἰς τὸν ὄρρον καὶ ἡ τελικὴ συγκομιδὴ ἀναλαμβάνεται μετὰ 48 ὥρας, καθ' ἃς τὰ Roux καὶ τ' ἄλλα δοχεῖα καλλιεργείας τίθενται εἰς θερμοκρασίαν 44°-46° K.

Τῇ ἐπενεργείᾳ τῆς φορμόλης καὶ τῆς θερμοκρασίας ταύτης ἀδρανοποιοῦνται, ὡς διεπιστώσαμεν, αἱ ἐλεύθεραι ἐνδοτοξίνοι καὶ μονιμοποιεῖται τὸ δονάκιον, προστατευόμενον δὲ ἐφεξῆς ἐκ τῆς αὐτολύσεως, δὲν ἐλευθερώνει πλέον τὴν ἐνδοτοξίνην του, καὶ οὕτω ἀποφεύγεται ὁ κίνδυνος μετατροπῆς ἀτοξικοῦ ἐμβολίου εἰς τοξικὸν τοιοῦτον, μετατροπῆς δυνατῆς πάντοτε ἐπὶ ἐμβολίων Stoques.

Αἱ γινόμενοι δοκιμαὶ διὰ τῶν οὕτω πως παρασκευαζομένων ἐμβολίων τοῦ Κέντρου Ἐρευνῶν τοῦ Στρατοῦ ἐπὶ νεαρῶν κονίκλων ἀπέδειξαν, ὅτι εἶναι τελείως ἀκίνδυνος δόσις 600πλάσια ἐκείνης, ἣν ἐνεργοῦμεν συνήθως εἰς τὸν ἄνθρωπον, τὰ ἐμβόλια δηλαδὴ ἔχουν περιθώριον ἀσφαλείας μέγιστον.

Στρατιωτικὸν προσωπικὸν ἐμβολιασθὲν ἐξ ἄλλου δι' αὐτῶν ἠνέχθη, ὡς ἀνεμένετο, τὰς ἐνέσεις ἄνευ ἀξιολόγου τοπικῆς ἢ γενικῆς ἀντιδράσεως καί, ὅπερ σπουδαιότερον, εἰς τὸ αἷμα τῶν ἐμβολιασθέντων ἀνευρέθησαν αἱ εἰδικαὶ συγκολλητί-ναι πέντε μόνον ἡμέρας μετὰ τὴν δευτέραν ἔνεσιν.

R É S U M É

L'auteur après avoir insisté que le Centre de Recherches et de Vaccination de l'armée constitue une institution d'importance primordiale pour le maintien de la santé de l'armée et de son indépendance scientifique, il expose les progrès réalisés dans ce centre pour la solution du problème urgent de la préparation des vaccins anticholériques. L'auteur propose à ce sujet :

1. D'employer un distributeur spécial pour les ensemencements qui quoique très simple préserve les cultures des souillures accidentelles, cause si fréquente des pertes et qui assure en plus la sécurité des travailleurs.

2. D'utiliser de préférence les cultures âgées de 8 à 12 jours très riches en bactéries. Il conseille à ce propos de prolonger la mise en étuve jusqu'à ce que la fonction chromogène de la bactérie ait pris tout son développement considérant ce test comme une indice significative de la qualité antigène d'un récolte.

3. D'emulsionner les récoltes dans le sérum physiologique ajouté d'un peu de bouillon et ensemencée lui-même dix jours auparavant avec des vibrions.

4. D'utiliser pour tuer les cultures l'action combinée de la chaleur (46° pendant 2 jours) et du formol 8⁰/₀₀ qui neutralise les endotoxines et préserve les cultures de l'autolyse ultérieure. Grâce à ces améliorations le rendement du centre en vaccins a décuplé et les vaccins obtenus ont un pouvoir antigène renforcé tout en étant atoxiques.