

## La Peste Equine<sup>(1)</sup>

par

A. RAFYI

La peste équine, appelée aussi «African Horse Sickness», est une maladie épizootique, infectieuse, aiguë ou subaiguë, des équidés due à un virus filtrable qui se caractérise par de la fièvre, un œdème du tissu conjonctif sous-cutané et des poumons et de l'hémorragie des organes internes. Elle est très probablement transmise par des insectes appartenant au genre *Culicoides*.

### *Distribution géographique.*

Elle est plus particulièrement répandue au sud, à l'est et au centre de l'Afrique. La maladie s'est étendue parfois vers le Nil et la Mer Rouge, l'Arabie du Sud, l'Égypte et, enfin, tout récemment au Proche-Orient.

La peste équine, plus manifeste pendant la saison chaude et pluvieuse, cesse quelques jours après les premières gelées.

En Afrique du Sud, on admet que les heures les plus favorables pour que les chevaux soient infectés sont entre le coucher et le lever du soleil.

### *Historique.*

La maladie est connue en Afrique du Sud depuis un siècle et des épizooties graves ont été enregistrées à plusieurs reprises. La peste équine a été confondue au début avec d'autres maladies, notamment le charbon, la nuttalirose et même le paludisme humain.

Mc Fadyean, en 1900, et Theiler, Nocard et Sieber, en 1901, ont montré la filtrabilité du virus, agent causal de la maladie.

---

1- Off. Int. Epiz.- Rapport à la XXIX<sup>e</sup> Session (1961 ; R. No 587)

### *Agent causal.*

La peste équine est due à un virus filtrable. Le virus existe dans le sang, le sérum sanguin, les exsudats des divers organes, ainsi que dans les organes internes.

Le virus est assez résistant à la putréfaction, ainsi qu'à la température ordinaire; il est infectant pour le cheval, le mulet, l'âne et le chien; la chèvre peut être infectée expérimentalement.

Le virus naturel isolé du sang des chevaux naturellement infectés, appelé par Alexander et coll. virus viscérotrope, a été adapté par Alexander et Nieschulz, à la suite de passages successifs sur cerveau de souris, et appelé alors par ces Auteurs virus neurotrope.

Les passages successifs sur cerveau de souris ont abouti à l'atténuation du virus pour le cheval, tout en lui gardant son caractère antigénique.

De même, Alexander a effectué avec succès le passage du virus neurotrope sur l'embryon de poulet; le virus qui se multiplie dans le cerveau de l'embryon garde son caractère neurotrope et ne provoque pas la mort de l'embryon. Ce même Auteur a réussi à cultiver aussi le virus pantrope sur l'embryon de poulet; il tue au début, mais s'atténue à la suite des passages successifs.

### *Pluralité des souches.*

Dès 1905, Theiler a eu le mérite de découvrir la pluralité des souches de peste équine; il a montré que ces virus ne peuvent pas conférer l'immunité vis-à-vis l'un de l'autre. En 1935, Alexander et Du Toit confirment ces observations et montrent la différence dans la structure antigénique.

Alexander a utilisé plus tard, en collaboration avec Mason, le sérum anti provenant des chevaux hyperimmunisés, pour le typage des différentes souches du virus de la peste équine, en utilisant la méthode de la neutralisation sur souris; étude fructueuse, qui a mené l'Auteur à incorporer les souches convenables pour préparer le vaccin polyvalent.

En 1955, le sérum des lapins hyperimmunisés a été recommandé dans ce but par Mc Intosh. Cet Auteur, grâce à cette méthode, a pu identifier plus de 42 souches de la peste équine adaptées aux souris. Ainsi, il a conclu que toutes les souches du virus peuvent être groupées dans sept types immunologiques.

### *Réceptivité des animaux.*

La peste équine attaque en premier lieu les chevaux et cause une

mortalité élevée chez eux; la maladie prend une allure aiguë et grave et, dans certaines épizooties, 90 p. 100 des chevaux peuvent succomber.

La susceptibilité des chevaux dépend de la virulence des souches et de la résistance ou sensibilité naturelle de ces animaux. D'après Theiler (1930), les poulains sont plus sensibles que les chevaux âgés.

Alexander et Mason (1941) ont montré que les poulains à la naissance issus d'une jument immune sont dépourvus d'anticorps, mais 30 heures après la naissance, après ingestion du colostrum, la teneur en anticorps augmente considérablement, toutefois cette immunité passive diminue au fur et à mesure et disparaît au bout de 5-6 mois.

Il paraît que les mulets sont moins susceptibles que les chevaux. En Afrique du Sud, les signes cliniques sont rares chez les ânes, mais Alexander, en 1948, se référant à l'épizootie de 1944 qui a sévi au Moyen-Orient, cite 4 p. 100 des ânes morts à la suite de cette maladie. Il est probable que la sensibilité de ces animaux diffère d'une race à l'autre.

On a cité des cas de peste équine chez les chiens nourris avec de la viande des chevaux malades (Bevan, 1911; Pierey, 1951). Cet animal est réceptif à la maladie à la suite des inoculations expérimentales (Theiler, 1906, 1910).

L'injection du virus à des chèvres produit une réaction fébrile, mais on n'arrive pas à effectuer des passages en série chez cette espèce (Theiler, 1930).

La souris est l'animal de choix pour l'expérimentation avec le virus de la peste équine (Nieschulz, 1932-1933; Alexander, 1933-1935-1936).

Ce dernier Auteur a montré que l'inoculation intracérébrale du virus à la souris provoque une haute concentration du virus dans le cerveau; cette concentration est de 10 à 100 fois plus grande que ce qu'on obtient dans le cerveau du cobaye.

Ainsi, le passage intracérébral du virus viscérotrope change de caractère et devient complètement neurotrope.

Cette méthode est et reste, à l'heure actuelle, la méthode la plus sûre et la meilleure pour assurer l'infection chez la souris et se procurer une quantité considérable du virus.

### *Transmission.*

Il a été démontré que la peste équine n'est pas transmise directement d'un cheval malade à un cheval sain, tant qu'il est mis à l'abri des arthropodes piqueurs.

La maladie est transmissible par injection de matériel contenant du

virus; la voie intraveineuse est beaucoup plus recommandée.

D'après les observations de Pitchford et Theiler, en 1903, et de Du Toit, en 1944, le rôle des insectes piqueurs nocturnes est essentiel dans la transmission de la maladie.

On a suspecté plusieurs insectes piqueurs: Anophèles (Pitchford, 1903), *Stomoxys calcitrans* (Schuberg et Kuhn, 1912), *Lyperosia minuta* (Williams, 1913), tiques, diptères divers comme *Culicoides* et *Tabanus* (Van Saceghem, 1918), quelques espèces de Culicinae (*Ochlerolatus*) (Theiler, 1921-1930); ce dernier Auteur a même suggéré que l'infection peut passer des femelles adultes par l'intermédiaire de ses œufs à la génération suivante.

C'est R. Du Toit qui, en 1944, a montré par la voie expérimentale que la transmission de la peste équine, ainsi que celle du virus de la blue tongue peut être effectuée par quelques espèces de *Culicoides*.

Il reste néanmoins quelques points obscurs à ce sujet, que les expériences ultérieures peuvent élucider.

#### *Réservoir du virus.*

D'après Theiler (1921), les chevaux guéris de la peste équine peuvent agir comme réservoirs d'infection pendant 90 jours. Il semble que dans les Pays où la peste équine existe à l'état permanent, le virus est maintenu pendant l'hiver chez quelques hôtes qui peuvent jouer le rôle de réservoirs.

Les expériences, quoique limitées, en vue de trouver les réservoirs du virus en dehors du corps des solipèdes n'ont pas abouti à un résultat positif jusqu'à ce jour.

Il est admis, dans les régions où la maladie s'introduit accidentellement, que la contagion s'effectue parmi les chevaux sensibles à la suite des piqûres des *Culoïdes*.

#### *Symptômes.*

On distingue (Theiler, 1921. 1930) quatre formes différentes au point de vue clinique :

- a) la forme fébrile;
- b) la forme pulmonaire;
- c) la forme cardiaque;
- d) la forme mixte.

La période d'incubation est de 5 à 7 jours. Expérimentalement, cette période peut varier de 2 à 21 jours.

La fièvre intermittente s'observe dans chacune des quatre formes

susmentionnées. Elle dure de 3 à 7 jours.

a) *Forme fébrile ou forme bénigne.* — Après une période d'incubation de 5 à 7 jours, la température s'élève graduellement et atteint son maximum (41° C) au bout de 2 à 3 jours; la température reste élevée pendant 1-2 jours, puis elle descend et devient normale dans les jours suivants. Quelques chevaux peuvent montrer de l'inappétence, de la conjonctivite, de l'accélération de la respiration et des pulsations. Cette forme de la maladie peut s'observer à la suite de la vaccination avec le vaccin vivant ou même, à la suite d'inoculation expérimentale, chez quelques races d'ânes et de chèvres.

b) *Forme pulmonaire ou forme suraiguë.* — La forme pulmonaire, appelée en Afrique « Dunkop » (tête mince), est la forme la plus grave. La maladie se voit soit à la suite d'une inoculation expérimentale d'un virus très virulent, soit dans les épizooties sévères ou chez les animaux excessivement sensibles.

Il y a une période d'incubation de 2 à 5 jours, puis la température monte assez rapidement; dès le deuxième jour, la respiration devient pénible, les naseaux largement ouverts, la tête et le cou étendus, la respiration est accélérée, la dyspnée et une toux sèche, douloureuse, apparaissent. A ce moment, le jetage apparaît et augmente au fur et à mesure que la toux devient plus fréquente. Au début, l'appétit est conservé.

Au fur et à mesure que la respiration s'accélère, la bouche reste ouverte, la langue est rejetée à l'extérieur.

La présence de jetage jaunâtre, qui est le sérum exsudé des vaisseaux du poumon, est la raison de la suffocation, à la suite d'un blocage des alvéoles pulmonaires.

L'animal, à ce moment, se débat violemment et la mort survient.

Quelquefois, chez les chevaux ou les mulets qui paraissent être en bon état, tout à coup, pendant le travail, l'animal devient paresseux et une dyspnée aiguë survient et cause la mort de l'animal en quelques heures.

La guérison, dans cette forme de la maladie, est rare, mais s'observe quelquefois.

c) *Forme cardiaque.* — Cette forme œdémateuse appelée « Dikkop » (tête grosse) est la forme aiguë ou subaiguë de la maladie, caractérisée par un œdème très remarquable de la tête et du cou, qui peut s'étendre au corps entier. Il y a toujours un grave désordre cardiaque.

La période d'incubation, variable d'après la virulence du virus est de 5-7 jours; quelquefois, les signes sont perceptibles seulement après 21-30 jours d'incubation. Cette forme de la maladie est souvent observée dans les épizooties à allure moins grave.

La fièvre apparaît et atteint son maximum dans les jours suivants.

Au cours de la fièvre, vers le 10-12<sup>e</sup> jour, parfois avant, l'œdème caractéristique local apparaît. On voit d'abord une infiltration et de l'œdème de la fosse temporale (dépression située immédiatement derrière et au-dessus des yeux) des deux côtés de la tête; cet œdème peut disparaître au bout de 1 à 2 jours, mais souvent l'œdème augmente de volume et dure de 7 à 10 jours; En même temps, l'œdème descend vers les yeux (parfois les paupières sont fermées) et peut descendre jusqu'aux joues, à la langue et à l'espace intermaxillaire, parfois vers le cou et le thorax.

Quand la guérison survient, l'œdème disparaît dans l'ordre de son apparition. A la palpation, l'œdème est indolore et n'est pas plus chaud que le reste du corps. Les muqueuses visibles sont congestionnées.

Pendant ce temps, le cœur est aussi affecté; quand la fièvre a atteint son acmé, le pouls est dur et rapide, parfois il est imperceptible. La respiration légèrement accélérée.

Dans les cas bénins, les animaux restent debout, mais, par contre, les chevaux gravement atteints tombent et restent couchés.

Parfois, des signes rappelant les coliques se voient chez les chevaux.

d) *Forme mixte.* — Dans cette forme de la maladie, on trouve superposés les symptômes des formes précédentes. Elle est rarement observée du vivant des animaux; c'est plutôt après la mort et à la suite de l'autopsie qu'on trouve des lésions pulmonaires et cardiaques.

En règle générale, les signes pulmonaires apparaissent en premier; plus tard, c'est l'œdème local qui se manifeste, parfois c'est l'inverse et les symptômes de Dikkop apparaissent en premier, suivis du jetage et des signes divers qui aboutissent à la mort de l'animal.

#### *Pronostic*

La mortalité est variable et dépend des conditions diverses. Parfois elle atteint 90 à 95 p. 100 chez les animaux. Dans les épizooties légères, la mortalité est de l'ordre de 10 à 25 p. 100. Comme complication, à part la paralysie de l'œsophage, qui est fréquente dans certaines formes de la maladie (Dikkop), la nuttalirose s'observe aussi fréquemment au cours de la maladie dans certaines régions.

#### *Anatomie pathologique.*

Dans la forme pulmonaire, on note l'œdème des poumons et l'hydrothorax. Le liquide, dans la cavité pleurale, peut atteindre quelques litres. On note de l'infiltration œdémateuse, gélatineuse, dans les tissus interlobu-

lares, à la base du cœur et de la plèvre.

A la section des poumons, un liquide jaunâtre spumeux sourd du tissu pulmonaire. On dirait que l'animal est noyé dans son propre exsudat. Les ganglions bronchiques et médiastinaux sont tuméfiés et succulents.

On peut trouver quelques points hémorragiques sur le péricarde; la quantité du liquide péricardique dépasse rarement la normale.

Dans la forme cardiaque, les lésions dominantes sont l'infiltration œdémateuse du tissu conjonctif sous-cutané et intermusculaire et parfois des ganglions lymphatiques.

L'œdème est apparent au niveau de la tête et du cou; parfois, dans des formes graves, il s'étend jusqu'au thorax et aux épaules.

L'œdème, parfois, est si intense, que la région céphalique est déformée.

Les paupières, les fosses temporales, les lèvres, l'espace intermaxillaire sont affectés. La langue est parfois tuméfiée et devient bleuâtre.

On note souvent une augmentation du liquide péricardique et la quantité du liquide atteint jusqu'à 2 litres.

On trouve des zones rouges diffuses sur l'épicarde et des points hémorragiques sur l'endocarde. Le myocarde est dégénéré.

Les poumons sont normaux ou légèrement œdématisés.

#### *Diagnostic.*

Dans les Pays où la peste équine est à l'état enzoo-épizootique, la maladie peut être soupçonnée pendant la saison chaude, à la suite d'examen clinique et *post mortem*.

L'œdème des fosses temporales est caractéristique de la forme dite « Dikkop ». La nuttaliose peut créer des erreurs, mais on peut l'éliminer par l'examen de laboratoire, l'action thérapeutique favorable de certains produits chimiques, etc. . .

Dans les Pays indemnes, la maladie ne peut être diagnostiquée que par les procédés de laboratoire, ayant recours à des inoculations du matériel suspect (notamment le sang qu'on aurait pris pendant que la fièvre serait élevée) dans le cerveau de la souris. La fixation du complément (Mc Intosh, 1956) a sa valeur dans le diagnostic de la peste équine.

#### *Immunité naturelle.*

Les chevaux guéris de l'infection naturelle sont immuns à l'égard du virus en cause, mais ils sont sensibles vis-à-vis d'autres types de virus. Les ânes de l'Afrique du Sud sont généralement immuns à l'égard de l'infection

naturelle, néanmoins, quelques uns d'entre eux peuvent montrer une réaction légère à la suite d'une inoculation expérimentale avec un virus virulent.

Alexander (1948) trouve que les ânes du Moyen-Orient sont plus sensibles à la maladie. Les mulets paraissent être plus résistants que les chevaux.

### *Immunisation et prévention.*

Faute d'une connaissance des réservoirs du virus et à la suite de notre ignorance sur l'évolution du virus dans l'organisme des hôtes vecteurs, ainsi qu'en l'absence d'une méthode chimio-thérapeutique spécifique qui empêche de prendre des mesures radicales pour éliminer la peste équine, la prophylaxie de cette maladie est basée seulement sur l'immunisation.

Les constatations ainsi que les recherches préliminaires d'une immunité durable chez les animaux guéris ont été la base de ces travaux.

Au début XX<sup>e</sup> siècle, différentes méthodes ont été utilisées en vue de l'immunisation des chevaux (Edington [1900]; Koch [1904]; Bevan [1918]. cités par Theiler [1930], que nous empruntons au travail très intéressant de Mc Intosh [1958].)

La première méthode vraiment efficace utilisée pour l'immunisation des mulets a été la méthode de séro-vaccination, préconisée par Theiler en 1905. Celle-ci consistait en une injection simultanée d'un virus virulent (souche O) et de 300 ml d'un sérum anti (sérum O) obtenu à partir de chevaux hyperimmunisés. La méthode a été utilisée aussi chez les chevaux jusqu'en 1933, avec quelques modifications. Elle avait ses avantages et ses inconvénients. La mortalité due à l'immunisation était de 2 à 10 p. 100.

Malgré le succès apparent de la méthode, elle nécessitait l'usage de souches diverses en vue de provoquer une immunité polyvalente.

Le vaccin formolé a été utilisé au Kenya (Whitworth, 1929; Walker, 1930-1931) et à Onderstepoort par Du Toit et Alexander (1920), Du Toit et Neitz (1932), Du Toit, Alexander et Neitz (1933). La rate des chevaux infectés, formolée, était antigénique et donnait une immunité assez solide. Pour donner une immunité plus durable, une injection du sang virulent après la vaccination était recommandée. Le vaccin se conservait mal et nécessitait des injections multiples.

### *Immunisation avec un virus neurotrope.*

Dès que Nieschulz (1932-1933) et Alexander (1933-1935) ont réussi à atténuer le virus de la peste équine par des passages en série sur cerveau de

souris, une vraie révolution a été faite dans l'immunisation des chevaux contre la peste équine. Ainsi, Alexander (1935-1936-1948), Alexander et Van der Vyver (1935), Alexander, Neitz et Du Toit (1936) ont montré que, à partir de ces virus neurotropes, un vaccin très actif et sûr peut être préparé.

Comme on avait montré la différence antigénique des différentes souches de virus de la peste équine, il est évident que, lors d'une épizootie, il serait préférable d'utiliser un vaccin polyvalent en vue de la prévention de la maladie. Au début, Alexander utilisait quatre souches qui avaient effectué au moins 100 passages intracérébraux chez les souris; il a utilisé plus tard jusqu'à huit souches différentes de virus de la peste équine dans la préparation de ce vaccin.

Le résultat obtenu pour l'immunisation des chevaux et des mulets avec le vaccin neurotrope a été encourageant et l'usage de ce vaccin dans la lutte contre la maladie a été recommandé à plusieurs reprises.

Pendant l'épizootie de la peste équine au Moyen-Orient, en 1944, le vaccin neurotrope préparé dans les laboratoires d'Onderstepoort a été largement utilisé (Alexander, 1948).

On l'a utilisé pour l'immunisation des chevaux, des mules et des ânes en Egypte et en Palestine avec beaucoup de succès. La mortalité s'arrêtait environ 21 jours après la vaccination, ce qui est en faveur des expériences menées au laboratoire par Alexander en 1949.

Mc Intosh (1935) a montré qu'un vaccin polyvalent, pour être actif, doit contenir au moins sept types différents de virus décrits par lui-même.

Malgré le résultat très favorable de la vaccination, on a signalé des échecs dans l'immunisation des chevaux.

L'étude très intéressante de Mc Intosh (1955) montre que cette mortalité chez les animaux vaccinés est due à une légère différence antigénique, qui existe entre les souches du même type.

Pour Mc Intosh (1955), les souris sont apparemment réfractaires au virus obtenu chez des chevaux immunisés; il est probable que le sérum anti, présent dans le sang, empêche la pullulation du virus chez la souris.

Il a obvié à cet inconvénient en utilisant le furet par inoculation intracardiaque; ainsi, l'isolement du virus de la peste équine chez un cheval immunisé, mais qui est atteint de la maladie, est devenue possible grâce à cette technique.

Mc Intosh (1955) est d'avis que la différence antigénique des souches est très variable, que peu de souches isolées sont complètement identiques, quoiqu'elles tombent dans le même groupe antigénique.

Ainsi, quelques échecs survenus lors d'une immunisation de masse peuvent être expliqués de cette façon.

Néanmoins, il semble que la protection des animaux sensibles peut être assurée par une injection annuelle d'un vaccin polyvalent, effectuée avant la saison chaude et qu'on renouvellera régulièrement.

A part la vaccination, on recommande que, pendant l'épizootie, d'autres mesures prophylactiques soient prises, telle que la protection des animaux contre la piqûre des insectes pendant la nuit, en les gardant dans les écuries et par leur éloignement des régions marécageuses avant le coucher du soleil. On peut avoir recours aussi à des insecticides divers.

### *Traitement.*

A part les soins hygiéniques, le repos complet, on ne connaît pas, à l'heure actuelle, de produits chimiques spécifiques de la peste équine.

### **Epizootie récente de la peste équine au Proche-Orient.**

On a l'habitude de considérer que la distribution de la peste équine est limitée uniquement au continent africain s'étendant à l'Abyssinie, à l'Erythrée et au Soudan. On avait également signalé des cas enzootiques, mais isolés au Yémen, sur les côtes de la Mer Rouge.

En Egypte (Williams, 1913; Carpano, 1931; Alexander, 1948), des cas de peste équine ont été notés.

L'épizootie signalée par Carpano a atteint 26,3 p. 100 des chevaux d'une population de 2.782 chevaux, distribués dans les provinces d'Assouan, Quena et Giurga, et a causé la mort de 88,7 p. 100 des chevaux infectés; sur 631 mulets, on en a diagnostiqué 10,6 p. 100 atteints de la maladie avec une mortalité de 69,7 p. 100. Pour ce qui concerne les ânes, les informations sont vagues, néanmoins on a signalé quelque mortalité chez ces derniers.

La maladie a été de nouveau signalée le 9 juillet 1943, à Komobo. L'infection s'étendit vers le nord et la maladie apparut au Caire le 8 février 1944.

La mortalité ne fut pas élevée. Sur 11.959 chevaux, 3.602 mulets et 294.011 ânes, on a signalé 727 chevaux (6,67 p. 100), 75 mulets (2,82 p. 100) et 801 ânes (0,27 p. 100) atteints de la maladie.

Le Service vétérinaire égyptien exigeait non seulement la destruction des animaux cliniquement affectés par la maladie, mais aussi la destruction immédiate des chevaux dans les foyers infectés qui montraient une hausse thermique de 39°,5 C avec un examen du sang négatif au point de vue microscopique.

Après quelques mois, d'autres cas ont été signalés au Caire, à Suez, à Ismaïlia. Des mesures sévères pour la destruction des animaux infectés ou suspects ont été prises. Une campagne de vaccination fut instituée. D'après le Docteur Salem Bey, Directeur des Services vétérinaires (cité par Alexander [1948] à qui nous avons emprunté largement ces informations), dans six provinces infectées par cette maladie, 1.618 cas ont été diagnostiqués chez les chevaux et les mulets d'une population de 28.769 animaux. Le nombre des chevaux et des mulets était le même, mais la maladie s'observait trois fois plus chez les chevaux que chez les mulets. On a cité 241 cas d'infection chez les ânes, sans qu'on puisse préciser le nombre total des ânes de la région. Il est donc certain, d'après les informations diverses, que la maladie a existé en dehors de son foyer naturel, en Egypte, Syrie, Palestine, Hedjaz, et qu'elle a causé parfois une grave mortalité chez les chevaux.

L'épizootie de 1943-1944 en Egypte a été plus sévère et, malgré les mesures sanitaires très rigoureuses prises par les Autorités palestiniennes, la maladie a fait son apparition en Palestine au mois d'août 1944 et 656 chevaux, 166 mulets et 14 ânes ont succombé à la suite de cette maladie et près de 443 chevaux, 227 mulets et 8 ânes furent reconnus infectés et furent abattus. La vaccination des animaux sensibles fut entreprise très énergiquement.

En outre, la maladie a été reconnue en Syrie, au Liban et en Transjordanie, sans qu'on puisse trouver des informations exactes sur la mortalité des animaux.

#### **Epizootie de 1959-1960.**

En 1958, Mc Intosh prévoyait, à juste titre d'ailleurs, que l'apparition de la peste équine en dehors de son foyer naturel doit être considérée comme une alarme pour les régions indemnes. En 1959, la maladie s'est introduite au Pakistan, en Afghanistan, Iran, Inde, Iraq, Turquie, Syrie, Chypre, Liban et Jordanie. L'épizootie de la peste équine, en raison de la sensibilité des animaux, de la coutume du nomadisme et, peut-être, de la présence et de l'abondance des insectes vecteurs, s'est étendue très rapidement dans ces régions et a causé des pertes énormes.

C'est seulement vers la fin de 1960, grâce à des mesures énergiques, notamment à la suite de la vaccination, que la maladie a pu être enrayerée.

Nous essaierons de retracer dans les pages qui suivent les grandes lignes de cette grave épizootie dans les Pays infectés, plus particulièrement en Iran, en nous référant aussi à la Conférence O.I.E.-F.A.O., tenue à Paris du 17 au 20 janvier 1961, et aux notes d'information de l'Office International des Epizooties.

*Afghanistan.* — La maladie est apparue en automne 1959 parmi les chevaux de l'armée, dans la région de Kalat, puis s'est étendue vers Kandahar. Elle n'a été diagnostiquée que plus tard; des mesures sanitaires furent prises et on a eu recours à des insecticides comme le D.D.T. et l'H.C.H. Les animaux furent amenés vers des régions plus élevées et conservés dans les écuries pendant la nuit. Au cours de cette épizootie, 290 chevaux périrent. En dépit de la lutte entreprise, la maladie réapparut fin août 1960 dans la province orientale et gagna la province de Kaboul: 1.000 chevaux succombèrent. De grands efforts furent faits pour prévenir l'extension vers la province du Nord, importante région d'élevage du cheval.

Vingt-sept mille doses de vaccin polyvalent furent utilisées dans les régions infectées. On a envisagé la production du vaccin sur place, grâce au concours de la F.A.O.

*Chypre.* — La maladie apparut d'abord dans la région de Famagouste, le 6 septembre 1960. La détermination du virus ne fut pas faite, mais toutes les mesures de police sanitaire possibles furent appliquées dans la zone infectée. En dépit de cela, l'infection se propagea aux villages voisins et à d'autres régions, celle de Nicosie incluse. A partir du 15 septembre, l'Institut Razi (Iran) envoya plus de 8.000 doses de vaccin. Tous les chevaux et mulets furent vaccinés en l'espace de trois semaines et contractèrent une excellente immunité. Chez 80 p. 100 des chevaux vaccinés, les réactions fébriles consécutives à la vaccination furent sévères et les symptômes généraux bénins se manifestèrent environ trois semaines après la vaccination. Les mulets seulement montrèrent des symptômes nerveux. Il fut décidé de vacciner plus de 12.000 ânes dans un seul district. Des réactions sévères furent observées et, finalement, 5 p. 100 des ânes vaccinés périrent.

Nous ne savons pas si les Autorités vétérinaires de Chypre ont essayé d'isoler le virus de la maladie naturelle ou bien de l'isoler chez les animaux vaccinés. L'examen du sang de ces animaux, ainsi que de toutes les manifestations cliniques, serait très utile en vue d'être fixé sur la sensibilité exceptionnelle des ânes à Chypre.

Alexander (1948) avait déjà noté la sensibilité des ânes en Egypte. Ainsi que nous le verrons plus tard, cette réaction assez sévère, consécutive à la vaccination, n'est pas constatée en Iran.

*Inde.* — La peste équine africaine fut d'abord observée au Rajasthan, le 22 avril 1960, et sur des chevaux de l'armée dans le Jaipur. Sur 302 chevaux, 112 furent infectés, 36 moururent, 48 furent abattus, les autres guérirent.

D'autres cas furent observés au Rajasthan et dans d'autres provinces.

Jusqu'au 16 novembre 1960, 12.238 animaux sont tombés malades avec 11.192 morts.

Au cours de la quinzaine se terminant le 9 mars 1961, 132 nouveaux cas de peste équine ont été signalés dans le district de Dhulia, de l'Etat de Maharashtra, et dans les districts de Broach. Baroda, Ghodra, Surat et Amreli, de l'Etat de Gujarat; sur ces 143 cas, 101 morts ont été enregistrés.

Des mesures de lutte sanitaire furent appliquées et des démarches entreprises pour se procurer du vaccin d'Afrique de Sud.

Le virus local fut isolé à Poona. La maladie s'étendit à tout le Pays, sauf aux Etats de Madras, Kenala, Assam, Bengale Occidental, Himachah, Pradesh et aux régions de Delhi, Tripura et Manipur.

Jusqu'au 20 décembre 1960, 17,845 équidés ont été atteints et la mortalité fut de 91,37 p. 100. Tous les mulets et les ânes atteints moururent. On a vacciné les chevaux de valeur avec 80.000 doses de vaccin venant d'Afrique du Sud et de l'Institut Razi (Iran).

La production du vaccin local fut commencée. La souche du virus indien a été identifiée comme étant un virus correspondant au groupe 6 des Auteurs de l'Afrique du Sud et possédant une parenté antigénique avec trois autres groupes. La maladie a régressé pendant l'hiver. Les réactions post-vaccinales furent sévères, mais quelques chevaux manifestèrent de graves réactions (3 chevaux du laboratoire des sérums succombèrent). La raison de sévères réactions dans certaines régions plutôt que dans d'autres n'est pas clairement élucidée. On croit que la vaccination d'animaux affaiblis pourrait être dangereuse et qu'il est recommandé de laisser au repos les animaux vaccinés pendant environ trois semaines.

*Iraq.* — Le début de l'épizootie survint en avril-mai 1960 dans la région de Badra, s'étendit au nord et au sud du Pays, causant des dégâts considérables jusqu'au mois de novembre, époque à laquelle elle s'est éteinte. 13.572 animaux furent atteints et on estime à 12.360 le nombre des animaux morts. Les mesures sanitaires furent prises et la vaccination des chevaux avec le vaccin venant d'Afrique du Sud a été couronnée de succès.

*Jordanie.* — La peste équine s'est propagée aux exploitations de la vallée de la Mer Morte, en octobre 1960. Sur un total de 92.000 équidés, environ 20.000 chevaux et mulets ont été vaccinés avec le vaccin d'Onderstepoort. Le nombre de cas de peste équine jusqu'au 28 janvier 1961 s'élevait à 129 dont 100 ont été mortels. La maladie a évolué dans le sousdistrict de Jerash, dans la vallée du Jourdain de Salt, dans les zones de Kerak, Nablus et Jéricho. Une campagne de vaccination a été entreprise dans tout le royaume et environ 19.000 doses ont été injectées. La vaccination continue.

*Liban.* — Le premier foyer est apparu en octobre 1960; la vaccination fut effectuée. Environ six semaines après la vaccination, on observa des cas sur des animaux non vaccinés qui furent abattus. On n'a pas rapporté de sévères réactions postvaccinales.

*Pakistan.* — La peste équine fut signalée pour la première fois en septembre 1959, près de la frontière afghane. La maladie s'étendit rapidement, malgré les mesures sanitaires prises, y compris l'abattage des animaux infectés et suspects. La maladie s'étendit rapidement au Pakistan occidental et 4.000 chevaux périrent. La maladie régressa pendant l'hiver et une nouvelle épizootie se produisit à la fin de mars 1960 dans le Tharparkar où 40 chevaux périrent. A partir de juillet 1960, 191 foyers se manifestèrent dans une large zone et le rapport officiel signalait 37 morts et 146 chevaux abattus. La vaccination commença avec le vaccin provenant d'Afrique du Sud et d'Iran.

De minutieuses observations de réactions vaccinales furent faites sur environ 2.000 équidés. De l'hyperthermie et des symptômes généraux furent observés avec mortalité chez les chevaux, les mulets et les ânes.

*Arabie Séoudite.* — La maladie n'a pas été signalée en 1960, mais des foyers avaient été signalés auparavant.

*Lurquie.* — Un foyer de peste équine fut signalé à la frontière Iraq-Turquie le 16 mai 1960 et le premier cas fut signalé dans le sud-est de la Turquie le 23 mai 1960. La maladie s'est propagée rapidement depuis le sud-est, atteignant, en 5 mois, 28 des 67 provinces. Au début, on a eu recours à des mesures sanitaires. Sur un cheptel de 1 million 300.000 chevaux, 172.000 mulets et environ 2 millions d'ânes, 25.000 animaux succombèrent.

De même, on a utilisé un vaccin inactivé (340.000 doses); le vaccin polyvalent d'Onderstepoort fut utilisé pour les chevaux de race, les chevaux de l'armée et les mulets.

L'évolution de la maladie s'est ralentie et des mesures ont été prises pour préparer le vaccin polyvalent sur place. L'évolution de la maladie du 15 février au 3 mars 1961 montre deux cas d'infection et deux morts dans la province de Gaziantep.

*République Arabe Unie (Province Syrienne).* — La peste équine débuta au nord de la Syrie en mai 1960 et, malgré les mesures nécessaires, la maladie s'est propagée dans toute la Syrie Centrale. Sur un cheptel de 147.000 chevaux et mulets, environ 111.716 animaux furent vaccinés avec les vaccins polyvalents d'Onderstepoort et de l'Iran. Les résultats obtenus furent excellents. L'épizootie se termina fin décembre 1960 avec 4.677 animaux morts.

*Iran.* — C'est en automne 1959 qu'une maladie meurtrière est apparue parmi les chevaux de la province de Kerman. Une équipe envoyée par le Service vétérinaire et l'Institut Razi n'a pu observer que quelques rares cas d'une maladie indéterminée. L'examen du sang de ces animaux avait montré quelques *Babesia equi* (*Nuttalia equi*). A l'examen du sang prélevé, on n'a pu trouver le virus de la peste équine. La maladie s'est arrêtée apparemment au cours de l'hiver.

La peste équine a été néanmoins soupçonnée, puisque la maladie a été diagnostiquée et identifiée pendant ce temps au Pakistan.

Au cours du printemps 1960, un autre foyer de cette maladie des chevaux fut signalé au Khozistan, au sud de l'Iran avec une allure épizootique et meurtrière très grave.

Les signes cliniques et les examens du laboratoire étaient en faveur de la peste équine : le sang prélevé sur des animaux infectés fut envoyé aux laboratoires d'Onderstepoort, qui confirmèrent l'existence du virus de la peste équine.

Les inoculations furent effectuées à l'Institut Razi avec succès et, à plusieurs reprises, le virus fut isolé.

### Epizootologie.

D'après nos connaissances actuelles, la peste équine est apparue vers le mois d'août 1959 dans la région de Bam et Djiroft (province de Kerman). s'étendant vers les provinces Sud (Khozistan-Chiraz). La maladie se propageait le long des rivières des régions marécageuses, etc. . .

Il est donc probable que la maladie s'est introduite par les côtes sud-est de l'Iran, en progressant vers le centre et par les côtes du Golfe Persique à la suite d'introduction de quelques chevaux infectés. L'arrêt momentané de la maladie au cours de l'hiver 1959 et sa réapparition au printemps 1960 est très caractéristique de l'évolution de cette infection.

Plus tard, le climat tempéré et plutôt chaud de cette région, les habitudes de nomadisme ont facilité la propagation de la maladie vers le centre (Fars-Isfahan) même au nord et nordouest de l'Iran, ainsi qu'on peut le constater sur la carte jointe à ce rapport.

#### A. — Animaux affectés.

En Iran, les chevaux se sont montrés beaucoup plus sensibles à la maladie, les mulets sont plus ou moins atteints, les ânes sont beaucoup plus résistants, quelques rares cas de la maladie chez ces derniers animaux ont



été signalés. On a parlé de chiens morts à la suite de la consommation de viande de chevaux infectés.

## B. — *Transmission de la maladie.*

Les insectes piqueurs, ainsi que différents espèces de *Culicoides*, existent dans les régions où la maladie a sévi sous forme enzoo-épizootique.

Aucune étude sérieuse n'a été effectuée jusqu'à ce jour en vue de la détermination des insectes vecteurs, ni en vue de trouver les hôtes intermédiaires.

## Symptomatologie.

### A. — *Infection naturelle.*

La maladie est apparue sous forme aiguë ou subaiguë chez les chevaux; les animaux infectés à l'état naturel succombèrent au bout de 4 à 5 jours après l'apparition des signes cliniques parfois même après 24-48 heures. On a signalé néanmoins des animaux qui ont guéri sans aucune intervention.

C'est la forme cardiaque, avec de l'œdème caractéristique des fosses temporales, qui a été observée le plus couramment en Iran. Dans cette forme de la maladie, la température monte jusqu'à 40-41° C, l'œdème de la fosse temporale, très caractéristique de la maladie, s'observe fréquemment (l'œdème s'étend parfois aux joues et au cou), les paupières sont tuméfiées. le tissu conjonctif oculaire est congestionné et présente une sécrétion abondante.

On a signalé quelquefois de l'hémoglobinurie; il est probable que celle-ci est due à un réveil de babésiose.

Des symptômes de la forme pulmonaire sont parfois observés. Au début, la température du cheval monte progressivement et atteint 41 à 42° C; la courbature et la dyspnée apparaissent ensuite. Les naseaux sont distendus et l'animal sue beaucoup.

La bouche reste ouverte, la langue tuméfiée est projetée au dehors. la toux sèche apparaît et du jetage jaunâtre sort des narines.

L'infiltration et l'œdème pulmonaire provoquent la suffocation de l'animal.

Parfois, des formes suraiguës ont été signalées et la mort est survenue au bout de quelques heures.

*Forme mixte.* — Les signes de la forme cardiaque et pulmonaire se voient sur le même animal.

C'est surtout à l'autopsie qu'on voit des lésions mixtes de ces formes.

*Anatomie pathologique.* — On peut observer les lésions classiques suivant la forme de la maladie.

Le tissu conjonctif sous-cutané de la plupart des chevaux autopsiés était jaunâtre et des taches hémorragiques s'observaient fréquemment sur l'endocarde et sur le péritoine.

### B. — *Infection expérimentale.*

Les signes cliniques observés chez les chevaux infectés à titre expérimental en vue de la préparation du vaccin formolé sont les suivants:

Après une période d'incubation de 5 à 6 jours en moyenne (parfois 10 à 15 jours), on note:

1° *Forme subaiguë.* — La température s'élève à 40-41° C, l'œdème de la fosse temporale apparaît immédiatement dès le début de la fièvre ou très peu de jours après. L'œdème des paupières, des joues, de l'espace intermaxillaire et du cou est observé parfois.

Chez quelques chevaux, la tuméfaction des yeux et des paupières était très manifeste, ainsi qu'une abondante sécrétion sanguinolente.

La fièvre demeurait élevée pendant 4 à 6 jours; les animaux succombaient pendant ce temps.

Quelquefois, on a noté une chute de la fièvre et la guérison de l'animal est survenue; à l'autopsie de ces animaux, on notait de l'infiltration gélatineuse sur le péricarde, une inflammation du myocarde, parfois une quantité assez abondante de liquide péricardique et même la présence assez abondante de liquide thoracique.

2° *Forme pulmonaire.* — Cette forme de la maladie est observée très rarement; l'animal succombait en 2 à 3 jours, après la montée de la température, à la suite de suffocation. Les œdèmes locaux étaient absents dans cette forme de la maladie, un jetage écumeux constituant un signe caractéristique sortait par les naseaux avant la mort de l'animal.

A l'autopsie, l'œdème des poumons avec exsudat abondant jaunâtre était observé.

### Diagnostic.

Au début, la maladie a été confondue avec le charbon et la nuttaliose; mais plus tard, grâce aux signes caractéristiques de la maladie et aux épreuves de laboratoire, la peste équine fut confirmée.

### **Pronostic.**

La mortalité était très élevée vu la sensibilité des animaux à une infection qui n'avait jamais été signalée jusque-là; elle a atteint, dans certaines régions, 20 à 70 p. 100. Le total des animaux morts est estimé à 12.930, mais il est possible que ce chiffre soit beaucoup plus élevé vu la difficulté de se procurer une statistique complète et exacte de la mortalité.

### **Prévention.**

Dès que la présence de la peste équine a été confirmée par les examens de laboratoire, des règlements sanitaires furent appliqués par le Service vétérinaire iranien.

1° En vue de limiter le transport des chevaux et des mulets vers des zones non infectées.

2° Des instructions furent données pour garder les chevaux dans les écuries pendant la nuit.

3° L'utilisation des insecticides, comme le D.D.T. et l'isomère gamma de l'H.C.H., fut recommandée dans toute la mesure du possible.

4° L'immunisation des chevaux et des mulets fut pratiquée d'abord avec du vaccin formolé, ensuite avec le vaccin neurotrope, tel qu'il a été mis en pratique par Alexander et coll. en Afrique du Sud.

Ces mesures, la pratique de l'immunisation mise à part, n'ont pas donné le résultat cherché; en effet, l'Iran est un Pays vaste où le contrôle du transport des animaux est difficile, surtout du fait du nomadisme qui est en faveur de la dissémination d'une maladie aussi transmissible que la peste équine.

L'utilisation des insecticides et des répulsifs étant très limitée ne pouvait donner le résultat voulu.

Pour ce qui concerne la vaccination des animaux, nous n'avions jamais envisagé la préparation du vaccin polyvalent avant l'apparition de cette maladie en Iran.

En raison d'une extrême rapidité de la diffusion de la maladie dans le Pays, nous avons d'abord envisagé:

1° La préparation et l'utilisation du vaccin formolé et saponiné.

2° L'isolement et l'étude des différents virus dans les régions infectées.

3° La préparation et l'utilisation du vaccin neurotrope polyvalent.

En Iran, dans la lutte contre les maladies infectieuses, la vaccination systématique nous a donné de très bons résultats; ainsi, nous avons pu éradiquer dans le passé la peste bovine, enrayer dans une large mesure le char-

bon, la clavelée, la septicémie hémorragique, etc. . .

En matière de peste équine, nous avons adopté aussi le système de vaccination systématique, dès que le vaccin actif nécessaire a été disponible. Grâce à cette mesure très énergique, qui a nécessité la mobilisation de 90 équipes vétérinaires motorisées, et à l'aide financière apportée par le Gouvernement, on a pu arrêter l'extension de la maladie et, depuis le 25 décembre 1960, aucun cas de peste équine n'a été signalé en Iran.

#### Nécessité d'isolement du virus.

Les études précédentes, menées par Alexander et coll., nous ont montré la pluralité des types du virus au point de vue antigénique. Il était donc essentiel d'isoler le plus grand nombre de virus dans les régions infectées, non seulement en vue du diagnostic de la maladie, mais aussi pour trouver le ou les types du virus responsables de l'épizootie afin de les incorporer au besoin dans le vaccin polyvalent.

#### Souches de virus isolées.

Au cours des neuf derniers mois, parmi les 117 échantillons de sang prélevés sur les chevaux, mulets et ânes suspects de peste équine, mes collaborateurs, H. Taslimi et Hazrati, à l'Institut Razi, ont isolé 42 souches.

Ces souches, après trois passages effectués sur cerveau de souris, ont été lyophilisées et conservées.

ESPECE ANIMALE	SANG REÇU	POSITIF	NEGATIF
Chevaux . . . . .	103	38	65
Mulets . . . . .	7	3	4
Anes . . . . .	7	1	6

#### Technique de l'isolement du virus.

Nous suivons la technique donnée par les Auteurs des laboratoires d'Onderstepoort qui consiste en prélèvement du sang chez les animaux sus-

pects ayant une élévation thermique. Le sang est ajouté à parties égales à la solution ci-dessous:

Eau .....	500 ml
Glycérine .....	500 ml
Oxalate de potassium .....	5 g
Acide phénique .....	5 g

Dès réception du matériel au laboratoire, le sang infectant est dilué à raison de 1 p. 2 dans l'eau salée, pour réduire la toxicité du liquide à injecter.

On injecte 0,05 ml dans le cerveau de deux séries de souriceaux ou, à défaut, dans le cerveau de 10 souris adultes de 35 jours. Les souris sont examinées journellement et celles qui meurent sont écartées. Celles qui montrent des signes d'encéphalite (généralement ceci s'observe vers le 3-5<sup>e</sup> jour) sont anesthésiées à l'éther et le cerveau est prélevé.

On peut effectuer deux ou trois passages de la même manière et le cerveau virulent est conservé à la glacière à — 20° C ou à l'état lyophilisé.

#### **Identification des virus.**

Pour identifier le virus isolé, on a recours soit à la méthode de fixation du complément (Mc Intosh, 1956), soit à la neutralisation du virus par le sérum (Alexander, 1935).

Nous n'avons pas réussi à identifier les types de virus isolés en Iran. Le virus isolé au Pakistan et envoyé à Onderstepoort paraît être très proche du point de vue antigénique du type 6. Le typage des virus sera fait au cours de l'année 1961.

#### **Passages des souches viscerotropes.**

Le virus n° 5 (Peschawar), qui, en date du 29 décembre 1960, était au 50<sup>e</sup> passage sur cerveau de souris, a été inoculé à 3 chevaux de la manière suivante:

Les chevaux n°s 24 et 25 ont reçu 4 ml et le cheval n° 26, 6 ml d'une solution à 10 p. 100 d'une émulsion du cerveau qui en était à son 50<sup>e</sup> passage.

La température de ces chevaux fut prise régulièrement pendant 52 jours, sans noter une hausse thermique.

Le 18 février 1961, c'est-à-dire 52 jours après inoculation du virus au 50<sup>e</sup> passage, on injecta à ces 3 chevaux, ainsi qu'à un cheval témoin, du virus 10/60 iranien très virulent de la peste équine de la façon suivante:

Les chevaux n<sup>os</sup> 24 et 25 reçurent dans la veine jugulaire 2 ml et le cheval n<sup>o</sup> 26, 4 ml d'une suspension à 10 p. 100 du cerveau virulent d'une souris, centrifugée au froid pendant 10 minutes à 2.000 tours. Le témoin reçut 1 ml de la même suspension. La température du témoin s'éleva à partir du 3<sup>e</sup> jour et atteignit 40°5 C le 8<sup>e</sup> jour; l'animal succomba le 8<sup>e</sup> jour à la suite d'une peste à forme pulmonaire. La température des 3 chevaux vaccinés resta normale pendant près d'un mois et ils ne présentèrent aucune réaction anormale apparente.

TABLEAU 1

*Epreuve du virus souche Pakistan.*

No du cheval	DATE d'inocu- lation	QUANTITE du virus injecté dilution 10 p. 100	Réac- tion	EPREUVE DE L'EFFICACITE		
				Date	Quantité du virus injecté 10 p. 100	Résultat
24 . . . .	29-12-60	4 ml	Rien	18-2-61	2 ml	Rien d'anormal
25 . . . .	»	»	»	»	»	»
26 . . . .	»	6 ml	»	»	4 ml	»
27 . . . .	Témoin			»	1 ml	Mort. Peste équine

Le sang de ces chevaux a été examiné par la méthode de fixation du complément avant toute inoculation, sans qu'on puisse déceler d'anticorps de la peste équine.

Après le 7<sup>e</sup> jour d'inoculation du virus viscérotrope virulent, le sang de ces animaux fut inoculé aux souriceaux; on a pu isoler le virus dans le sang du cheval témoin, ainsi que dans le sang du cheval n<sup>o</sup> 26 qui avait reçu 4 ml de la suspension virulente; par contre, on n'a pas pu isoler de virus dans le sang des chevaux n<sup>os</sup> 24 et 25.

Le virus qui nous a servi pour éprouver les chevaux vaccinés a été titré avant l'injection sur des souris; une dilution de 10<sup>-4</sup> à raison de 0,03 ml a tué 100 p. 100 des souris inoculées; la dilution de 10<sup>-5</sup> à la même dose a tué seulement 40 p. 100 des souris injectées.

Le 50<sup>e</sup> passage du virus Pakistan est déjà avirulent pour les chevaux de l'Iran et provoque une immunité solide à l'égard du virus viscérotrope virulent de l'Iran.

Nous avons pensé néanmoins continuer ce passage et faire une nouvelle épreuve au 75<sup>e</sup> passage, avant de décider de son incorporation dans le vaccin neurotrope.

Actuellement, nous en sommes au 72<sup>e</sup> passage du virus Peschawar (Pakistan), qui a été isolé à Onderstepoort et qui avait subi 18 passages au préalable, et au 62<sup>e</sup> passage d'un virus iranien (Chiraz 2).

### **Vaccin formolé.**

Au Kenya (Whitworth, 1929; Walker, 1930-1931) et à Onderstepoort (Du Toit et Alexander, 1930; Du Toit et Neitz, 1932; Du Toit, Alexander et Neitz, 1933), on avait déjà montré que la rate des chevaux infectés a un pouvoir antigénique et que, formolée, elle donne une immunité à l'égard du virus homologe. Néanmoins, ce vaccin n'avait pas donné le résultat voulu; il fallait injecter du sang virulent après la vaccination pour consolider l'immunité acquise et répéter la vaccination en modifiant la teneur en aldéhyde formique, etc. . .

### **Préparation du vaccin formolé en Iran.**

Dès le début de l'épizootie, nous avons envisagé d'utiliser la rate des chevaux naturellement infectés ou d'acquérir les chevaux exposés à la maladie naturelle, afin de les inoculer expérimentalement en vue de la préparation du vaccin formolé.

Nous avons organisé et équipé, à Ahwaz, à Chiraz et à Kernanchah, trois laboratoires pour préparer le vaccin nécessaire sur place.

### **Préparation du vaccin formolé saponiné.**

Le prélèvement de la rate est effectué dans les conditions aussi aseptiques que possible.

On fait un frottis avec la pulpe de la rate pour examen microscopique. Les rates dépourvues de toute souillure microbienne sont épluchées et broyées. Le broyat ainsi obtenu est pesé et une culture sur bouillon et sur gélose est effectuée.

On ajoute trois parties d'eau formolée à 1 p. 1.000 pour une partie de rate; le mélange est passé de nouveau dans un broyeur Atomix; on le filtre à

travers deux couches de gaze et on ajoute de la saponine à raison de 1 p. 5.000 et du merthiolate à 1 p. 20.000.

La stérilité est contrôlée par des cultures sur milieu aéro et anaérobie.

Le vaccin est réparti dans des flacons et une dernière culture sur des milieux appropriés est effectuée. La dose vaccinale est fixée à 10 ml.

### Quantité préparé du vaccin formolé.

Nous avons préparé dans les trois laboratoires provinciaux 76.281 doses de ce vaccin. En moyenne, la rate des chevaux pesait 770 g.

### Contrôle du vaccin.

Il faut s'assurer de la stérilité du vaccin au moyen des cultures dans les milieux appropriés.

### Contrôle de l'innocuité et de l'efficacité.

Le 5 mai 1960, on injecta à 4 chevaux 10 ml du vaccin formolé lot 1 Chiraz; une légère tuméfaction passagère est apparue au niveau de l'injection; la température est restée normale.

Le 27 mai 1960, les 4 chevaux reçurent, en même temps que 2 chevaux témoins, 2 ml de sang virulent prélevé sur un cheval atteint de

N° du cheval	DATE	MATERIEL injecté	Réac- tion	EPREUVE		
				DATE	MATERIEL injecté	RESULTAT
100 . . .	6-6-60	10 ml vaccin formolé.	Rien	9-7-60	2 ml sang virulent cheval	Fièvre. Mort après 7 jours sans présenter de signes pestique
101 . . .	»	»	»	»	»	Fièvre œdème guérison
102 . . .	»	<i>Témoin</i>		»	2 ml sang infectant	Fièvre œdème guérison

peste équine. Les vaccinés n'ont rien présenté d'anormal. Les témoins ont montré une hausse thermique le 8<sup>e</sup> jour, qui atteignit 41°,3 avec de l'œdème de la fosse temporale.

Ces 2 chevaux furent sacrifiés pour la préparation du vaccin.

Dans une autre expérience avec le lot 8 Ahwaz, nous avons vacciné 2 chevaux et, 33 jours après, nous les avons éprouvés, ainsi qu'un cheval témoin, comme on le voit dans le tableau suivant.

De ce qui précède et d'après le travail très intéressant de Du Toit et Alexander (1930-1933), l'immunisation anti-peste équine avec le vaccin formolé peut être utilisée en prenant des précautions nécessaires.

L'immunité conférée par ce vaccin en Iran dans la lutte contre la peste équine était en faveur de son utilisation au début de la campagne. Ce vaccin est onéreux et n'est utilisable que là où le vaccin neurotrope ne serait pas disponible.

En Iran, dès que nous avons pu préparer le vaccin neurotrope, d'après la méthode adoptée en Afrique du Sud, nous avons renoncé à la production et à l'utilisation du vaccin formolé.

Nous avons recommandé de revacciner avec le vaccin neurotrope, dès qu'il est devenu possible, les chevaux vaccinés avec le vaccin formolé.

#### *Vaccin neurotrope.*

Grâce à l'obligeance du Docteur Alexander, des Laboratoires d'Onderstepoort, nous avons reçu les sept types du virus neurotrope utilisés couramment en Afrique du Sud pour la préparation du vaccin polyvalent contre la peste équine.

La préparation du vaccin commença dès le 21 juin 1960. Nous avons préparé, jusqu'au 31 mars 1961, 1.023.585 doses de vaccin et nous avons injecté, dans ce but, plus de 98.000 souris par voie intracérébrale.

#### *Technique de la préparation du vaccin.*

Nous suivons la technique décrite par Alexander et Van der Vyver (1935), Alexander, Neitz et Du Toit (1936), Mc Intosh (1958).

Les sept types du virus diffèrent du point de vue antigénique comme suit:

1	.....	A 501	RT	5	.....	VH	BH
2	.....	OD	GB	6	.....	114	GT
3	.....	L	RH	7	.....	KAREN	RB
4	.....	VRYHEID	BB				

et sont incorporés dans la préparation du vaccin utilisé en Iran.

### *Antigène lyophilisé.*

Dès la réception des virus, nous avons injecté séparément dans le cerveau des souris âgées de 35 jours, chacun des sept types du virus.

Le cerveau prélevé des souris infectées est reparti dans plusieurs tubes, à raison de 10 cerveaux par tube à lyophiliser séparément pour chaque type, en vue de constituer la réserve nécessaire pour les inoculations ultérieures. Ces tubes sont conservés à  $-20^{\circ}$  C.

### *Préparation de l'ensemencement.*

On prélève une ampoule de chacun des types précités; le contenu de chaque ampoule est dissous dans 5 ml de sérum salé (eau physiologique + 10 p. 100 de sérum normal de cheval). On procède de la manière suivante:

A. — On injecte dans le cerveau de 10 souris de 35 jours 0,05 ml de cette dilution. Les souris sont observées régulièrement; on choisit 5 d'entre elles qui présentent des signes nets de l'infection; le cerveau de ces 5 souris est broyé avec 50 ml de sérum salé; cette suspension est centrifugée pendant 30 minutes; le liquide surnageant est réparti dans des tubes étiquetés et conservés à  $+4^{\circ}$  C.

Ceci constitue l'ensemencement de réserve.

B. — Pour chaque type, on injecte par la voie intracérébrale 100 souris avec la suspension de l'ensemencement A. Les cerveaux des souris sont prélevés aseptiquement dès que l'agonie apparaît, après anesthésie à l'éther, et sont placés dans des tubes spéciaux à raison de 10 cerveaux par tube; ces tubes portent la date du prélèvement ainsi que les spécifications nécessaires et sont conservés à  $-20^{\circ}$  C. Cette dernière suspension servira à préparer la suspension nécessaire pour inoculation des souris qui seront utilisées à la préparation du vaccin.

C. — Le contenu d'un tube de chacun des sept types, sorti de la glacière, est broyé à l'aide d'une seringue de 10 ml ou d'un broyeur dans 100 ml de sérum salé. Cette suspension est centrifugée à 2.000 tours pendant 30 minutes; le liquide surnageant, contrôlé au point de vue de la pureté, garde son pouvoir virulent à  $+4^{\circ}$  C pendant 6 mois et peut être utilisé avec succès pour inoculer les souris nécessaires à préparer le vaccin.

D. *Inoculation des souris.* — Nous inoculons pour chaque lot de vaccin 100-300 souris avec chaque type de virus; chaque souris reçoit 0,05 ml de la suspension C par la voie cérébrale; les souris sont observées pendant la

période d'incubation, leurs cerveaux sont prélevés après anesthésie à l'éther avec les précautions d'asepsie nécessaires. A l'Institut Razi, la période d'incubation diffère légèrement d'un type à l'autre; elle est pour:

Type 1	.....	60-72 heures		Type 5	.....	90-96 heures
Type 2	.....	70-96 heures		Type 6	.....	80-96 heures
Type 3	.....	60-72 heures		Type 7	.....	60-70 heures
Type 4	.....	62-72 heures				

Le cerveau des souris, placé dans des tubes et étiqueté pour chaque type séparément, est conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment de l'utilisation.

E. *Préparation du vaccin liquide.* — Dès que la quantité suffisante de cerveau pour préparer un lot de vaccin est prête, on prend à parties égales chacun des sept types ( $7 \times n$ ) et on ajoute une quantité d'eau distillée stérile ( $7 \times n \times 5$ ) ml et ( $7 \times n \times 5$ ) ml de la solution tampon stérile ci-dessous:

Peptone Difco	.....	20 g
Lactose	.....	100 g
Phosphate di sodique ( $\text{Na}_2\text{H PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ )	.....	3 g
Phosphate di potassique ( $\text{K}_2\text{H PO}_4$ )	.....	89 g
Eau	.....	1 000 ml

préparée au préalable et conservée à la glacière. On broie d'abord les cerveaux, auxquels on a ajouté un peu d'eau distillée pendant 2-3 minutes dans un broyeur, le broyat est versé dans un flacon, auquel on ajoute le reste de l'eau distillée et le liquide tampon.

Le vaccin ainsi préparé est réparti dans des flacons de 30 ml, à raison de 5 ml par flacon, lyophilisé ensuite dans des appareils de Stokes.

Chaque flacon contient 5 doses vaccinales; au moment de l'emploi, on y ajoute 25 ml d'eau distillée stérile et on injecte 5 ml aux chevaux et aux mulets.

#### *Titrage du virus*

*et épreuve de la stérilité et de l'innocuité.*

On prend un flacon de vaccin de chaque lot. On prépare des dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-7}$  dans le sérum salé. On injecte 6 souris par la voie rérébrale 0,05 ml.

On calcule la LD<sub>50</sub> par la méthode de Reed et Muench.

La LD<sub>50</sub> des vaccins préparés à l'Institut Razi est de 10<sup>-6</sup> à 10<sup>-4</sup>. Les vaccins dont le titre est inférieur à 10<sup>-4</sup> ne sont pas satisfaisants.

La stérilité du vaccin est contrôlée par l'ensemencement, en gélose et bouillon, de 2 ml du vaccin reconstitué.

L'innocuité du vaccin est contrôlée par l'injection de 0,25 ml du vaccin dans le péritoine de 5 souris qu'on observe pendant 12 jours.

*Epreuve de l'efficacité.*

Au début, il fallait contrôler l'efficacité du vaccin vis-à-vis de la souche du virus rencontré en Iran.

*Epreuve du vaccin monovalent.*

Vu la parenté du virus isolé au Pakistan, qui se rapproche très prob-

TABLEAU II

No du cheval	DATE d'ino- cula- tion	MATERIEL inoculé	Réac- tion	EPREUVE		
				Date	virus viscéro- trope virulent injecté	Résultat
20 . . .	12-6-60	5 ml vac- cin mono- valent type 6	—	9-7-60	2.000.000 doses infectantes souris	Fièvre + œdème fosse temporale guérison
21 . . .	"	"	—	"	"	Fièver
22 . . .	"	"	—	"	"	Rien
23 . . .	"	"	—	"	"	Rien
18 . . .	—	—	—	"	"	Mort le 10 <sup>e</sup> jour

ablement du virus iranien, 4 chevaux furent vaccinés avec un vaccin monovalent neurotrope préparé avec le virus type 6.

Ces chevaux, éprouvés après 28 jours, ont montré une réaction fébrile que nous résumons dans le tableau 2.

Ainsi qu'on peut le constater, 2 chevaux vaccinés ont montré une peste bénigne, mais qui a guéri par la suite.

Nous avons pensé que le vaccin monovalent ne serait pas suffisant pour conférer une immunité solide. Il faut donc recourir au vaccin polyvalent.

*Epreuve du vaccin polyvalent d'Onderstepoort.*

Le 18 juin 1960, 10 chevaux vaccinés 38 jours au préalable avec le vaccin neurotrope, préparé à Onderstepoort, ainsi que 2 chevaux non vaccinés (témoins) reçurent chacun par voie intraveineuse 2 millions de doses

TABLEAU III

No du cheval	DATE de la vacci- nation	MATERIEL inoculé	Réac- tion	EPREUVE DE L'EFFICACITE		
				Date	Material injecté	Résultat
1 . . .	10-5-6	1 dose vaccin Onder- stepoort	Rien	16-6-60	2.000.000 doses infectantes/souris	Rien d'anormal
2 . . .	"	"	"	"	"	"
3 . . .	"	"	"	"	"	"
4 . . .	"	"	"	"	"	"
5 . . .	"	"	"	"	"	"
6 . . .	"	"	"	"	"	+ Fièvre
7 . . .	"	"	"	"	"	Rien d'anormal
8 . . .	"	"	"	"	"	"
9 . . .	"	"	"	"	"	"
10 . . .	"	"	"	"	"	"
11 . . .	témoin			"	"	+ Fièvre
12 . . .	"			"	"	+ Fièvre

infectantes pour la souris du virus viscérotrope iranien.

Parmi les 10 chevaux vaccinés, un seul cheval a montré de l'hyperthermie pendant 3 jours, les autres chevaux n'avaient rien d'anormal, alors que les 2 chevaux témoins ont présenté de la fièvre pendant 4 jours avec de l'œdème des fosses temporales (V. tableau 3).

Bien que les chevaux témoins n'aient pas succombé à la maladie, cette expérience nous a montré une protection assez satisfaisante du vaccin neurotrope ordinaire vis-à-vis du virus iranien (\*).

#### *Epreuve du vaccin polyvalent de l'Institut Razi.*

Le 28 avril 1960, 5 chevaux reçoivent chacun 5 ml (une dose) de vaccin du lot 1 préparé à l'Institut Razi; ils sont mis en observation pendant un mois.

Le 9 juillet 1960, 4 chevaux plus un des témoins reçoivent 2 millions de doses infectantes pour la souris du virus viscérotrope iranien et le cinquième cheval, ainsi qu'un témoin non vacciné, reçoivent 2 ml du sang virulent prélevé chez un cheval atteint de peste équine naturelle.

Ainsi qu'on peut le constater par le tableau 4, aucun des chevaux vaccinés n'a montré de réaction locale ni générale à la suite de la vaccination.

Les chevaux vaccinés ont résisté à l'inoculation infectante.

Le cheval témoin n° 19 a guéri après avoir montré les symptômes de la maladie. Le témoin n° 18 est mort à la suite de la peste équine.

#### *Réaction post-vaccinale.*

En Iran, au cours de la campagne de 1960, le Service vétérinaire a vacciné près de 290.494 chevaux et mulets.

En général, l'épizootie s'est arrêtée après 21 jours et on a noté très peu de réactions sévères post-vaccinales.

---

\* Cette expérience ainsi que la précédente, ont été effectuées en collaboration avec M. Howell du laboratoire d'Onderstepoort, à qui nous exprimons toute notre gratitude. Grâce au concours de la F.A.O., il devait organiser un cours d'entraînement d'un mois au Pakistan, mais en dernier lieu, selon le désir exprimé par les autorités vétérinaires du Pakistan et de la F.A.O., il est venu à l'Institut Razi. Un cours d'entraînement sur les techniques de laboratoire en rapport avec la peste équine fut organisé et les vétérinaires représentants le Pakistan, l'Inde, l'Iraq, l'Afghanistan, la Turquie, et l'Iran y ont assisté.

Dans l'armée, des milliers de chevaux et de mulets furent vaccinés sous le contrôle des vétérinaires militaires, sans aucun accident fâcheux.

C'est seulement au nord de l'Iran, que 3 cas de cécité ont été signalés 60 jours après la vaccination.

TABLEAU IV

N° du cheval	DATE d'ino- cula- tion	MATÉRIEL injecté	Réac- tion	ÉPREUVE D'EFFICACITÉ		
				DATE	Matériel injecté	Résultat
13 . . .	28-4-60	1 dose vaccin polyv. Iran	Rien	9-7-60	2.000.000 doses virus infectantes /souris	Rien d'anormal
14 . . .	"	"	"	"	"	"
15 . . .	"	"	"	"	"	"
16 . . .	"	"	"	"	"	"
17 . . .	"	"	"	"	2 ml sang cheval infecté de peste équine	"
18 . . .	témoin			"	"	Mort. Peste équine
19 . . .	"			"	2.000.000 doses virus infectantes /souris	Fièvre. Guérison

L'origine et la raison de ce phénomène ne nous sont pas connus.

Alexander (1935) avait signalé quelques cas analogues, mais depuis plusieurs années aucun autre cas n'a été signalé par les observateurs de l'Afrique du Sud.

Récemment, le Service vétérinaire iranien a entrepris une expérience pour contrôler la sensibilité des ânes locaux et de quelques ânes achetés auparavant à Chypre.

On a ainsi inoculé 106 ânes de race locale et 15 ânes originaires de Chypre. La température des 15 derniers animaux fut prise régulièrement pendant 30 jours; la température, dans l'ensemble est restée normale et n'a

jamais dépassé 37°,5 C. Pour ce qui concerne les ânes du Pays, on n'a signalé aucune réaction anormale.

Il y a lieu de noter que ces animaux étaient choisis dans la région où la peste équine n'avait pas été signalée. Cette observation, quoique limitée, est contradictoire avec ce qui a été observé à Chypre pendant la dernière campagne de vaccination où l'on a noté une mortalité de 5 à 10 p. 100 chez les ânes vaccinés.

#### *Contrôle de la durée de l'immunité.*

Quatre cents chevaux appartiennent à l'Institut (Service de la préparation des antitoxines) furent vaccinés le 22 mai 1960 sans aucune réaction fâcheuse.

Le sérum du cheval n° 523, choisi parmi les 400 chevaux précédents fut examiné par la méthode de fixation du complément, en vue de contrôler la teneur en anticorps, à deux reprises, le 22 décembre 1960 et le 22 février 1961, c'est-à-dire 7 et 9 mois après la vaccination. Le résultat a été négatif. Le 23 février 1961, on l'injecta de dix millions de doses infectantes pour la souris du virus viscérotrope par voie intraveineuse. Le cheval témoin n° 29 reçut 5 millions de doses du même virus.

Le témoin succomba le 8<sup>e</sup> jour après l'inoculation à une forme pulmonaire de la maladie. La température du cheval n° 523 a été prise également pendant 38 jours et rien d'anormal n'a été observé. Le sang de ce cheval a été prélevé le 8<sup>e</sup> jour après l'inoculation du virus virulent; inoculé aux souris, on n'a pas pu isoler le virus.

Il est à noter que ce cheval est un producteur du sérum qui a été saigné à plusieurs reprises pendant les 9 derniers mois.

On a déjà montré qu'un cheval peut être immun à l'égard du virus de la peste équine, alors que son sérum ne montre aucun anticorps neutralisant (Mc Intosh, 1956).

\*  
\*   \*  
\*

### CONCLUSIONS

1. La peste équine, connue, comme une maladie africaine, peut menacer et infecter d'autres Pays indemnes de cette maladie et causer des dégâts fort considérables.

L'épizootie de 1959-1960 du Proche-Orient, exemple frappant à cet

égard, a causé des pertes (20 à 90 p. 100 de la mortalité selon les régions) impressionnantes.

2. Un aperçu général de la maladie est reproduit.

3. L'épizootie récente de peste équine au Proche-Orient, notamment en Iran, est décrite.

4. Plusieurs souches de virus sont isolées pour les études ultérieures.

5. Le virus isolé du sang d'un cheval du Pakistan a subi 72 passages intracérébraux sur la souris; un autre virus, isolé en Iran, en est à son 62<sup>e</sup> passage; le 50<sup>e</sup> passage du virus Pakistan, éprouvé vis-à-vis du virus viscérotrope local sur les chevaux, s'est montré satisfaisant.

Ce virus a acquis le caractère neurotrope et a perdu sa virulence tout en gardant son caractère antigénique. Il est néanmoins utile et recommandable de continuer ces passages et d'effectuer des épreuves ultérieures comparatives.

6. La technique de la préparation du vaccin formolé saponiné est donnée.

7. Plus d'un million de doses de vaccin neurotrope polyvalent ont été préparées selon la technique décrite par Alexander et coll. à l'Institut Razi et ont servi à inoculer des milliers de chevaux et de mulets en Iran et dans d'autres Pays.

8. La réaction consécutive à la vaccination, parmi les chevaux, les mulets et les ânes, tout au moins en Iran, n'est pas sévère. Partout où la vaccination a été effectuée sous une stricte surveillance vétérinaire, nous n'avons noté aucune réaction fâcheuse.

9. Le vaccin neurotrope reste le seul moyen vraiment efficace dans la lutte contre la peste équine. La vaccination doit être continuée, même après la fin de l'épizootie, au moins pendant deux années.

10. Une étude poussée des vecteurs du virus de la peste équine et des réservoirs possibles est très souhaitable.

\*

\* \*

## REMERCIEMENTS

Je dois remercier le Docteur R. A. Alexander et coll. pour l'intérêt qu'ils ont toujours montré à faciliter notre tâche dans l'étude de la peste équine et de la préparation du vaccin neurotrope polyvalent.

Les renseignements fournis et l'aide apportée par mon ami et collègue le Docteur M. Kaweh, Directeur général des Services vétérinaires de l'Iran, nous ont été très précieux.

La collaboration des Docteurs F. H. Olvey, de l'I.C.A. Iran, et N. Siadat au point de vue de l'étude épizootologique nous a été très utile.

L'assiduité et l'intérêt apportés par mes collègues de l'Institut Razi, notamment les Docteurs H. Ramyar, A. Hazrati, M. Taslimi, K. Khalili, M. Hessami et M. Talachian, en conduisant les expériences nécessaires et en préparant une quantité considérable du vaccin, m'ont facilité énormément la préparation de ce rapport. Je les en remercie bien vivement.

\*  
\* \* \*

## RÉSUMÉ

Une analyse générale de la répartition de la peste équine dans différentes régions du continent africain et du Proche-Orient, avant la dernière épizootie survenue dans ce Pays, est présentée au début de ce rapport. Bien que l'Afrique du Sud, de l'Est et l'Afrique Centrale soient considérées comme étant les régions naturelles de l'infection, des foyers ont été également signalés dans d'autres régions, notamment en Egypte, en Palestine, en Syrie, au Liban, en Transjordanie et la maladie s'est propagée vers l'Ethiopie et le Soudan.

La peste équine est connue en Afrique du Sud depuis près d'un siècle et l'on sait, depuis une soixantaine d'années, que l'agent causal en est un virus filtrable.

L'infection ne se transmet pas directement, par voie naturelle, d'un cheval infecté à un cheval sain. Les arthropodes piqueurs, et plus particulièrement les espèces nocturnes, jouent un rôle important dans sa transmission: jusqu'à présent, seuls les insectes du genre *Culicoides* ont été découverts comme étant les vecteurs du virus. Il reste, toutefois, des recherches à faire sur les réservoirs de l'infection dans les régions où la maladie persiste d'une saison à l'autre.

Les chevaux sont généralement les animaux les plus réceptifs, tandis que les mulets le sont moins et que les ânes, du moins dans certaines régions, y sont réfractaires.

La maladie apparaît sous quatre formes différentes :

- a) fébrile ou bénigne;
- b) pulmonaire ou suraiguë;
- c) cardiaque ou œdémateuse;
- d) mixte;

Cette dernière forme est rarement observée du vivant des animaux, les lésions étant trouvées lors des examens nécropsiques. L'Auteur fait alors

la description des symptômes qui accompagnent ces différentes formes.

Lorsque la peste équine survient dans une région indemne, elle risque d'être confondue, du point de vue clinique, avec d'autres maladies telles que la fièvre charbonneuse et la nuttalirose; des procédés de laboratoire, notamment l'inoculation, dans le cerveau de souris, du sang provenant de cas suspects et l'épreuve de déviation du complément sont alors nécessaires à l'établissement d'un diagnostic.

L'Auteur retrace, ensuite, l'histoire et l'évolution des méthodes d'immunisation qui ont été suivies depuis la méthode d'injection simultanée de sérum et de virus, utilisée à l'origine sur les mulets en Afrique du Sud, jusqu'à la vaccination au moyen du virus neurotrope polyvalent. Il mentionne également la pluralité des souches du virus ainsi que les divers travaux, effectués en Afrique du Sud, sur les différences antigéniques qui existent entre les souches du même type, différences qui peuvent expliquer certains échecs survenus dans l'immunité des chevaux lors de la vaccination systématique.

De nombreuses références à des articles publiés en Afrique du Sud sont citées tout au long de cette section générale.

La partie principale du rapport traite de la dernière épizootie de peste équine survenue au Proche-Orient, l'introduction à cette section ayant été consacrée aux foyers précédemment apparus en 1943-1944 en Egypte et en Palestine.

A propos de cette dernière épizootie (1959-1960), l'Auteur rappelle brièvement les différents foyers de la maladie signalés au Pakistan, en Afghanistan, en Iraq, en Turquie, en Syrie, à Chypre, en Inde, au Liban et en Jordanie, certains renseignements ayant été fournis par la Conférence O.I.E.-F.A.O., tenue à Paris en janvier 1961, ou extraits des Notes d'Information publiées périodiquement par l'Office International des Epizooties à Paris. La maladie en Iran, notamment les divers aspects de sa prophylaxie et plus particulièrement la vaccination, est retracée de façon détaillée.

En Afghanistan, la maladie est apparue, en automne 1959, parmi les chevaux de l'Armée; elle s'est ensuite propagée à d'autres régions. Malheureusement, le diagnostic de la peste équine ne fut pas aussitôt établi et, lorsqu'il le fut, on eut recours à des insecticides et les chevaux furent maintenus, pendant la nuit, dans des écuries situées dans les régions les plus élevées. Au total, 1.000 chevaux succombèrent. Environ 27.000 doses de vaccin polyvalent furent utilisées et, grâce au concours de la F.A.O., la production locale de vaccin est actuellement envisagée.

La maladie est apparue à *Chypre* en septembre 1960, puis elle s'étendit à d'autres régions. Le vaccin neurotrope polyvalent provenant d'Iran fut

utilisé avec succès pour les chevaux et les mulets: après vaccination, de nombreux chevaux présentèrent des symptômes fébriles et d'autres symptômes généraux et les mulets, des symptômes nerveux. Environ 12.000 ânes furent vaccinés dans un seul district et 5 p. 100 d'entre eux succombèrent à des réactions consécutives à la vaccination.

C'est en avril 1960 que la peste équine fit sa première apparition en *Inde* où elle se propagea rapidement. Jusqu'en décembre 1960, 17.845 chevaux succombèrent, soit 91,37 p. 100 des animaux infectés. Tous les mulets et tous les ânes atteints périrent. On utilisa environ 80.000 doses de vaccin neurotrope polyvalent provenant d'Iran et d'Afrique du Sud. Certaines réactions consécutives à la vaccination furent sévères, notamment celles qui se manifestèrent chez les animaux affaiblis.

L'épizootie qui a débuté en *Iraq* en avril-mai 1960 et qui a provoqué la mort de 12.360 animaux sur un total de 13.572 animaux infectés fut enrayerée grâce à l'utilisation de vaccin provenant d'Afrique du Sud.

En octobre 1960, la peste équine fut signalée dans la région de la Mer Morte, en *Jordanie*: jusqu'en janvier 1961, on enregistra 129 animaux infectés et 100 morts. Une campagne de vaccination, utilisant le vaccin provenant d'Afrique du Sud, a été entreprise.

On signala, en octobre 1960, quelques cas de peste équine au *Liban* et l'on procéda aussitôt à la vaccination. On n'enregistra aucune réaction post-vaccinale sévère. La maladie se déclara chez quelques animaux non vaccinés qui furent abattus.

En septembre 1959, la peste équine apparut au *Pakistan*, près de la frontière afghane et elle se propagea rapidement. Environ 4.000 chevaux succombèrent ou furent abattus avant la régression de la maladie durant les mois d'hiver. Une nouvelle épizootie se déclara en mars 1960 et, en juillet, on constata 191 foyers. La vaccination fut effectuée au moyen du vaccin d'Afrique du Sud et d'Iran. Quelques réactions post-vaccinales sévères provoquèrent la mort de chevaux, de mulets et d'ânes.

En 1960, aucun cas de peste équine ne fut signalé en *Arabie Séoudite*.

En mai 1960, la maladie apparut en *Turquie*, à la frontière Iraq-Turquie, d'où elle se propagea vers le sud-est du Pays. En 5 mois, 28 des 67 provinces furent infectées. Sur un cheptel de 1 million 300.000 chevaux, 172.000 mulets et 2 millions d'ânes, environ 25.000 animaux succombèrent. 340.000 animaux furent vaccinés avec le vaccin formolé de rate de cheval, tandis que les chevaux de race, les chevaux de l'Armée et les mulets reçurent le vaccin neurotrope polyvalent provenant d'Afrique du Sud. La maladie a régressé et des mesures ont été prises pour préparer le vaccin polyvalent sur place.

Dans la *Province Syrienne* de la République Arabe Unie, la maladie se déclara en mai 1960 et elle s'est étendue à tout le Pays. Environ 4.677 animaux succombèrent avant la fin de l'épizootie en décembre 1960. Près de 200.000 chevaux et mulets furent vaccinés avec le vaccin neurotrope polyvalent d'Afrique du Sud et d'Iran.

C'est en automne 1959 qu'apparut, en Iran, parmi les chevaux, une maladie meurtrière dont la cause resta indéterminée. Cette maladie s'est apparemment arrêtée durant l'hiver, mais, au printemps 1960, elle réapparut et provoqua de lourdes pertes. Le diagnostic de la peste équine fut établi à partir de prélèvements de sang envoyés au Laboratoire d'Onderstepoort, en Afrique du Sud.

L'évolution de la maladie en Iran est décrite de façon détaillée dans le rapport. Il est probable que la maladie s'est introduite dans le Pays par le sud-est et également par la région qui borde le golfe Persique, à la suite de l'entrée dans le Pays de chevaux infectés. Le nomadisme, couramment pratiqué par la population, a grandement contribué à sa propagation en Iran. On observa que les chevaux sont les animaux les plus réceptifs à la maladie, tandis que les ânes en sont rarement atteints. Les chiens peuvent être atteints de peste équine après consommation de viande des chevaux infectés.

Les symptômes et les lésions observés en Iran ressemblent très fortement aux symptômes et aux lésions généralement constatés. Environ 12.930 animaux succombèrent, le taux de mortalité variant entre 20 et 70 p. 100 des animaux infectés dans les différentes régions. Il est possible que ce pourcentage soit encore plus élevé.

Les mesures de prophylaxie furent les suivantes: restriction du mouvement des chevaux dans les régions non infectées; utilisation d'insecticides dans toute la mesure du possible; maintien des chevaux, pendant la nuit, dans les écuries; utilisation du vaccin formolé de rate de cheval, produit dans trois centres en Iran; enfin, immunisation des chevaux et des mulets avec le vaccin neurotrope polyvalent produit à l'Institut Razi, en Iran. Cette immunisation fut réalisée grâce au travail de 90 équipes motorisées, sous surveillance vétérinaire.

En raison de la pluralité des souches du virus au point de vue antigénique, il est essentiel d'isoler, lors d'une épizootie, de nombreuses souches afin, notamment, de les incorporer dans le vaccin polyvalent. En Iran, 117 échantillons de sang prélevés sur des chevaux, des mulets et des ânes furent examinés et 42 souches de virus furent isolées et conservées pour les recherches futures.

On applique, en Iran, la technique d'isolement du virus par injection

dans le cerveau de souris telle qu'elle est utilisée au Laboratoire d'Onderstepoort. Les types du virus actuellement isolés en Iran ne sont pas encore déterminés.

Le virus du Pakistan (souche Peshawar), isolé par le Laboratoire d'Onderstepoort, paraît être très proche, du point de vue antigénique, du type 6. A son arrivée en Iran, ce virus avait déjà subi 18 passages en série sur souris; après le 50<sup>e</sup> passage, il fut injecté à 3 chevaux réceptifs. Aucune réaction générale ne se manifesta et les animaux subirent avec succès l'inoculation d'épreuve, tandis que l'animal témoin succomba. Les passages en série, de ce virus, sur cerveau de souris ont été continués jusqu'au 72<sup>e</sup> passage et l'on pense aller jusqu'au 75<sup>e</sup>. Une souche du virus, isolée en Iran, a atteint son 62<sup>e</sup> passage sur cerveau de souris.

Le vaccin formolé saponiné fut préparé en Iran à partir de rates de chevaux naturellement infectés et il fut utilisé dès le début de l'épizootie. Trois laboratoires furent spécialement équipés à cet effet. La préparation du vaccin ainsi que le contrôle de son innocuité et de son efficacité sont décrits de façon détaillée dans le rapport. Bien que l'innocuité du vaccin à l'égard des chevaux ne soit pas entièrement satisfaisante, il fut préparé et utilisé en grande quantité en Iran.

Mais il fut remplacé, par la suite, par le vaccin neurotrope polyvalent lorsque les sept souches du virus, utilisées au Laboratoire d'Onderstepoort, furent reçues en Iran. La préparation du vaccin, à l'aide de ces sept souches, commença à l'Institut Razi; en juin 1960 et en mars 1961, plus d'un million de doses avaient été préparées et 98.000 souris avaient été utilisées.

L'Auteur présente, dans son rapport, la description complète des différentes phases de la préparation de ce vaccin neurotrope polyvalent, ainsi que des épreuves d'efficacité et d'innocuité auxquelles il a été soumis. Finalement, le vaccin est un produit lyophilisé. Certaines des épreuves d'efficacité ont été effectuées à l'Institut Razi avec la collaboration du Docteur Howell, du Laboratoire d'Onderstepoort, qui était alors chargé d'un cours d'entraînement organisé, selon le désir de la F.A.O., à l'Institut et où étaient présents des vétérinaires d'Afghanistan, du Pakistan, d'Inde, d'Iraq, d'Iran et de Turquie.

Ce vaccin neurotrope polyvalent, préparé en Iran, possède des qualités antigéniques très satisfaisantes et il a été utilisé avec succès sur une grande échelle en Iran ainsi que dans quelques autres Pays.

Quelques expériences ont été effectuées en Iran pour contrôler la sensibilité des ânes à ce vaccin, étant donnés les résultats désastreux qui avaient été signalés à Chypre. Des ânes de race locale et des ânes importés de Chypre furent inoculés: aucune réaction post-vaccinale importante ne

fut observée, contrairement à ce qui fut constaté à Chypre où 5 à 10 p. 100 des ânes vaccinés succombèrent.

Afin de contrôler la durée de l'immunité consécutive à l'injection du vaccin neurotrope polyvalent, le sérum sanguin d'un cheval, qui avait été vacciné une fois 9 mois auparavant, fut soumis à l'épreuve de déviation du complément. Le résultat fut négatif et l'on ne put constater la présence des anticorps spécifiques. Toutefois, le cheval résista à l'inoculation du virus de la peste équine, tandis qu'un cheval témoin succomba en 8 jours. On a déjà montré en Afrique du Sud qu'un cheval peut être immun à l'égard du virus de la peste équine, bien que son sérum ne contienne apparemment aucun anticorps neutralisant.

En conclusion, l'Auteur signale que partout où la vaccination au moyen de vaccin neurotrope polyvalent a été effectuée sous une stricte surveillance vétérinaire, aucune réaction fâcheuse n'a été observée; le vaccin neurotrope polyvalent est le seul moyen efficace de lutte contre la peste équine et la vaccination devrait être poursuivie pendant au moins 2 ans après la fin d'une épizootie de peste équine.

Le rapport contient 28 références à des articles publiés sur la peste équine.

## RESUMEN

Al principio de esta ponencia, se hace un examen general de la distribución de la peste equina en diferentes regiones del continente africano y Cercano Oriente, antes de la última epizootia aparecida en este País. Aunque el Africa del Sur, del Este y Central, sean consideradas como las regiones naturales de la infección, se han señalado también focos en otras regiones, especialmente en Egipto, Palestina, Siria, Libano, Transjordania, habiéndose propagado la enfermedad hacia Etiopia y el Sudán.

Hace ya más de un siglo que es conocida la peste equina en el Africa del Sur y se sabe, desde hace unos sesenta años, que el agente causal es un virus filtrable.

La infección no se transmite directamente, por vía natural, de un caballo infectado a un caballo sano. En su transmisión, desempeñan un papel importante los artrópodos picadores, y particularmente las especies nocturnas: hasta ahora, sólo los insectos del género *Culicoides* se han descubierto como los vectores del virus. Sin embargo, quedan investigaciones por hacer sobre los reservorios de la infección en las regiones en que persiste la enfermedad de una estación a otra.

Los caballos son generalmente los animales más receptibles, mientras

que los mulos lo son menos, y que los asnos, por lo menos en ciertas regiones, son refractarios.

Aparece la enfermedad bajo cuatro formas diferentes:

- a) febril o benigna;
- b) pulmonar o sobreaguda;
- c) cardíaca o edematosa;
- d) mixta;

Esta última forma se observa raramente sobre los animales vivos, se encuentran las lesiones en los análisis necrópsicos. El Autor hace una descripción de los síntomas que acompañan estas formas diferentes.

Cuando aparece la peste equina en una región indemne, existe el peligro de que se la confunda, desde el punto de vista clínico, con otras enfermedades como el carbunco bacteridiano y la nutaliosis; entonces se hacen necesarios para el establecimiento de un diagnóstico, procesos de laboratorio, principalmente la inoculación en el cerebro de ratón de la sangre procedente de los casos sospechosos y la prueba de desviación del complemento.

El Autor hace después la historia y la evolución de los métodos de inmunización que se han seguido desde el método de la inyección simultánea de suero y de virus, empleada al principio en los mulos de Africa del Sur, hasta la vacunación por medio del virus neurótrofo polivalente. Menciona también la pluralidad de cepas del virus, así como los diversos trabajos, efectuados en Africa del Sur, sobre las diferencias antigénicas que existen entre las cepas de un mismo tipo, las cuales pueden explicar ciertos fracasos aparecidos en la inmunidad de los caballos en el momento de la vacunación sistemática.

A lo largo de esta sección general, se citan numerosas referencias de los artículos publicados en Africa del Sur.

La parte principal del informe trata de la última epizootia de peste equina aparecida en el Cercano Oriente, habiéndose consagrado la introducción de esta sección a los brotes anteriormente aparecidos en 1943-1944 en Egipto y Palestina.

A propósito de esta última epizootia (1959-1960), el Autor recuerda brevemente los diferentes focos de la enfermedad señalados en Pakistán, Afganistán, Iraq, Turquía, Siria, Chipre, India, Líbano y Jordania, con ciertos datos proporcionados por la Conferencia O.I.E.-F.A.O., celebrada en París en enero de 1961, o extraídos de las Notas de Información publicadas periódicamente por la Oficina Internacional de Epizootias en París. Se expone de manera detallada la enfermedad en Irán, en lo que se refiere a los diversos aspectos de su profilaxis y especialmente a la vacunación.

En *Afganistán*, apareció la enfermedad en el otoño de 1959, entre los caballos del ejército; se ha propagado después a otras regiones. Desafortunadamente, no se estableció enseguida el diagnóstico de la peste equina, y cuando se estableció, se recurrió a insecticidas y los caballos fueron mantenidos, durante la noche, en cuadras situadas en las partes más elevadas. En total, sucumbieron 1.000 caballos. Se utilizaron 27.000 dosis aproximadamente de vacuna polivalente, y gracias al concurso de la F.A.O., se tiene en proyecto actualmente la producción local de vacuna.

La enfermedad apareció en *Chipre* en septiembre de 1960, extendiéndose después a otras regiones. La vacuna neurótropa polivalente que procedía de Irán se utilizó con éxito para los caballos y mulos: después de la vacunación, numerosos caballos presentaron síntomas febriles y otros síntomas generales, y los mulos, síntomas nerviosis. Aproximadamente 12.000 asnos fueron vacunados en un solo distrito y el 5 p. 100 de ellos sucumbieron a reacciones consecutivas a la vacunación.

En abril de 1960 fue cuando la peste equina hizo su primera aparición en *India* donde se propagó rápidamente. Hasta diciembre de 1960, sucumbieron 17.845 caballos, o sea el 91,37 p. 100 de los animales infectados. Perecieron todos los mulos y asnos atacados. Se utilizaron aproximadamente 80.000 dosis de vacuna neurótropa polivalente procedente de Irán y de África del Sur. Ciertas reacciones consecutivas a la vacunación fueron severas, particularmente las que se manifestaron en los animales debilitados.

La epizootia que empezó en *Iraq* en abril-mayo de 1960 y que provocó la muerte de 12.360 animales sobre un total de 13.572 animales infectados, fue contenida gracias al empleo de vacuna procedente de África del Sur.

En octubre de 1960, la peste equina fue señalada en la región del Mar Muerto en *Jordania*: hasta el mes de enero de 1961, se registraron 129 animales infectados y 100 muertos. Se ha emprendido una campaña de vacunación, que utiliza la vacuna procedente de África del Sur.

En septiembre de 1959, apareció la peste equina en *Pakistán*, señalados en *Líbano* y enseguida se procedió a la vacunación. No se registró ninguna reacción postvacunal severa. La enfermedad se declaró en algunos animales no vacunados que fueron sacrificados.

En septiembre de 1959, apareció la peste equina en *Pakistan*, cerca de la frontera afgana, y se propagó rápidamente. Alrededor de 4.000 caballos sucumbieron o fueron matados antes de la regresión de la enfermedad durante los meses de invierno. Se declaró una nueva epizootia en marzo de 1960, y en julio se constataron 191 focos. Se efectuó la vacunación por medio de la vacuna de África del Sur y de Irán. Algunas reacciones postvacunales severas provocaron la muerte de caballos, mulos y asnos.

En 1960, ningún caso de peste equina fué señalado en el *Arabia Saudi*.

En mayo de 1960, apareció la enfermedad en *Turquía*, en la frontera de Iraq con Turquía, de donde se propagó hacia el Suroeste del País. En 5 meses, 28 de las 67 provincias fueron infectadas. Sobre una población de 1.300.000 caballos, 172.000 mulos y 2.000.000 de asnos, sucumbieron alrededor de 25.000 animales. 340.000 animales fueron vacunados con la vacuna formolada de bazo de caballo, mientras que los caballos de raza, los caballos del ejército y los mulos recibieron la vacuna neurótropa polivalente procedente de Africa del Sur. La enfermedad ha regresado y medidas han sido tomadas para preparar la vacuna polivalente en el mismo lugar.

En la *Provincia Siria* de la República Arabe Unida, la enfermedad se declaró en mayo de 1960 y se extendió a todo el País. Aproximadamente 4.677 animales sucumbieron antes del fin de la epizootia en diciembre de 1960. Cerca de 200.000 caballos y mulos fueron vacunados con la vacuna neurótropa polivalente de Africa del Sur y de Irán.

En el otoño de 1959 apareció, en *Irán*, entre los caballos, una enfermedad mortífera cuya causa se quedó sin determinar. Aparentemente, se paró la enfermedad durante el invierno, pero en la primavera de 1960, volvió a aparecer y provocó graves pérdidas. Se estableció el diagnóstico de la peste equina a partir de muestras de sangre enviadas al Laboratorio de Onderstepoort, en Africa del Sur.

La evolución de la enfermedad en Irán se describe de manera detallada en la ponencia. Es probable que la enfermedad se introdujera en el País por el Suroeste y también por la región que orilla el Golfo Pérsico, a consecuencia de la entrada en el País de caballos infectados. El nomadismo, corrientemente practicado por la población, contribuyó grandemente a su propagación en Irán. Se observó que los caballos son los animales más receptibles a la enfermedad, mientras que los asnos raras veces son atacados. Los perros pueden ser atacados de peste equina después de haber consumido carne de caballos infectados.

Los síntomas y lesiones observados en Irán se parecen mucho a los generalmente constatados. Alrededor de 12.930 animales sucumbieron, oscilando el índice de mortalidad del 20 al 70 p. 100 de los animales infectados en las diversas regiones. Es posible que este índice sea todavía más elevado.

Las medidas de profilaxis fueron las siguientes: restricción del movimiento de los caballos en las regiones no infectadas; utilización de insecticidas en toda la medida de lo posible; mantenimiento de los caballos, durante la noche, en las cuadras; empleo de la vacuna formolada de bazo de caballo, producida en tres Centros de Irán; y finalmente, inmunización de los caballos y mulos con la vacuna neurótropa polivalente producida en el Instituto Razi,

en Irán. Esta inmunización fué realizada gracias al trabajo de 90 equipos motorizados, bajo vigilancia veterinaria.

Debido a la pluralidad de las cepas del virus desde el punto de vista antigénico, es esencial aislar, en el momento de una epizootia, numerosas cepas con el fin principal de incorporarlas en la vacuna polivalente. En Irán, 117 muestras de sangre tomadas de caballos, mulos y asnos fueron examinadas y 42 cepas de virus fueron aisladas y conservadas para investigaciones futuras.

Se aplica, en Irán, la técnica de aislamiento del virus por inyección en el cerebro de ratón tal como se utiliza en el Laboratorio de Onderstepoort. Los tipos del virus actualmente aislados en Irán no están aún determinados.

El virus de Pakistán (cepa Peshawar) aislado por el Laboratorio de Onderstepoort, parece ser muy próximo, desde el punto de vista antigénico, al tipo 6. A su llegada a Irán, este virus había sufrido ya 18 pases en serie sobre ratones; después del pase 50, fué inyectado a tres caballos receptibles. No se manifestó ninguna reacción general y los animales recibieron con éxito la inoculación de prueba mientras que sucumbió el animal testigo. Los pases en serie de este virus sobre cerebro de ratón se han continuado hasta el pase 72 y se piensa ir hasta el 75. Una cepa del virus, aislada en Irán, alcanzó el pase 62 en cerebro de ratón.

La vacuna formolada saponinada fué preparada en Irán a partir de bazo de caballos naturalmente infeclados y fué utilizada al mismo principio de la epizootia. Se equiparon especialmente para este trabajo tres laboratorios. Se describe de manera detallada en este informe la preparación de la vacuna, así como el control de su inocuidad y eficacia. Aunque la inocuidad de la vacuna en relación a los caballos no sea enteramente satisfactoria, fué preparada y utilizada en gran cantidad en Irán.

Pero fué sustituida después por la vacuna neurótropa polivalente cuando se recibieron en Irán las siete cepas del virus, utilizadas en el Laboratorio de Onderstepoort. La preparación de la vacuna, con ayuda de estas siete cepas, comenzó en el Instituto Razi en junio de 1960 y en marzo de 1961, habían sido ya preparadas más de un millón de dosis y habían sido utilizados 98.000 ratones.

El Autor presenta, en su informe, la descripción completa de las diferentes fases de la preparación de esta vacuna neurótropa polivalente así como pruebas de eficacia y de inocuidad a las cuales ha sido sometida. Finalmente, la vacuna es un producto liofilizado. Han sido efectuadas algunas de las pruebas de eficacia en el Instituto Razi con la colaboración del Dr. Howell, del Laboratorio de Onderstepoort, el cual estaba entonces encargado de un cursillo de perfeccionamiento organizado, según el deseo de la F.A.O., en el Instituto y donde estaban presentes Veterinarios de Afganistán, Pakistán,

India, Iraq, Irán y Turquía.

Esta vacuna neurótropa polivalente, preparada en Irán, posee cualidades antígenas muy satisfactorias y ha sido utilizada con éxito en gran escala en Irán así como en algunos otros Países.

Han sido efectuadas algunas experiencias, en Irán, para controlar la sensibilidad de los asnos a esta vacuna, dados los resultados desastrosos que habían sido señalados en Chipre. Fueron inoculados asnos de raza local y asnos importados de Chipre: no fué observada ninguna reacción postvacunal importante, contrariamente a lo que fué constatado en Chipre donde sucumbieron del 5 al 10 p. 100 de los asnos vacunados.

A fin de controlar la duración de la inmunidad consecutiva a la inyección de la vacuna neurótropa polivalente, fué sometido a la prueba de desviación del complemento el suero sanguíneo de un caballo que había sido vacunado una vez hacía unos 9 meses. El resultado fué negativo y no se pudo constatar la presencia de anticuerpos específicos. Sin embargo el caballo resistió a la inoculación del virus de la peste equina, mientras que un caballo testigo sucumbió en 8 días. Se ha mostrado ya en Africa del Sur que un caballo puede estar inmune con relación al virus de la peste equina, aunque su suero no contenga aparentemente ningún anticuerpo neutralizante.

En conclusión, señala el Autor que donde quiera que la vacunación por medio de vacuna neurótropa polivalente haya sido efectuada bajo una estricta vigilancia veterinaria, no ha sido observada ninguna reacción desfavorable; la vacuna neurótropa polivalente es el solo medio eficaz de lucha contra la peste equina, y debería ser proseguida la vacunación al menos durante dos años después del fin de una epizootia de peste equina.

El informe contiene 28 referencias a artículos publicados sobre la peste equina.

\*  
\*   \*

## BIBLIOGRAPHIE

- ALEXANDER (R. A.) (1933). — Preliminary Note on the Infection of white mice and guinea-pigs with the virus of horse sickness. *J. S. A. V. M. A.*, vol. 4, 1, 1-9.
- ALEXANDER (R. A.) (1935). — Studies on the neurotropic virus of horse sickness. I-IV. *Onderstepoort J.*, vol 4, 2, 291-388.
- ALEXANDER (R. A.) (1936 a). — Studies on the neurotropic virus of horse sickness, V. *Onderstepoort J.*, vol. 7, 1, 11-16.

- ALEXANDER (R. A.) (1936 *b*). — The horse sickness problem in South Africa. *J. S. A. V. M. A.*, vol. 7, 4, 1-10.
- ALEXANDER (R. A.) (1938). — Studies on the neurotropic virus of horse sickness, VI. *Onderstepoort J.*, vol. 11, 1, 9-19.
- ALEXANDER (R. A.) (1948). — The 1944 epizootic of horse sickness in the Middle East. *Onderstepoort J.*, vol. 23, 1 et 2, 77-92.
- ALEXANDER (R. A.) et DU TOIT (P. J.) (1934). — The immunization of horses and mules against horse sickness by means of the neurotropic virus of mice and guinea-pigs. *Onderstepoort J.*, vol 2, 2, 375-391.
- ALEXANDER (R. A.) et VAN DE VYVER (B.) (1935). — Horse sickness field experiments with neurotropic vaccine during the season 1933-1934. *J. S. A. V. M. A.*, vol. 6, 33-38.
- ALEXANDER (R. A.), NEITZ (W. O.) et DU TOIT (P. J.) (1936). — Horse sickness. Immunization of horses and mules in the field during the season 1934-1935 with a description of the technique of preparation of polyvalent mouse neurotropic vaccine. *Onderstepoort J.*, vol. 7, 1, 17-30.
- ALEXANDER (R. A.) et MASON (J. H.) (1941). — Studies on the neurotropic virus of horse sickness, VII. *Onderstepoort J.*, vol. 16, 1 et 2, 19-32.
- BEVAN (Ll. E. W.) (1911). — The transmission of African horse sickness to the dog by feeding. *Vet. J.*, vol. 67, 402-408.
- CARPANO (M.) (1930). — La peste equina co particolare riguardo a quella osservato in Egitto e in Erytrea. *Clin. Vet.*, vol. 53, 325-341 et 471-484.
- CARPANO (M.) (1933). — I corsi d'acqua quali veicoli di Malattie infettive in Egitto. *Clin. Vet.*, vol. 56, 750-754.
- CURASSON (G.) (1942). — *Traité de Pathologie exotique vétérinaire et comparée*, t. 1, Paris Vigot Frères.
- DU TOIT (P. J.) et ALEXANDER (R. A.) (1930). — The immunization of horses against horse sickness by the use of formalized virus. *XVIIth Rept. Dir. Vet. Serv. Union S.A.*, 85-104.
- DU TOIT (P. J.), ALEXANDER (R. A.) et NEITZ (W. O.) (1933 *a*). — The immunization of horses against horse sickness by the use of formalized virus. *Onderstepoort J.*, vol. 1, 1, 25-48.
- DU TOIT (P. J.), ALEXANDER (R. A.) et NEITZ (W. O.) (1933 *b*). — The immunization of mules with formalized horse sickness virus. *Onderstepoort J.*, vol. 1, 1, 21-24.
- DU TOIT (R.) (1944). — The transmission of blue tongue and horse sickness by *Culicoides*. *Onderstepoort J.*, vol. 19, 1 et 2, 7-16.
- HENNING (M. W.) (1956). — *Animal diseases in South Africa*. South Africa : Central News Agency, Ltd.

- MC INTOSH (B. M.) (1953). — The isolation of virus in mice from cases of horse sickness in immunized horses. *Onderstepoort J.*, vol. 26, 2, 183-195.
- MC INTOSH (B. M.) (1958). — Immunological types of horse sickness virus and their significance in immunization. *Onderstepoort J.*, vol. 27, 4, 465-538.
- REED (I. J.) et MUENCH (H.) (1937). — A simple method of estimating 50 percent end points. *Am. J. Hyg.*, vol. 27, 493-497.
- THEILER (A.) (1906 c). — La piroplasmose, complication de la peste du cheval. *Rev. Gén. Méd. Vét.*, vol. 7, 178.
- THEILER (A.) (1910). — The susceptibility of the dog to African horse sickness. *J. Comp. Path. Ther.*, vol. 23, 4, 315-325.
- THEILER (A.) (1930). — African horse sickness. *Syst. in Relation to Med.*, 7, *Br. Med. Res. Council*, Londres.
- WALKER (J.) (1930). — Horse sickness. Prophylactic vaccination experiments. *Ann. Rep. Dept. Agric. Colony and Protectorate, Kenya*, 163-188.
- WALKER (J.) (1931). — Horse sickness. Prophylactic vaccination experiments. *Ann. Rep. Dept. Agric. Colony and Protectorate, Kenya*, 304-308.
- WHITWORTH (S. H.) (1929). — Memorandum of horse sickness immunization. Bull. 8D of 1929. *Dept. Agric. Colony and Protectorate, Kenya*.

**A simple and rapid method for staining blood  
and reticulocyte protozoa with  
Giemsa's stain.**

By: G. Maghami

(Razi Institute, Iran)

Giemsa is used most widely as a dye for the routine blood staining, and is especially suitable for staining blood parasites or other protozoa due to its ability for giving a greater precision and differentiation between the structures of parasites and the host cells.

The usual staining time for blood films and smears prepared from needle biopsies of organs is between 15 to 45 minutes or longer. At times, due to the bad condition of patients which requires a quick diagnosis, the staining time should be as short as possible.

In the present work a rapid technique of Giemsa staining is presented which would take approximately 2 minutes for the completion of staining. The smears prepared from blood or organs can be stained and examined in the practitioner's office for immediate diagnosis.

**Materials and method** - Instead of using ready made Giemsa's stock solutions which is sold in the market, it was found preferable to obtain Giemsa powder from well known manufacturers (Grübler's Giemsa stain powder of German origin, or BDH Standard Giemsa stain of British Drug Houses LTD, London, etc.) which were highly satisfactory and easily obtained. The procedure for preparing Giemsa's stock solution could be found in various texts (1).

**Rapid staining method:**

- 1 - Fix the dry smears by dipping them into a bath of absolutely pure methyl alcohol for one minute. Remove and allow to dry in the air.

2- Place the slides on a staining bridge which should be completely horizontal.

3 - Add enough diluted Giemsa's stain (3 drops of Giemsa stock solution for each one ml. of neutral distilled water) to cover the smears completely and heat gently until steam appears, and continue steaming for one minute. Pour off the stain of the slides and again, without washing, cover the slides with fresh diluted Giemsa stain and repeat staining by heating for one more minute.

4 - Wash with water and let stand on the end until it become dry, or dry the slides before a fan.

5 - Examine with oil immersion objective.

By this method we are able to get a very satisfactory result for staining blood protozoa of man and animals (Plasmodium, Leishmania, Trypanosoma, Spirochaetes, Babesia in cattle, sheep, and goats, Gonderia (Theileria), Anaplasma, and Koch bodies of Gonderia from needle biopsies of liver, spleen and lymph-nodes of cattle, Leptospire etc.)

#### **Summary:**

1 - A rapid staining method for blood and reticulocyte protozoa with Giemsa's stain is described.

2 - This method seems to be one of the best staining method for immediate diagnosis of blood protozoan diseases of man and animals in the practitioner's office, such as : Malaria, Spirochaetosis, Leishmaniosis, Babesiosis, Gonderiosis, Anaplasmosis and Leptospire.

#### **Acknowledgement**

I wish to express my sincere appreciation to Dr. A. Rafyi, Director General of the Razi Institute for his valuable supervision in this work.

#### **References**

(1) — M. Langeron - Précis de Microscopie, 1949, p. 610