

**La Peste Equine Africaine
(*Pestis Equorum*) (*)**

par

C. STELLMANN, H. MIRCHAMSY, H. GILBERT,

et J. SANTUCCI

INDEX

I. -- INTRODUCTION

- Historique.
- Distribution géographique.

II. -- EPIZOOTOLOGIE

1. Conditions climatiques.
2. Espèces naturellement infectées.
3. Vecteurs de la maladie
4. Réservoirs.

III. -- PATHOLOGIE

- Tableau clinique.
- Anatomo-pathologie.

IV. -- PATHOGÉNIE

- Virémie.
- Matière virulentes.

V. -- DIAGNOSTIC

- A) Clinique.
- B) Nécropsique.
- C) Différentiel.
- D) Laboratoire.

(*) Bull. Off. int. Epiz., 1967, 67 (7-8), 887-947.

1. Isolement du virus.

- Prélèvement.
- Préparation des inoculums.
- Méthodes d'isolement.
- Typage.

2. Recherche des anticorps.

VI. — PRONOSTIC

VII. — TRAITEMENT

VIII. — VIROLOGIE

A. — PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES.

1. *Action des agents physiques.*

a) Variation de température.

- 1. Action du froid.
- 2. Action de la chaleur.

b) Dessiccation et putréfaction.

c) Lyophilisation.

d) pH.

e) Radiations.

2. *Action des agents chimiques.*

- Agents de conservation et d'inactivation.
- Agents de purification.

3. *Structures et constantes physico-chimiques.*

— Dimensions et structures.

 Ultrafiltration.

 Ultracentrifugation.

 Microscopie électronique.

- Autres constantes physico-chimiques.
- Acide nucléique.

B. — PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

1. *Culture du virus.*

- Animaux.
- Cellules:

- Primaires.
- Lignée.
- Plages.
- Cycle viral et ECP.

2. *Pouvoir hémagglutinant.*

C. — MARQUEURS GÉNÉTIQUES.

D. — CLASSIFICATION VIRALE.

IX. — SÉROLOGIE

A) *Anticorps neutralisants.*

- Souris.
- Cellules:
 1. Tubes.
 2. Plages.

B) *Anticorps fixant le complément.*

C) *Anticorps inhibant l'hémagglutination.*

D) *Anticorps précipitants.*

E) *Anticorps fluorescents.*

F) *Pluralité et parenté antigénique.*

X. — PROPHYLAXIE

Considérations générales.

A. — PAYS INFECTÉS.

1. *Prophylaxie médicale.*

a) *Immunisation passive.*

- Transmission passive séro-prophylactique.
- Transmission passive colostrale.

b) *Immunisation active.*

- Séro-infection.
- Vaccination.
 - a) Vaccin inactivé.
 - b) Vaccin vivant.

1* *Vaccin neurotrope souris.*

Suites de la vaccination:

- Réaction vaccinale normale.

- Virémie vaccinale.
- Incidents et accidents.
- Durée de l'immunité.

2° *Vaccin neurotrophe culture cellulaire.*

3° *Vaccin viscérotrophe culture cellulaire.*

4° *Considérations générales
sur l'emploi des vaccins vivants.*

- a) Contrôle des vaccins.
- b) Stockage et transport.
- c) Mode d'emploi.
- d) Recommandations.
- e) Mutation virale.
- f) Interférence.

2. *Prophylaxie sanitaire.*

- a) Mesures à prendre sur le plan international.
- b) Mesures à prendre sur le plan national.

B. -- PAYS INDEMNES FAISANT L'OBJET D'UNE MENACE IMMÉDIATE.

- 1. Prophylaxie sanitaire.
- 2. Prophylaxie médicale.

C. PAYS INDEMNES FAISANT L'OBJET D'UNE MENACE LOINTAINE.

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

I. -- INTRODUCTION

La Peste équine africaine est une maladie des équidés d'origine virale. Elle peut revêtir une allure enzootique ou épizootique à cycle saisonnier. Elle entraîne parmi les populations d'animaux atteints des taux élevés de morbidité et de mortalité. Elle est transmise par des insectes vecteurs. Elle se caractérise cliniquement par des symptômes d'atteinte pulmonaire et cardiaque à caractère aigu ou subaigu.

De même que pour la Fièvre aphteuse, le virus peut se présenter sous des types antigéniques multiples.

Des monographies très documentées ont été publiées par CURASSON (15), RAFYI (81), HOWELL (36).

Synonymie.

- Peste équine africaine (sigle P.E.A.).
- African horse-sickness (en anglais).
- Pferdesterbe (en allemand).
- Peresickle (en hollandais).
- Pesta equina (en italien).
- Dunkop et Dikkop (en afrikander).

Nous mentionnons ici brièvement quelques auteurs dont le nom est attaché aux recherches sur la P.E.A. ;

M'FADYEAN, THEILER, NOCARD, SIEBERT qui précisèrent l'étiologie virale de la P.E.A. (1900-1901); THEILER qui en étudia les modalités cliniques (1900-1910); ALEXANDER à qui nous devons le vaccin vivant spécifique (1935); Mc INTOSH et HOWELL qui classèrent les diverses souches virales en 9 types sérologiques (1958-1960); MIRCHAMSY qui, le premier, adapta le virus P.E.A. à la culture cellulaire (1962).

Historique.

Le berceau de la P.E.A. est la partie méridionale de l'Afrique; en effet, depuis le XVIII^e siècle, la maladie y sévit, la plupart du temps, à l'état enzootique et, quelquefois, sous forme de flambées épizootiques évoluant apparemment selon une certaine périodicité.

Les dernières épizooties datent de 1918, 1923, 1940, 1946, 1953 (45).

De nombreuses expéditions exploratrices du Continent Africain ont vu leur effectif équin totalement décimé et, de ce fait, leur action quelque peu compromise.

Distribution géographique.

Longtemps cantonnée dans la partie méridionale de l'Afrique, la P.E.A. a parfois envahi la partie orientale de ce même Continent — Abyssinie, Soudan, Egypte (1931, 1944, 1948) — traversant de temps en temps la Mer Rouge pour atteindre la Péninsule Arabique (Yemen [1930]), puis le Moyen-Orient (Palestine [1944]). Récemment, en 1959, la P.E.A., apparue soudainement en Afghanistan, au Pakistan et en Iran, se propagea rapidement vers l'Ouest en Irak, Turquie, Jordanie, Liban et même à Chypre et vers l'Est jusqu'en Inde (13, 32, 91, 92).

En 1963, la maladie a été observée en Afrique Centrale (Tchad, Sénégal).

En automne 1965, l'Afrique du Nord était à son tour infectée (74 bis); en automne 1966, l'Espagne signalait l'apparition de la maladie sur son territoire (Circulaire épizootique mensuelle de l'O.I.E. no 238).

La Peste équine, d'africaine qu'elle était, est devenue asiatique, puis européenne. En 1961, HOWELL (36) la classait parmi les maladies animales d'avenir.

En effet, les conditions particulières de sa transmission et de sa pérennité la font, à juste titre, redouter des pays jusqu'alors indemnes (46-82).

Invariablement, l'infection est introduite par des équidés ou des insectes, porteurs de virus, dans un pays où les conditions épizootologiques favorables permettent son extension.

La maladie, installée dans un cycle «réservoir-vecteur-hôte», semble être difficile à éliminer par des mesures de prophylaxie sanitaire et médicale (36).

II. — EPIZOOTOLOGIE

1. *Conditions climatiques.*

La maladie apparaît, toujours, après des périodes de pluie abondante suivies d'une période de chaleur.

Le printemps est la saison la plus favorable; ce caractère a fait dénommer la P.E.A. la maladie de fin d'hivernage (15). Dix jours après les premières gelées, la maladie disparaît (45).

Dans les régions d'enzootie existent des enclaves indemnes, d'altitude élevée ou soumises à des vents dominants.

L'apparition de la maladie, selon une certaine périodicité, est liée à l'existence d'agents «vecteurs» et «réservoirs», dont le cycle biologique est soumis aux conditions climatiques.

2. *Espèces naturellement infectées.*

Les équidés sont les animaux naturellement sensibles à la P.E.A., mais la réceptivité des différentes espèces d'équidés est variable.

Les plus sensibles sont les chevaux, qu'ils soient arabes, barbes ou européens (15), puis les mulets et les bardots.

La réceptivité des ânes dépend également des races (91).

— *Equinus asinus africanus domesticus* d'Égypte est sensible.

— *Equinus asinus* d'Afrique du Sud l'est nettement moins.

Les zèbres sont plus ou moins sensibles, selon les races.

Dans l'épizootie du Moyen-Orient de 1959, les chevaux étaient les plus atteints (95 p. 100); les mulets résistaient mieux (50 p. 100) et les ânes étaient la plupart du temps indemnes (81).

Sur des chiens de meute, nourris avec de la viande de cheval pestique, une maladie naturelle a pu être observée et le virus de la Peste équine isolé (74, 24). Dans un des cas décrits, sur 35 chiens, 31 furent malades et 7 moururent (74).

Lors de grandes épizooties, jamais la contamination directe du chien à partir de l'équidé malade n'a pu être mise en évidence (36). Toutefois, des enquêtes sérologiques, menées pendant ces périodes, ont montré l'apparition d'anticorps neutralisants dans les sérums des populations canines et ceci selon des proportions variables allant de 1 sur 13 (43) à 9 sur 20 (83).

3. *Vecteurs de la maladie.*

La P.E.A. nécessite, pour sa transmission d'un équidé malade à un équidé sain, l'intervention d'insectes vecteurs. La contagion directe n'a pas été observée, exception faite de quelques cas de contamination *in utero* (47).

La maladie n'est propagée que durant la nuit, et la protection des équidés contre

les insectes à activité nocturne suffit à éviter leur contamination.

De nombreux genres d'arthropodes ont été incriminés dans la transmission de la P.E.A.: *Stomoxys calcitrans*, *Lyperosia minuta*, *Anopheles*, *Aedes*, *Phlebotomus*, *Simulium* (cité par 65).

Les régions d'enzootie présentent souvent des conditions climatiques plus particulièrement favorables au développement et à la prolifération des *Aedes*, *Culex* et *Muscidæ* (57).

Parmi les arthropodes vecteurs, la distinction reste à faire entre vecteurs mécaniques (agent de transmission) et vecteurs biologiques assurant la conservation du virus de la maladie, permettant sa multiplication et pouvant être, de ce fait, considérés également comme des réservoirs naturels de l'agent pathogène.

4. Réservoirs.

En l'état actuel de nos connaissances, il semble que les équidés et certains arthropodes appartenant à la catégorie des vecteurs biologiques constituent, dans la nature, les principaux réservoirs de virus (56 bis, 39 bis).

S'agissant des arthropodes, le rôle de quelques-uns a été particulièrement étudié. *Aedes aegypti* a contaminé des chevaux sains 8 jours (58) et même 19 jours (69) après un repas infectant à partir du sang d'un cheval malade. Par ailleurs, dans les mêmes conditions, le virus a été isolé sur culture de cellule 36 jours après la contamination de l'insecte (69).

Des observations analogues ont été faites sur *Anopheles stephensi* et *Culex pipiens* qui ont contaminé des chevaux dans des délais variant entre 7 jours (59), 15 et même 22 jours (65) après le repas infectant.

Une ou deux piqûres se sont révélées suffisantes pour réaliser cette transmission (65).

Des *Culicoides* capturés dans des zones d'épizootie ont été trouvés porteurs de virus P.E.A. (19) alors que les oeufs de femelles de *Rhipicephalus* et de *Hyalomma*, gorgées de sang infectieux, n'ont pas transmis la maladie (59).

Les derniers travaux d'OZAWA (65-69) font état d'une possibilité de portage, à long terme, chez les moustiques, lorsque les conditions de vie de ces derniers sont optimales. Cependant, la preuve du cycle biologique avec multiplication virale et transmission héréditaire chez ces mêmes insectes n'a pas encore été apportée.

Les observations anciennes ou récentes sur le rôle de différents vecteurs dans la transmission de la maladie ne peuvent guère justifier que la transmission mécanique du virus; en effet, les suspensions virales gardées 40 jours à 25° C ou 30 jours à 36° C ne perdent que 1 à 2 log de leur titre (55 bis).

Aussi, il est logique de croire, dans l'état de nos connaissances actuelles que, pendant les épizooties, le virus de la Peste équine se propage d'un foyer à l'autre grâce à sa résistance exceptionnelle à la chaleur. Les réservoirs de virus, durant les intervalles interépizootiques, restent cependant à être découverts.

Des recherches systématiques menées chez les ruminants, certains amphibiens et invertébrés n'ont pas permis de conclure à un rôle de réservoirs de ces différentes espèces animales (45, 83, 84).

À l'heure actuelle, en dehors du cas de l'absorption de viande pestique chez le chien le virus n'a pu être isolé directement. Seule la mise en évidence d'anticorps lors

des périodes d'épizootie a amené à se poser la question du rôle de cet animal en tant que réservoir de virus. Les travaux effectués jusqu'alors n'ont pas permis d'y répondre.

III. — PATHOLOGIE

1. TABLEAU CLINIQUE.

La symptomatologie est indépendante du type viral responsable de l'épizootie. A l'intérieur de ce même type, on peut isoler des souches plus ou moins pathogènes.

Quatre formes cliniques peuvent être décrites (36, 47, 81, 86).

L'incubation de l'infection est en moyenne de 5 à 7 jours, mais des limites extrêmes sont de 2 à 21 jours.

a) *Forme fébrile.*

Après une incubation de 3 à 5 jours, une hyperthermie avec anorexie, polypnée et tachycardie s'installe et plafonne à 41° C durant 2 à 3 jours, puis progressivement les symptômes régressent. Cette forme s'observe surtout sur les animaux résistants, tels que les ânes.

b) *Forme pulmonaire suraiguë* (Dunkop [1]).

Après une incubation assez courte, une hyperthermie brutale, pouvant dépasser 41° C, apparaît sans prodrome, accompagnée de signes d'œdème aigu du poumon: le cou est étendu, les naseaux dilatés; après quelques quintes de toux, un jetage jaunâtre et mousseux est expulsé et l'animal meurt, quelques heures après avoir présenté les premiers signes de l'infection.

C'est la forme observée après certaines inoculations expérimentales soit sur des chevaux très sensibles, soit avec des souches très virulentes. On l'observe également sur des chiens ayant consommé de la viande pestique.

c) *Forme cardiaque aiguë ou subaiguë* (Dikkop [2]).

L'incubation est relativement longue (5 à 7 jours); l'hyperthermie se prolonge durant une dizaine de jours avant l'apparition d'œdèmes localisés aux fosses supraorbitales et aux paupières et qui peuvent s'étendre vers les joues, les lèvres, la langue, l'espace inter-maxillaire et le cou. La conjonctive est subictérique.

Une dyspnée cardiaque fait suite; le pouls est rapide, dur; une stase intestinale peut provoquer quelques coliques. On observe parfois des pétéchies sur la face ventrale de la langue et un jetage jaunâtre.

L'appétit reste inchangé durant l'infection, et la mort survient après des irrégularités de la courbe thermique, par hypoxie et arrêt cardiaque, une quinzaine de jours après l'apparition des premiers symptômes.

1. Dunkop: "Tête fine" en afrikander.
2. Ultra Turrax (18/2) Labo Moderne (Paris).

Ce tableau clinique s'observe toujours lorsque les souches de virus sont hypovirulentes. Lors de la récente épizootie du Moyen-Orient, cette forme prédomina.

d) *Forme mixte.*

Elle est souvent rencontrée, l'interdépendance cœur-poumons entraînant rapidement l'évolution du tableau clinique initial vers une symptomatologie mixte à prédominance cardiaque ou pulmonaire.

e) *Complications.*

La paralysie de l'œsophage par compression peut parfois entraîner une bronchopneumonie par suite d'une fausse déglutition.

Dans certaines régions, la P.E.A. fait ressortir des affections parasitaires, telles que la Trypanosomiase et la Piroplasmose (81) Ceci peut être à l'origine de confusion possible lors d'examens de laboratoire.

2. ANATOMIE PATHOLOGIQUE (36, 47).

Selon la forme clinique, les lésions *post-mortem* seront quelque peu différentes, à prédominance pulmonaire ou cardiaque.

a) *Appareil respiratoire.*

Ont été décrits des hydrothorax et des hydropéricardes constitués de plusieurs litres de liquide séro-fibrineux.

L'œdème pulmonaire, alvéolaire et interstitiel est soit primaire d'origine inflammatoire, soit secondaire à une stase cardiaque, avec présence de liquide jaunâtre et spumeux dans la trachée.

Parfois, une bronchopneumonie peut compliquer ce tableau nécropsique.

b) *Appareil cardio-vasculaire.*

Des lésions très intenses sont observées: épocardite, endocardite, myocardite avec foyers de nécrose. La Peste équine est la seule maladie virale du cheval déterminant des lésions cardiaques aussi intenses.

Tous les endothéliums des vaisseaux sanguins sont fragilisés, ce qui provoque des petites hémorragies et suffusions dans tous les organes.

c) *Système réticulo-endothélial.*

La rate est normale ou légèrement tuméfiée, avec présence de quelques pétéchies.

Les ganglions lymphatique sont rarement hypertrophiés. La leucopénie est un signe hématologique dont l'intensité est d'un fâcheux pronostic.

d) *Appareil digestif.*

Ont été décrites des pétéchies sur la face ventrale de la langue avec bleuissement

dans le cas d'anoxie, de l'œdème péripharyngé; une gastrite hémorragique au niveau du fondus glandulaire est une des lésions les plus constantes; l'intestin est congestionné et, dans les formes cardiaques, on observe un hydropéritoine et une forte congestion hépatique avec lobulation apparente.

IV. — PATHOGÉNIE · VIRÉMIE MATIÈRES VIRULENTES

Lors de la phase d'hyperthermie, le virus, adsorbé sur les cellules sanguines (85), diffuse dans tout l'organisme, assurant ainsi une virémie.

La fragilisation des parois des capillaires entraîne une exsudation, ce qui détermine, dans les formes pulmonaires, l'œdème aigu du poumon et, dans les formes cardiaques, les hémorragies cardiaques avec foyers de nécrose.

L'insuffisance cardiaque provoque une stase sanguine dans tous les appareils, elle-même à l'origine d'œdèmes diversement localisés.

Virémie.

L'isolement du virus à partir du sang et de certains organes est fonction de la virémie (6).

Durant la phase d'hyperthermie on peut isoler le virus jusqu'au neuvième jour (83). Certains auteurs ont cité des isolements de virus à partir du sang d'animaux convalescents, 50 jours et même 96 jours après la maladie (15).

Matières virulentes.

Du fait de cette virémie, les matières virulentes sont représentées par tous les excréments, exsudats et sécrétions (86), mais ceux-ci ne peuvent constituer le support de la contagion, ce rôle étant dévolu au sang des animaux atteints, nourriture habituelle des insectes vecteurs.

V. — DIAGNOSTIC

a) DIAGNOSTIC CLINIQUE ET ÉPIZOOTOLOGIQUE.

La P.E.A. est caractérisée:

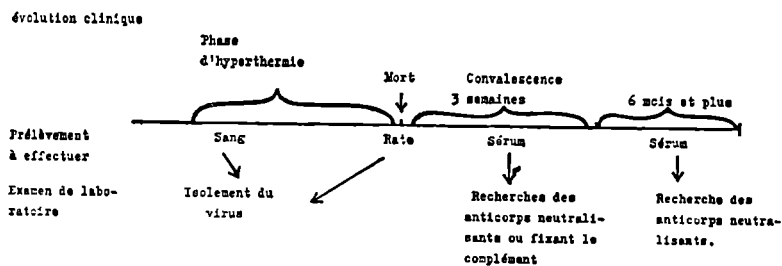
1° Par l'apparition brutale, durant une période chaude succédant à une période pluvieuse, soit d'une symptomatologie d'œdème pulmonaire, entraînant la mort en quelques heures par asphyxie, soit d'une hyperthermie accompagnée d'un œdème localisé à la face, se terminant par la mort en quelques jours par anoxie et arrêt cardiaque;

2° Par une extension rapide à la presque totalité d'un effectif.

b) DIAGNOSTIC NÉCROPSIQUE.

La P.E.A. signe sa présence soit par un hydrothorax important, à liquide fibrineux jaunâtre, associé à un œdème aigu du poumon, soit par des lésions cardiaques intenses avec hydropéricarde, associées à des œdèmes sous-cutanés diversement localisés et à des congestions des différents organes

CALENDRIER DIAGNOSTIQUE



c) DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL (15-36).

Selon les pays, certaines affections devront être différenciées de la P.E.A. Des examens de sang et un traitement spécifique permettront d'écartier l'éventualité de l'évolution de la trypanosomiase, d'une spirochétose ou d'une piroplasmose.

La Fièvre charbonneuse, par sa soudaineté, peut être confondue avec la P.E.A., mais l'hypertrophie splénique qu'elle entraîne et le caractère tellurique de sa localisation permettent de guider le clinicien.

L'évolution et l'extension lente de la Morve aiguë, avec son jetage huileux couleur de miel, lèvent le doute.

La distinction de l'Anémie infectieuse se basera sur les accès thermiques, les œdèmes sous-cutanés, surtout abdominaux, les lésions hémorragiques diverses, les exans sanguins et le myélogramme.

La Fièvre typhoïde, peu contagieuse, est caractérisée par sa conjonctive «caprine», son état de torpeur et son évolution rarement mortelle.

La Grippe équine, très contagieuse, avec des troubles bronchopulmonaires d'évolution rapide, peut être confondue avec la P.E.A. (82).

L'Athéromatose infectieuse du cheval par ses œdèmes sous-cutanés, abdominaux et tendineux, ses œdèmes pulmonaires et intestinaux est difficile à distinguer cliniquement d'avec la P.E.A. dans les régions où l'on rencontre ces deux affections (36).

Enfin, certaines intoxications chimiques ou végétales doivent être présentes à l'esprit du pathologiste (15).

d) DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE.

Le diagnostic de laboratoire est indispensable pour affirmer la présence de P.E.A. et déterminer le type antigénique exact du virus en cause. Il s'effectue par deux sortes de démarches : les unes, directes, visent à isoler le virus responsable et ensuite à le typer ; les autres, indirectes, tendent à rechercher les témoins «sérologiques» de l'infection virale.

1. Mise en évidence du virus : isolement du virus.

a) Prélèvement :

α) Sur cheval malade, à la phase d'hyperthermie.

Des prélèvements de sang, d'un volume de l'ordre de 5 à 10 ml, doivent être effectués aseptiquement selon diverses modalités:

- soit sans coagulant;
- soit en présence d'héparine à la concentration finale de 0,1 à 0,2 mg d'héparine par millilitre de sang (solution d'héparine à 0,1 p. 100 en solution saline stérile: 1 ml: sang: 9 ml);
- soit en présence de mélange OCG ⁽¹⁾.

Mélange OCG { ^
Sang { aa 5 à 10 ml.

Le choix de l'anti-coagulant utilisé pour le prélèvement de sang est d'importance capitale pour l'isolement du virus. Celui-ci, en effet, nécessite l'emploi:

- soit de cultures de cellules au sein desquelles l'héparine se comporte comme un inhibiteur du cycle viral (53);
- soit de souris inoculées par voie intra-cérébrale et pour lesquelles le mélange OCG est légèrement toxique et le citrate de soude se révèle avoir une action léthale immédiate.

β) Sur cheval mort.

Des fragments de rate doivent être prélevés en glycérine neutre à 50 p. 100

b) Préparation des inoculums.

1. Sang

- Les caillots de sang doivent être broyés sur sable stérile ou mécaniquement ⁽²⁾ en présence du sérum homologue, puis centrifugés.
- Le sang prélevé sur OCG doit être dilué au 1/2 en eau distillée stérile pour laquer les hématies, puis centrifugé.
- Le sang prélevé sur héparine peut être dilué au 1/2 en eau distillée stérile, puis centrifugé.

2. Rate.

Les fragments de rate, lavés en solution saline stérile pour éliminer la glycérine, sont broyés sur sable stérile ou mécaniquement ⁽¹⁾, puis mis en suspension à 10 ou 20 p.

1. Mélange OCG.

Phénol : 5 g.

Oxalate de K : 5 g.

Glycérine : 500 ml.

Eau distillée : 500 ml (utiliser sans stérilisation).

Les propriétés conservatrices de la glycérine et antiseptique du phénol sont mises à profit dans ce mélange et, malgré sa toxicité relative, il est recommandé par de nombreux auteurs pour l'isolement des virus de P.E.A. et de la Bluetongue. Il permet en effet de conserver le virus P.E.A. à une température inférieure à + 30° C durant au moins 8 jours.

2. Dikkop: "Grosse tête" en afrikander.

100 dans une solution isotonique de pH d'environ 7.5, contenant 100 U de pénicilline et 100 γ de streptomycine par millilitre.

Après centrifugation d'environ 3.000 tr/mn durant 20 minutes, le surnageant décanté constitue le matériel à partir duquel on recherche le virus.

c) Méthodes d'isolement.

— Sur cheval.

Une méthode onéreuse consiste à inoculer, par voie veineuse, des chevaux sûrement sensibles, ne possédant pas d'anticorps anti- peste équine, avec les prélèvements ci-dessus décrits après en avoir dûment vérifié la stérilité bactériologique.

— Sur souriceaux.

La méthode de choix pour l'isolement de virus P.E.A. est l'inoculation intra-cérébrale des prélèvements ci-dessus décrits à deux familles de souriceaux, âgés de 4 à 6 jours, à la dose de 0,025 ou 0,030 ml par souriceau.

La mortalité spécifique due au virus de la P.E.A. apparaît entre le 4^e et le 22^e jour (26, 83).

Les encéphales des souriceaux *agonisants* sont prélevés aseptiquement et, après broyage, mis en suspension à 10 p. 100 dans une solution isotonique de pH d'environ 7.5. Ces suspensions seront utilisées pour des passages successifs sur d'autres souriceaux par voie intra-cérébrale.

— Sur furet.

L'isolement de virus, à partir de chevaux vaccinés accidentellement pendant la période d'incubation de la maladie et présentant de ce fait une hyperthermie, est plus délicat par suite de l'apparition d'anticorps précoces. Dans ce cas, il est préférable d'inoculer les échantillons précédents par voie intra-cardiaque à des furets et de prélever les rates de ces derniers, après sacrifice, au moment de l'hyperthermie qui a lieu habituellement dans les 8 jours suivant l'inoculation (45).

— Sur cultures cellulaires (22).

Les isolements primaires des virus sauvages sur cellules de rein d'agneau ont été effectués par ERASMUS (22), mais aucune statistique n'a été publiée, à notre connaissance, quant à la sensibilité de cette technique.

d) Diagnostic viral et typage.

Les virus isolés seront testés par fixation du complément ou par séro-neutralisation (voir chapitre sérologie).

2. Recherche des anticorps, témoins de l'infection virale.

Sur les animaux convalescents, il est possible de tester très précocement, d'une

part, l'apparition des anticorps spécifiques par la fixation du complément, la neutralisation ou l'inhibition de l'hémagglutination sur un échantillon de sérum; d'autre part, la cinétique de ces mêmes anticorps à partir de deux échantillons de sérums prélevés à 15 ou 20 jours d'intervalle (voir chapitre sérologie).

VI. — PRONOSTIC

1. *Morbidité.*

Le taux de morbidité peut être très élevé surtout chez les chevaux (95 p. 100). A l'intérieur d'un effectif équin, il y a environ 15 cas de forme clinique pour un de la forme inapparente (83).

2. *Mortalité.*

Dans certaines épizooties, la mortalité atteint 90 p. 100 des chevaux, 50 p. 100 des mulets et 4 p. 100 des ânes (11, 81, 82).

On estime à 300.000 chevaux la perte occasionnée au Moyen-Orient par l'épizootie de P.E.A. de 1959. Dans les pays d'enzootie, les épizooties sont moins meurtrières, entraînant une mortalité de 10 p. 100 des effectifs (36).

VII — TRAITEMENT

Aucune thérapeutique spécifique n'est efficace. Une thérapeutique symptomatique peut néanmoins être appliquée, mettant en œuvre une médication tonocardiaque et vasomotrice.

VIII. — VIROLOGIE

Le caractère ultrafiltrable de l'agent causal de la P.E.A. démontré par M'FADYEAN (1900), THEILER, NOCARD, SIEBER (1901) révèle sa nature virale (cité par 36, 81).

Neuf types antigéniques du virus de la Peste équine ont été recensés jusqu'à ce jour.

A l'intérieur d'un même type existent de multiples souches de pouvoir pathogène variable. Nous distinguerons:

1° Les souches pathogènes isolées dans la nature de cas de P.E. clinique, ce sont les souches pantropes et viscérotropes;

2° Les souches apathogènes obtenues à partir du virus sauvage selon différentes techniques.

a) *Passage sur souris par voie intra-cérébrale.*

Le virus sauvage passé sur souris par voie intra-cérébrale perd son pouvoir pathogène pour les équidés et acquiert un neurotropisme, surtout marqué pour la souris, en conservant ses propriétés immunogènes pour les équidés. La souche ainsi obtenue est dénommée virus-vaccin-neurotrophe-souris.

b) *Passage sur souris par voie intra-cérébrale
puis sur cultures cellulaires.*

Le virus-neurotrophe-souris, défini au paragraphe précédent, subit plusieurs passages sur cultures cellulaires. Il conserve ses propriétés vaccinales pour les épididymes. Il sera ultérieurement désigné sous le nom de virus-vaccin-neurotrophe-culture cellulaire.

c) *Passage direct sur culture cellulaire.*

Le virus sauvage, passé directement sur culture cellulaire, perd son pouvoir pathogène pour les épididymes mais conserve vis-à-vis de ceux-ci son pouvoir immunogène. Nous le désignerons sous le nom de virus-vaccin-culture cellulaire.

A. — PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DU VIRUS

1. ACTION DES AGENTS PHYSIQUES.

a) *Action des variations de température.*

1. *Froid.*

La conservation du virus à basse température est fonction du diluant utilisé.

— Virus sauvage viscérotrope.

Le sang infectieux conservé dans le mélange OCG est stable durant des mois à + 4° C, mais moins stable à 30° C (86).

— Virus-vaccin-neurotrophe-souris.

A + 4° C, le virus dilué dans du sérum à 10 p. 100 ne subit pas de perte de titre durant 6 mois (4). La congélation des cerveaux de souris infectées permet la conservation du virus durant des mois, mais détruit le virus contenu dans des suspensions de cerveaux en NaCl à 9 p. 1.000.

La congélation à - 70° C de suspensions de cerveaux en tampon lactose peptone (1) ne détruit pas le virus (21, 45).

— Virus-vaccin-neurotrophe-culture cellulaire.

A + 4° C, le virus est stable durant au moins 90 jours en présence de sérum.

A - 25° C, le virus subit une baisse de titre de 4 log en 48 heures (64), mais il est stable durant au moins 1 mois lorsqu'il est dilué dans le tampon lactose-peptone (1).

A - 40° C, le titre du virus décroît de 2 à 3 log en 4 mois, sauf lorsqu'il est dilué en gélatine à 1 p. 100 ou en sucrose à 5 p. 100 (52).

1. Lactose 5 p. 100, peptone 1 p. 100, tampon phosphate M/50, pH: 7.2-7.4.

2. Chaleur.

Selon les conditions expérimentales employées par les différents auteurs, les critères de thermostabilité sont apparemment très variables.

Le virus sauvage viscérotrope est détruit à 70° C après 5 minutes et à 50° C après 10 minutes, alors qu'il est stable à 45° C durant 6 jours (86).

Le virus-vaccin-neurotrophe-souris est détruit à 60° C en 5 à 15 minutes selon les auteurs (4, 19), en plus de 15 minutes à 55° C (4, 36).

A + 25° C, il subit une perte de 2 log en présence de 5 p. 100 de sérum de veau après 40 jours (55 *bis*).

A + 37° C, le virus-vaccin-neurotrophe-culture cellulaire subit une perte de titre de:

-- 2,5 log en 24 heures en absence de sérum;

-- 0,8 log en 24 heures en présence de 1 p. 100 de sérum (28);

-- 1,7 log en 24 jours en tampon lactose-peptone (64);

— 6 log en 40 jours en présence de 5 p. 100 de sérum de veau (55 *bis*).

b) Action de la dessiccation et de la putréfaction.

La dessiccation et la putréfaction n'ont aucune action sur le virus.

c) Lyophilisation.

La lyophilisation est la meilleure méthode de stabilisation du virus (36).

Le substrat de lyophilisation est d'importance capitale, et le tampon lactose-peptone-phosphate s'est révélé conserver le virus-vaccin-neurotrophe durant des mois.

Le vaccin lyophilisé et conservé 18 mois à + 4° C perd 2 log de son titre (55 *bis*).

Différents substrats ont été utilisés pour le virus-vaccin-neurotrophe-culture cellulaire, et le meilleur a été un tampon lactose-peptone-tris (64). Toutefois, le vaccin lyophilisé doit être stocké à des températures inférieures ou égales à + 4° C, car à + 37° C, sa conservation est de plus courte durée (27).

d) Variation de pH.

Le virus-neurotrophe-souris est inactivé par des pH inférieurs à 5,96; pour des valeurs du pH comprises entre 6 et 10, le virus est stable (4).

Le titre du virus-neurotrophe-cellule subit une baisse de 2 log en 3 heures à + 4° C à pH 6,2; alors que pour des valeurs de pH comprises entre 6,5 et 8,0, à la même température, la perte de titre est insignifiante, en 6 jours (64).

e) Action des radiations.

La lumière du spectre visible, seule, n'inactive pas le virus; au contraire, elle engendre une photo-inactivation du virus additionné de bleu de méthylène (4).

Selon les types antigéniques, les taux d'inactivation par les radiations ultraviolettes sont différents (78).

2. ACTION DES AGENTS CHIMIQUES.

Les agents chimiques, par rapport à leur action vis-à-vis du virus de la P.E.A., peuvent se classer en deux catégories:

a) *Agents de conservation ou d'inactivation.*

L'éther, à la concentration finale de 20 p. 100, n'inactive pas le virus à + 4° C après 18 heures de contact (33) ou à + 30° C durant 1 mois (4).

La glycérine est utilisée comme agent de conservation (4). La saponine à 5 ou 10 p. 100 inactive le virus (cité par 15). Le désoxycholate de Na, à la concentration finale de 1/1.000, n'a aucune action sur le virus après 1 heure de contact à 37° C (33, 83).

Nous avons déjà signalé l'action du mélange OCG. Le formol à 1/3.000 inactive le virus après un contact de 5 jours à + 4° C (70).

b) *Agents de purification.*

L'éther, le chloroforme, les fluorocarbones, la trypsine, le sulfate de protamine se sont montrés inefficaces pour purifier le virus neurotrope-souris alors que le polyéthylène glycol (PM 6.000) le précipite sans dénaturation entre les concentrations de 3 et 4 p. 100 (80).

3. STRUCTURES ET CONSTANTES PHYSICO-CHIMIQUES.

1. *Dimensions et structures du virus.*

a) *Ultrafiltration.*

La taille du virus déterminée par ultrafiltration sur membrane Gradocol est comprise entre 40 et 60 m μ (1) de diamètre (75), mais il est à remarquer que la filtration sur E.K.S. adsorbe une certaine quantité de virus (4).

b) *Ultracentrifugation.*

Par ultracentrifugation, le diamètre de la particule virale a été estimé à 45,4 m μ (78). Des études plus précises ont démontré l'hétérogénéité d'une suspension virale et l'existence de 3 composants (80): un composant de 476 S, équivalent à un diamètre de 50,8 m μ ; un de 180 S, diamètre 31,2 m μ et une petite particule de 12 m μ qui a la propriété de fixer le complément (79). La particule de 476 S serait composée de 4 particules de 180 S.

c) *Microscopie électronique.*

Les particules virales produites sur cerveau de souris et ensuite purifiées ont un

1. M μ = millimicron.

diamètre estimé, compris entre 70 et 80 μ . La structure du virus est sphérique, semblable à celle des Herpes-virus: elle doit contenir 92 subunités radiaires (80). D'autres auteurs ont observé des particules de diamètre de 40 à 80 μ (12, 31).

Sur des images de cellules infectées par le virus P.E.A., les particules virales apparaissent ovalaires, de dimensions moyennes variant entre 45 et 75 μ (66, 68).

2. *Autres constantes physico-chimiques.*

Le point isoélectrique du virus est estimé à pH 4,8 (76). La mobilité électrophorétique n'est pas homogène: de larges zones de migration se sont révélées infectieuses (80). La densité du virus est comprise entre 1,252 g/ml et 1,330 g/ml (75, 79).

3. *Acide nucléique.*

L'acide nucléique du virus P.E.A. n'a pas été isolé, mais des méthodes indirectes permettent d'entrevoir sa nature chimique.

Ainsi, des inclusions nucléaires «Feulgen positives» ont été observées dans les cellules infectées (66, 68) et des concentrations de 0,5 γ /ml d'actinomycine D inhibent la croissance virale dans les cellules infectées (55). En outre, l'acridine orange colore les inclusions nucléaire en vert (55-55 *ter*).

L'ensemble de ces observations incite à conclure que le virus P.E.A. serait un A.D.N. virus ou un virus A.D.N. dépendant.

B. — PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

1 CULTURE DU VIRUS POUR L'ISOLEMENT OU LA PRODUCTION.

a) *Sur animaux.*

1. *Cheval.*

Le cheval est l'animal sensible de référence; toutes les voies d'introduction du virus sont efficaces: injections sous-cutanées, intra-dermiques, intra-veineuses, intratrachéales, intra-pulmonaires, intra-péritonéales et ingestion *per os*. Toutefois, cette dernière voie nécessite d'importantes quantités de virus (85).

Le cheval est utilisé pour l'obtention du virus sauvage viscérotrope, pour les contrôles d'innocuité et d'activité des vaccins et pour la préparation d'antisérum spécifique.

2. *Souris.*

La souris s'est révélée être sensible uniquement par voie intra-cérébrale (1, 56).

Avec les virus viscérotropes, la durée d'incubation est fonction du titre infectieux et des souches; lors des premiers passages, les symptômes de la maladie expérimentale ne sont pas caractéristiques, mais par la suite, la symptomatologie signe l'atteinte du système nerveux avec, tout d'abord, une hyperexcitabilité, puis une parésie progressive

des membres postérieurs. La mort survient après une période de coma; parfois quelques souris guérissent après régression des symptômes.

Pour l'isolement des virus sauvages, les souriceaux sont plus sensibles que les souris: l'incubation est plus courte: 4 à 22 jours au lieu de 11 à 26 jours; la mortalité est plus importante dès les premiers passages (83) et les titres des virus produits sont plus élevés.

Lorsque le nombre de passages intra-cérébraux sur souris augmente, la période d'incubation diminue chez cette espèce, et le virus prend un caractère neurotrope de plus en plus marqué. Ce virus neurotrope possède une propriété importante: il devient apathogène pour les équidés et demeure immunisant pour ces mêmes animaux (2).

Cette modification fondamentale des propriétés du virus a permis, dès 1935, de produire un vaccin vivant, efficace, présentant néanmoins quelques inconvénients (voir chapitre immunisation).

La durée d'incubation des souches neurotropes sur souris est relativement courte, variable selon les types et les titres de virus. Les durées d'incubation moyenne selon les types de virus sont les suivantes (62):

Types	5	6 et 9	2	4	3	1	7
Durée d'incubation moyenne en heures	77	75	74	58	55	53	52

Le caractère neurotrope paraît particulièrement spécifique: en effet, seul le système nerveux des souris est virulent et il n'y a pas de virémie (36).

La sensibilité de la souris permet de titrer les virus en DL50/ souris et de préparer des antisérums spécifiques (72).

3. Cobayes.

Les premiers essais d'adaptation du virus P.E.A. au cobaye par voie intra-cérébrale ont été réalisés parallèlement à l'adaptation sur souris (1); le caractère apathogène pour les équins apparaît plus rapidement que lors des passages sur souris, mais des impératifs de production ont fait choisir ce dernier animal pour les essais ultérieurs (2).

Les cobayes sont sensibles au virus-vaccin-neurotrope-souris par voie intra-cérébrale et présentent une hyperthermie diphasique avec troubles de la démarche; une paralysie ascendante s'installe, se terminant par la mort dans le coma.

Récemment, l'étude de la sensibilité du cobaye a été entreprise par suite des difficultés d'approvisionnement en chevaux sensibles, en vue de réaliser les tests de contrôle de vaccin et de guider le choix des souches vaccinales. Il s'est avéré que le cobaye permettait de classer les souches neurotropes en fonction de leur neurotropisme croissant; ainsi, le type 7 Karen a été reconnu comme étant le plus neurotrope, même s'il est introduit par voie intra-nasale.

Le pourcentage de mortalité des cobayes inoculés par voie intra-nasale est le suivant en fonction des types (21):

Types	2 et 3	4 et 6	5 et 9	1 et 7
Mortalité	20 %	40 %	80 %	100 %

D'autre part, le cobaye peut être utilisé pour la préparation des antisérums spécifiques (21, 28, 33).

4. *Autres rongeurs.*

Le rat (*Rattus norvegicus*), le rat à mamelles multiples (*Mastomys coucha*) et la gerbille (*Tarthera lobengula*) sont sensibles au virus-vaccin-neurotrope par voie intra-cérébrale (3).

Le lapin est insensible, quelle que soit la voie d'inoculation (3) et se trouve être largement utilisé pour la préparation des antisérums spécifiques (28, 45, 50).

5. *Chien.*

THEILER (1907, cité par 36) a infecté expérimentalement le chien, mais cette réceptivité est toute relative et il semble que l'infection réalisée de la sorte soit très souvent inapparente.

6. *Furet.*

Le virus sauvage viscérotrope, inoculé au furet par voie intra-cardiaque, détermine chez celui-ci une réaction fébrile passagère et permet d'isoler les souches virales de chevaux immuns. Dans ces conditions, en effet, la présence d'anticorps ne permet pas d'isoler le virus chez le souriceau par voie intra-cérébrale (42, 45).

7. *Bovins - Ovins - Caprins.*

Les bovins et les ovins ne sont pas réceptifs au virus P.E.A. (86); le mouton hyperimmunisé produit cependant des antisérums spécifiques (28).

La chèvre, après inoculation expérimentale, présente une réaction fébrile, mais le passage en série n'a pas été possible (86).

8. *Œuf.*

L'œuf embryonné de poule est sensible au virus neurotrope: la localisation virale est strictement nerveuse et la mortalité est peu élevée.

Le nombre de passages réalisé est très irrégulier, mais dans certaines conditions expérimentales (inoculation intravitelline et incubation à 32° C) les passages sont réguliers et la mortalité élevée: toutefois, le titre infectieux du virus récolté est faible (36, 44).

b) *Culture sur cellules.*

1. *Cellules primaires.*

Jusqu'en 1962, aucune mention n'était faite au sujet de la culture du virus P.E.A. sur cellules. MIRCHAMSY (48), après des essais sur divers systèmes cellulaires, a réussi à obtenir la culture d'une souche viscérotrope de ce virus sur cellules primaires

de rein de hamster adulte avec apparition d'un effet cytopathogène rapide et très net; le titre du virus récolté après 96 heures de culture était d'environ $10^6 \cdot 10^7$ DECP50/ml. Les cellules rénales de hamsters nouveau-nés se sont révélées être plus sensibles par la suite.

ERASMUS, de son côté, a obtenu la multiplication du virus, sans effet cytopathogène, par passage sur cellules de fibroblastes d'embryon de poulet (20).

Le Tableau I résume les résultats acquis dans ce domaine.

2. Cellules de lignée.

Diverses lignées cellulaires ont été utilisées avec succès pour la culture des différents types de virus P.E.A. Le Tableau I résume les résultats acquis avec les cellules de lignée. La cellule MS s'est montrée la plus sensible et ses qualités intrinsèques l'on fait choisir pour la production des vaccins (63, 64).

La cellule MS (Monkey Stable) est une cellule de lignée rénale, issue d'un Macacus sain. Aucune propriété cancérigène n'a pu être mise en évidence à son sujet jusqu'à présent (40, 64).

L'effet cytopathogène sur cellules permet de titrer les virus en DECP50.

3. Obtention de plages - Clonage viral.

Le virus P.E.A. provoque la formation de plages sur les couches de cellules (63); diverses modalités techniques ont été expérimentées (30, 54). Il semble que la gélose contienne un inhibiteur viral, éliminé par des lavages successifs ou par l'addition de sulfate de protamine, et que le rouge neutre soit cytotoxique pour les cellules MS.

De ce fait, pour obtenir des plages plus larges et faciliter leur numération, la coloration des cellules doit s'effectuer après la formation des plages (54).

Les diamètres des plages obtenues sont de dimension différentes; il semble que celles-ci soient fonction de nombreux facteurs extrinsèques tels que l'épaisseur et la nature de la couche gélatinée (30). Le clonage du virus en fonction des diamètres des plages ne permet donc pas d'isoler une souche parfaitement définie et constante dans ses propriétés.

4. Cycle viral et effet cytopathogène.

Les effets cytopathogènes (ECP) obtenus, d'une part, sur les cellules rénales de hamster (3) et, d'autre part, sur les cellules MS (63, 66, 68) sont comparables.

Sans coloration, l'ECP apparaît sous forme de foyers de cellules rondes, réfringentes, en grappe, se détachant du verre: 24 heures après le début de l'attaque virale, toute la couche cellulaire est lysée.

Après coloration à l'hématéine-éosine et au Feulgen (66, 68), les différentes phases de l'ECP apparaissent comme suit:

- Après 16 heures d'infection, le noyau cellulaire s'hypertrophie et contient des granules basophiles, Feulgen positifs;
- Après 24 heures, le nucléole éosinophile est Feulgen positif et la chromatine s'amasse à la périphérie du noyau;

TABLEAU I

Culture du v. rus de la Peste équine sur cellules.

A) Cellules primaires.						
CELLULES	VIRUS	ECP	DUREE CULTURE jours	TITRE EN LOG	CARACTERE SUR CHEVAL	REFERENCE
Rein de hamster adulte (R H A)	Virus sauvage bas passage souris	+	4	4 à 6 DECP 50	Apathogène Immunogène après quelques passages	Mirchamsy (48-49).
Rein de hamster nouveau-né (RHN)	Virus sauvage (23 ^e pass. RHA)	+	4	5 à 8 DECP 50		Mirchamsy (52)
Fibroblaste d'em- bryon de poulets	Virus sauvage bas pass. souris	0	6	4 à 8 DL 50/ souris		Erasmus (20)
	Virus sauvage iso- lement primaire	0	6	5 DL 50/souris		Erasmus (22)
Rein d'agneau	Sauvage bas pass. souris	+	4	4,5 DL 50/souris		Erasmus (22)
	Sauvage isolement primaire.	+	4	4,8 DL 50/souris		Erasmus (22)
	Neurotrope	+	4	6 DL 50/souris		Erasmus (22)
Rein de cheval	Sauvage bas pass. souris	?	?	Passage		Erasmus (22)
Rein de veau	Sauvage bas pass. souris	?	?	Passage		Erasmus (22)

CELLULES	VIRUS	ECP	DUREE CULTURE jours	TITRE EN LOG	CARACTERES SUR CHEVAL	REFERENCE
M S (rein de rhésus)	Neurotrope	+	2 à 4 J.	6 à 8,5 DECP 50	Apathogène pouvoir immunogène diminue avec le nombre de passages cellulaires.	Ozawa (64-63). Mirchamsy (51)
	Sauvage après 8 ^e pass. RH	+	2 à 4	6,7 à 8,1 DECP 50	Apathogène, immunogène au 10 ^e pass. MS	Mirchamsy (52)
B H K 21	Neutrope	+	2 à 4	6 à 7 DECP 50	Apathogène, immunogène	Ozawa (63-64)
	Neurotrope	+	3 à 4	5 à 6 DECP 50		Mirchamsy (51)
	Sauvage bas pass. souris	+	2 après 99 pass.	7 à 8,5 DL 50	Apathogène, immunogène après 10 passages	Erasmus (23)
F L (amnios humain)	Neurotrope	0	Passage aveugle			Ozawa (63)
H E P 2	Neurotrope	0				Ozawa(63)
G M K (rein de singe vert)	Neurotrope	+				Ozawa (63)
D B K (rein de bovin)	Neurotrope	0				Ozawa (63)

- Après 31 heures, la substance basophile est Feulgen positive, s'accroît, s'élargit;
- Entre les 40^e et 48^e heures, le noyau est en pycnose et le cytoplasme renferme de nombreuses vacuoles.

Au microscope électronique, les noyaux cellulaires, après 48 heures d'infection, contiennent des particules ovoïdes de 45 à 75 m μ dans le nucléole et autour de celui-ci. Des points de rupture apparaissent sur la membrane nucléaire. Dans le cytoplasme, sont observés des vacuoles entourées de réticulum endoplasmique, quelques particules ovoïdes et des corpuscules denses de 0,2 à 0,4 μ de diamètre contenant ces dernières (66, 68).

Par la technique des anticorps fluorescents, l'antigène viral est détecté dans le noyau 8 heures après l'infection cellulaire, puis apparaît libéré dans le cytoplasme dans la phase ultime de l'infection (50).

Les courbes de croissance virale sur cellules montrent, qu'après une phase d'éclipse de 8 heures, la réplication virale débute, et les titres viraux des liquides surnageants sont maximaux entre 48 et 96 heures (49, 63).

2. POUVOIR HÉMAGGLUTINANT.

Les virus sauvages et les vaccins neurotropes-souris agglutinent en 2 heures, à 37° C, une suspension d'hématies de cheval à 0,5 p. 100 à pH 6,4 (71, 72, 47 *bis*), le diluant le plus favorable étant une solution d'albumine à 0,4 p. 100 (47 *bis*).

Les titres hémagglutinants des suspensions virales sont compris entre 1/16 et 1/256, selon les préparations des antigènes-cerveau.

La meilleure technique de préparation des antigènes est la méthode au mélange sucrose-acétone-protamine (14, 47 *bis*), mais la qualité de la protamine est d'importance capitale (47 *bis*).

C. — MARQUEURS GÉNÉTIQUES

Lors d'utilisation massive sur le terrain de virus-vaccin, il se révèle indispensable de pouvoir faire les distinctions entre ces mêmes souches vaccinales et le virus sauvage. Il n'existe pas de marqueurs génétiques nettement définis et standardisés, comparables à ceux employés pour caractériser les virus poliomyélitiques pathogènes et atténués. Toutefois, quelques techniques peuvent être proposées.

1. Marqueur «plages».

Dans ce domaine, malheureusement, dans l'état actuel des recherches, aucune différenciation entre les souches n'apparaît réalisable en se basant sur le diamètre des plages.

2. Marqueur «température».

A + 37° C, après un très long délai, les souches sauvages seraient plus stables que les souches vaccin-neurotropes (64).

Pour vérifier la pureté et la fixité des souches vaccinales, les échantillons de cel-

les-ci, lyophilisés, sont conservés à 37° C durant 7 jours; au terme de cette période, ils ne doivent pas subir une perte de titre supérieure à 0,5-0,6 log (27, 64).

3. Marqueur «durée d'incubation chez la souris».

L'adaptation à la souris du virus sauvage viscérotrope, par voie intra-cérébrale, a pour effet le plus évident de diminuer progressivement le délai d'incubation de l'infection virale chez cette espèce.

Cette considération est particulièrement intéressante à retenir pour réaliser, à partir de prélèvements effectués sur des animaux vaccinés, la différenciation éventuelle des souches sauvages et des souches vaccin-neurotropes. L'inoculation à la souris permet d'observer chez cet animal des délais d'incubation de durée variable selon la nature des souches recueillies. Pour les souches sauvages viscérotropes, ces délais représentent 10 à 26 jours et pour les souches vaccin-neurotropes 4 à 7 jours (73, 84).

4. Marqueur «neurotrophe» sur cobaye.

Le caractère plus ou moins neurotrophe des souches vaccinales peut être testé par l'inoculation au cobaye (21).

D. PROBLÈMES DE CLASSIFICATION VIRALE

Le virus P.E.A. a été classé par HUCK (39) dans le groupe F des arbovirus dont il possède la plupart des caractères.

Ce groupe est ainsi défini:

- Acide ribonucléique;
- Symétrie cubique;
- Capside enveloppée;
- Diamètre de 10 à 120 m μ ;
- Inactivé par le désoxycholate de Na et l'éther;
- Détruit à pH 3,0 et à 50° C durant 30 minutes;
- Contient une hémagglutinine;
- Possède un cycle biologique chez les arthropodes;
- Provoque des encéphalites chez les souris.

D'après les données que nous avons exposées précédemment, le virus P.E.A. possède les propriétés suivantes:

- L'acide nucléique est vraisemblablement un ADN;
- La symétrie est cubique et contient 92 sous-unités;
- Le diamètre est compris entre 45 et 75 m μ ;
- Il est insensible au désoxycholate de Na, à l'éther, au chloroforme;
- Il est détruit à pH 6,0;
- Il est stable à 55° C durant 15 minutes;
- Il contient une hémagglutinine;
- La transmission s'effectue par les arthropodes, mais le cycle biologique n'a pas encore été démontré;
- Les souris sont réceptifs:

- Le cycle viral est intra-nucléaire.

Par ces caractères, le virus P.E.A. se rapproche des adénovirus, des papovavirus (68) et surtout des arbovirus dont il se différencie pourtant, considération prise des éléments suivants :

-- Acide nucléique :

-- Sensibilité au désoxycholate de Na et à l'éther.

IX. — SÉROLOGIE

De nombreux types d'anticorps ont été mis en évidence après infection, naturelle ou expérimentale, de différents animaux : anticorps neutralisants, fixant le complément, inhibant l'hémagglutination, précipitants et fluorescents.

La cinétique dans le temps de ces divers anticorps caractérise la spécificité de la réaction humorale après l'infection.

I. ANTICORPS NEUTRALISANTS.

a) *Tests sur souris.*

Les anticorps neutralisants, dans un système sérum variable-virus fixe, peuvent être titrés sur souris et sont spécifiques du type viral (5).

Ce test a permis de classer les virus pestiques en 9 types antigéniques (33, 45).

Le système sérum fixe-virus variable n'est pas assez sensible pour détecter les différences antigéniques (83).

Le titre sérique est en corrélation étroite avec la dose de virus à neutraliser lors de la réaction *in vitro*, et une relation de la forme $Y = ax$ permet de corriger les titres sériques lorsque la dose de virus réactionnel est très différente de la dose requise (45).

Après immunisation de chevaux avec des vaccins neurotropes-souris, les anticorps neutralisants apparaissent dès le 14^e jour pour atteindre un titre maximum aux environs du 100^e jour, puis leur décroissance est très lente (5).

Après infection expérimentale de chevaux, les anticorps neutralisants apparaissent dès le 6^e jour, à la fin de la phase d'hyperthermie, pour atteindre au 33^e jour un titre maximum de 1/8.125 (34, 83).

La formation des anticorps neutralisants varie avec les souches ; en effet, certaines souches sont fortement antigéniques et immunogènes, tel le type 3, alors que d'autres, tel le type 4, le sont beaucoup moins (34).

Lorsque, après vaccination, la présence d'anticorps neutralisants est décelée, la protection de l'animal est assurée. Toutefois, l'on a pu observer quelques cas où, bien que ne paraissant pas posséder des anticorps, des animaux ne contractèrent pas la maladie (45).

b) *Titrages sur tubes.*

Les tests de neutralisation *in vitro* sur tubes de culture cellulaire permettent d'effectuer de nombreuses analyses dans des conditions expérimentales reproductibles, car les titrages sur souris sont souvent irréguliers (45).

Deux techniques peuvent être mises en œuvre :

— soit le système virus-fixe-sérum variable: le titre sérique est exprimé en titre neutralisant (52, 63):

— soit le système virus variable-sérum fixe: le titre sérique est exprimé en index de neutralisation (27, 28, 64).

Les titres neutralisants des sérums de chevaux vaccinés avec les souches neurotropes sont, au minimum, de 1/256 après 8 semaines d'immunisation (52).

L'index de neutralisation d'un sérum de cheval convalescent a été de 0,9, un mois après le premier jour de la maladie (64).

La cinétique des index de neutralisation des sérums d'équidés vaccinés à l'aide de vaccin neurotrope monovalent est la suivant (27, 64):

30 ^e J	48 ^e J	60 ^e J	115 ^e J	150 ^e J
3,7	2,2 à 4,5	2 à 3,5	3 à 4,5	3,2 à 3,7

Lors de vaccination polyvalente, les index de neutralisation sont inférieurs.

c) *Inhibition de la formation des plages.*

Les anticorps neutralisants peuvent être titrés par inhibition de la formation des plages, à sérum fixe-virus variable (30).

En conclusion, on peut admettre que les neutralisations croisées ont montré la spécificité des techniques décrites précédemment (28) et que les anticorps neutralisants apparaissent rapidement et se maintiennent à des titres élevés durant de longs mois.

2. ANTICORPS FIXANT LE COMPLÉMENT.

Les premiers essais de fixation du complément en matière de P.E.A. ont été mentionnés sans précision technique; ils ont toutefois démontré que la moitié du pouvoir fixant le complément des antigènes était lié aux particules de 12 m μ (79).

L'étude systématique et la standardisation des antigènes selon la technique acétone-éther de CASALS (13) a paru montrer que les anticorps fixant le complément n'étaient pas spécifiques de type mais du groupe P.E.A. (44).

Ainsi, le diagnostic rapide de P.E.A. sur les cerveaux de souris malades après l'inoculation d'un prélèvement, s'effectue en préparant une suspension de cerveau à 10 ou 20 p 100 par broyage et macération à + 4° C durant une nuit, suivis d'une centrifugation à 10.000 tr/mn durant 30 minutes; ces antigènes sont utilisés aux dilutions de 1/2 au 1/6 (33).

Les anticorps fixant le complément apparaissent dès la fin de la phase aiguë de la maladie chez le cheval, pour atteindre des titres de 1/60, 10 jours après. Leur disparition est plus rapide que celle des anticorps neutralisants, et au troisième mois, les titres ne sont plus que de 1/15 (33, 83).

Après vaccination à l'aide de virus neurotrope, les titres moyens des anticorps fixant le complément sont de 1/128 à la 5^e semaine, 1/28 à la 7^e semaine, 1/8 et moins à la 18^e semaine (84).

Les anticorps fixant le complément sont donc précoces mais peu durables

3. ANTICORPS INHIBANT L'HÉMAGGLUTINATION (IH).

Des anticorps inhibant l'hémagglutination sont mis en évidence dans les sérums de chevaux, convalescents ou vaccinés, ainsi que dans les sérums hyperimmuns de lapins et de souris; ces anticorps paraissent être spécifiques de type, mais certains inhibiteurs sériques non spécifiques doivent être éliminés préalablement par traitement au kaolin ou à l'acétone (71, 72, 74 *bis*).

Chez les chevaux convalescents, les titres sériques IH sont de 1/20 à 1/640; ces mêmes sérums titraient en fixation du C^o de 1/8 à 1/32 et en neutralisation sur souris de 1/160 à 1/10.000 (72).

Chez les chevaux, à la phase aiguë de la maladie, les anticorps IH sont décelables: ce sont des anticorps précoces qui disparaîtront lentement.

4. ANTICORPS PRÉCIPITANTS.

En utilisant des antigènes, vivants ou inactivés par le formol, et un sérum de lapin hyperimmun, deux lignes de précipitations sont observées après 24 à 48 heures de diffusion en gel de gélose (38).

5. ANTICORPS FLUORESCENTS.

A l'aide de sérum hyperimmun de lapin, conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine, les antigènes du virus de la P.E.A. sont détectés dans les cultures de cellules infectées (50).

6. PLURALITÉ ET PARENTÉ ANTIGÉNIQUE DES VIRUS P.E.A.

La pluralité des types antigéniques du virus P.E.A. a été démontrée par des immunisations croisées sur chevaux (25) puis confirmée par séro-neutralisation sur souris (5). Cette pluralité antigénique a amené l'emploi des vaccins polyvalents dans les pays d'enzootie.

La classification en types a été réalisée par séro-neutralisation sur souris; 42 souches ont été typées en 7 groupes antigéniques. D'autres souches sauvages ou vaccinales ont pu être regroupées à l'intérieur de cette classification (45). Récemment, deux nouveaux types ont été isolés: le type 8 au Katanga et en Afrique du Sud et le type 9 au Moyen-Orient, en Inde et au Tchad (33).

Les souches de référence servant, pour la plupart d'entre elles, à la préparation des vaccins, sont les suivantes:

Types	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Souches	A 501	OD	L	VRY	V11	114	Karen	18/60	7/60

Cette classification a été confirmée par séro-neutralisation sur cellules et par inhibition de l'hémagglutination (28, 72).

Dans l'épizootie de 1959 au Moyen-Orient, 53 souches isolées ont toutes été reconnues comme appartenant au sérotype ^o (25).

Une parenté antigénique a pu être mise en évidence entre certains types, comme par exemple les types 6 et 9.

Les techniques de séro-neutralisation sur souris (33) et sur cellules (28), d'inhibition de l'hémagglutination (72) et d'inhibition de la formation de plages (30) ont montré que le type 6 dominait sérologiquement le type 9.

D'autres parentés peuvent être soupçonnées entre les sérotypes 1 et 2 par séro-neutralisation sur souris (73) et par IH (72). Il semblerait que le sérotype 2 domine le type 1.

Cette constatation sérologique est confirmée par le fait que des équidés, ayant été vaccinés à l'aide de vaccins polyvalents ne contenant pas le sérotype 9, possédaient néanmoins des anticorps de titres très élevés contre ce même type (34).

X. - PROPHYLAXIE

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

Ensemble des actions destinées à prévenir l'extension d'une maladie contagieuse aux espèces réceptives encore indemnes, la prophylaxie est mise en œuvre selon deux modalités: l'une sanitaire et l'autre médicale.

La prophylaxie sanitaire.

Elle consiste en un ensemble de mesures propres à isoler les foyers de la maladie et à y détruire complètement le contagé causal (séquestration, abattage, désinfection, immobilisation, stérilisation ou destruction de tous agents, animés ou non, de transmission directe ou indirecte, active ou passive, du contagé en rapport avec les foyers), ainsi qu'à informer d'urgence les instances intéressées de l'existence de la maladie et des phases successives de son développement (déclaration à l'échelon national et international) de façon à ce que, de leur côté, elles puissent prendre toutes dispositions utiles.

La prophylaxie médicale.

Elle a pour objet la protection préventive des espèces réceptives menacées par une immunisation spécifique passive ou active.

Le contagé de la Peste équine est propagé, et probablement conservé et entretenu dans le temps, par des vecteurs animés divers.

Dans certaines circonstances et dans certains territoires, la conjonction des facteurs de dissémination de ce contagé peut être telle qu'elle rend vaine l'action de la prophylaxie sanitaire la mieux concertée. La protection par la vaccination des effectifs encore indemnes, vaccination faite avec des virus modifiés vivants dont l'efficacité est désormais unanimement reconnue, peut alors prendre un caractère d'obligation et constituer le moyen fondamental de la prophylaxie en dépit des problèmes qu'elle soulève quant à la stabilité des souches vaccinales utilisées, problèmes en l'espèce accessoires dans ces circonstances et dans ces pays.

De tels problèmes peuvent, au contraire, être considérés comme essentiels, malgré les observations favorables à la thèse de l'innocuité des virus vivants modifiés en matière de Peste équine, par les pays encore indemnes, soit que ces pays aient à décider du

b) *Immunisation active.*

1. *Séro-infection.*

La première méthode utilisée pour l'immunisation des équidés a été la séro-infection (THEILER [1908] cité par 45) qui consistait en une inoculation simultanée par voie veineuse de 0,5 à 0,75 ml/kg de sérum hyperimmun et de 5 ml de virus pathogène. L'immunité était bonne. Toutefois, des incidents de vaccination se traduisaient soit par la transmission d'hématozooses (trypanosomiase, piroplasmose) ou par des incapacités temporaires. Le pourcentage de mortalité variait entre 2 et 10 p. 100. Une longue période de repos devait succéder à la vaccination.

2. *Vaccination.*

La connaissance du type antigénique du virus causal est déterminante pour l'emploi judicieux du vaccin monovalent ou polyvalent. La conséquence logique est la réglementation à l'échelle nationale d'une telle vaccination.

a) *Vaccin inactivé.*

Vers 1930, les échecs et les incidents de la séro-infection incitèrent à entreprendre des recherches sur les vaccins formolés (16, 17, 18, 41, 87, 88).

Le vaccin de DU TOIT était une suspension à 20 p. 100 de rate de cheval pestique, formolée à des concentrations décroissantes de formol (1/1.000, 1/2.000, 1/3.000, 1/4.000) Il convenait d'inoculer ces 4 vaccins inégalement inactivés à 21 jours d'intervalle.

L'emploi sur le terrain du vaccin était délicat, la marge de sécurité du produit, faible, et sa conservation aléatoire.

Lors de l'épizootie du Moyen-Orient (1959), un vaccin formolé et saponiné a été préparé et utilisé sur le terrain: 70.000 doses en Iran (81), 150.000 doses en Turquie (82). Ce vaccin consistait en une suspension de rate pestique, formolée à 1/4.000, additionnée de saponine à 1/5.000 et de merthiolate à 1/20.000. La dose vaccinale était de 10 ml.

Ce type de vaccin onéreux n'a, semble-t-il, pas donné lieu à des incidents, et son activité, testée expérimentalement, s'est montrée probante (81).

Récemment (70), à partir des virus neurotrope et viscérotrope, cultivés sur cellules, un vaccin formolé à 1/3.000 a été expérimenté: 8 chevaux vaccinés à doses variables n'ont présenté aucun trouble pouvant se rapporter à la P.E.A. et ont résisté à l'épreuve virulente 5 semaines après l'immunisation; d'autre part, l'index de neutralisation des sérums de ces chevaux était compris entre 0,3 et 1,7.

La durée de conservation d'un tel vaccin et l'immunité qu'il confère restent à déterminer.

b) *Vaccins vivants.*

Plusieurs types de vaccins vivants sont utilisables, mais certains d'entre eux ont acquis leurs lettres de noblesse par une utilisation intensive sur le terrain.

Schématiquement, nous pouvons décrire ainsi la démarche expérimentale qui aboutit à l'atténuation des souches pathogènes:

Vaccin neurotrope-souris: L'atténuation du virus sauvage a été obtenue après une centaine de passages intra-cérébraux sur souris: ce vaccin est produit sur souris (6, 8, 26, 62).

Vaccin neurotrope-culture cellulaire: Les souches préalablement modifiées par passage sur souris, selon la technique précédemment décrite, sont adoptées à la culture cellulaire qui sert à la production industrielle du vaccin (27, 19, 51, 52, 64).

Vaccin viscérotrope-cultures de cellules: L'atténuation du virus sauvage est obtenue après une dizaine de passages sur culture de cellules, utilisées ensuite pour la production du vaccin (23, 51).

1. VACCIN NEUROTROPE-SOURIS.

Les souches neurotropes ont été obtenues par ALEXANDER en 1935 (3, 8) et ont été utilisées dans de nombreux pays (81). Lors de l'épizootie du Moyen-Orient (1959), ce vaccin a permis l'éradication de la P.E.A. (25, 81). 7 souches neurotropes ont été produites par l'Institut d'Onderstepoort en Afrique du Sud (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) et le type 9 par l'Institut Razi en Iran (26).

Le vaccin neurotrope monovalent est d'une utilisation sans danger et d'une efficacité certaine, mais la protection monovalente conférée par ce type de vaccin est insuffisante dans les régions d'enzooties, «berceaux» de plusieurs types viraux.

L'immunisation polyvalente n'est jamais parfaite (7, 35), soit par suite d'interférences virales au niveau cellulaire, soit par la faiblesse immunogène de certaines souches.

Suites de la vaccination.

1. *Réaction vaccination normale.*

Celle-ci s'apparente à la forme fébrile de la maladie. En effet, 10 à 15 jours après la vaccination, l'animal immunisé peut présenter une hyperthermie légère durant quelques jours, qui correspond à la phase virémique.

2. *Virémie vaccinale.*

Elle est constante après l'injection du vaccin. Sa durée varie selon les sujets. En effet, on a pu isoler chez 50 p. 100 des animaux inoculés le virus-vaccin au 23^e jour suivant la vaccination et chez 10 p. 100 au 49^e jour. La mise en évidence de ce même virus-vaccin, chez une jument ayant avorté 85 jours après l'immunisation (84), n'a été signalée qu'une seule fois, ce qui souligne le caractère exceptionnel de cette observation.

3. *Incidents et accidents* (91).

Chez quelques animaux, la vaccination polyvalente avec les souches neurotrope-souris est parfois suivie d'une réaction fébrile correspondant à la phase virémique; les

sujets sont abattus durant plusieurs semaines et leur comportement est modifié pendant 2 à 3 mois.

Le caractère neuro-virulent très accentué de certains types, tel le type 7 Karen (21) ou la présence de tissus nerveux dans le vaccin, sont peut-être la cause de ces incidents.

Les ânes de certaines régions sont sensibles à la vaccination polyvalent et présentent certains symptômes d'Encéphalite entraînant une mortalité vaccinale de 5 à 10 p. 100 (37, 61, 81). Quelques cas de cécité et d'avortements (84) ont été décrits sans pouvoir directement être reliés à la vaccination. Sur les animaux jeunes ou débiles, de fortes réactions nerveuses ont été enregistrées (84).

4. *Durée d'immunité.*

L'immunité conférée par les souches neurotropes est précoce. Elle est effective dès le 10^e jour (45) ou le 14^e jour (61), solide durant une année (81) et paraît suffisante jusqu'à la 6^e année (45).

Après un rappel polyvalent le spectre de l'immunité est plus large (45).

Aucune rupture d'immunité n'a été signalée en Iran après l'utilisation intensive de ce vaccin (25).

2. VACCIN NEUROTROPE-CULTURE DE CELLULES.

La présence de tissus nerveux et les multiples inconvénients de la production du vaccin-souris ⁽¹⁾ ont incité certains auteurs à produire un vaccin neurotrope sur culture cellulaire après le succès de l'adaptation du virus P.E.A. sur cellules (51, 52, 64).

Huit types de virus ont été ainsi adaptés (types 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9) sur la cellule MS, et le vaccin peut être constitué par les 3^e, 4^e, 5^e et 6^e passages cellulaires. Après le 6^e passage cellulaire, le pouvoir immunogène décroît (27). D'ailleurs, les «exigences minima» de production ont été récemment discutées (Conférence de Stresa, juillet 1966 [29]).

Ce vaccin neurotrope a été utilisé sur le terrain: 3.000.000 de doses monovalentes et 300.000 doses polyvalentes ⁽²⁾. Aucun incident n'a été signalé; seule une légère réaction fébrile peut apparaître entre le 7^e et le 14^e jour après vaccination.

Les avantages d'un tel vaccin sont multiples; en effet, il ne contient que des traces de protéines cellulaires, et les contrôles de pureté virale et bactériologique peuvent être effectués avec plus de rigueur.

Les inconvénients restent la possibilité d'interférence virale lors de vaccinations polyvalentes, la faiblesse antigénique de certaines souches, tel le type 4 (51), et le caractère hétéropléide de la cellule MS.

1. Nécessité d'un élevage important de souris, exempt de maladies bactériennes telles que les salmonelloses.

Existence de virus chez la souris (virus de l'Ectromélie, de la Méningite chorio-lymphocytaire, de l'Encéphalite de THEILER).

2. Statistiques arrêtées en avril 1967. Communication personnelle du Docteur KAVEH, Directeur général de l'Institut Razi, Téhéran (Iran).

3. VACCIN VISCÉROTROPE-CULTURE DE CELLULES.

Les souches viscérotropes cultivées sur cellules de rein de hamster (RH) et cellules MS perdent rapidement leur viscérotropisme tout en conservant leur pouvoir immunogène durant plusieurs passages.

Le passage RH 8 MS 10 s'est révélé être dépourvu de tout pouvoir pathogène pour le cheval; de plus, aucune virémie vaccinale n'a été observée durant 1 mois après l'immunisation (22, 52); enfin, l'apparition d'anticorps neutralisants et la résistance à l'épreuve virulente des chevaux vaccinés ont démontré son caractère immunogène (52).

Les souches viscérotropes après 10 et 20 passages sur cellules BHK 21 possèdent des propriétés identiques, seul le pouvoir immunogène paraît plus faible (23, 52).

Ce type de vaccin n'a pas été utilisé sur le terrain; toutefois, il possède un intérêt certain lors de l'apparition d'un nouveau type de virus; en effet, l'adaptation au neurotropisme est longue, elle nécessite environ 100 passages intracérébraux sur la souris, ce qui représente près d'une année pour l'obtention de la souche neurotrophe vaccinale. Au contraire, l'adaptation directe à la culture cellulaire permet en 10 à 20 passages, soit environ 2 mois, de transformer une souche viscérotrope en une souche vaccinale.

4. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

SUR L'EMPLOI DES VACCINS VIVANTS.

a) *Contrôle des vaccins* (29).

Contrôle bactériologique.

La stérilité bactériologique est vérifiée par la culture à 37° C et + 20° C d'échantillons du produit sur divers milieux, aptes à la croissance des bactéries et des moisissures.

Contrôle d'innocuité.

L'absence d'agents pathogènes est testée sur souris par inoculation intra-péritonéale.

D'autre part, des chevaux reconnus sensibles à la P.E.A. par la recherche des anticorps neutralisants reçoivent le vaccin par la voie sous-cutanée et sont mis en observation durant deux mois pour déceler un éventuel pouvoir nocif du vaccin.

Le typage sérologique est effectué parallèlement par séro-neutralisation.

Contrôle d'activité.

Le titrage du vaccin sur cellules permet de vérifier que la dose vaccinale renferme 20.000 DECP50, titre minimum requis pour l'immunisation des équidés.

Les anticorps neutralisants sont titrés dans les sérums des chevaux 1 mois après l'immunisation, et une épreuve virulente est mise en œuvre sur ces mêmes animaux pour tester leur protection.

b) *Stockage et transport.*

Bien que les vaccins soient présentés sous forme lyophilisée, leur stockage doit se faire à des températures égales ou inférieures à + 4° C, à l'abri de la lumière.

Leur transport doit être effectué dans des caisses isothermes.

c) *Mode d'emploi.*

Au moment de l'emploi, le vaccin lyophilisé doit être repris dans de l'eau distillée stérile.

Les seringues d'inoculation doivent être stérilisées sans l'aide d'antiseptiques, tels que l'alcool, l'eau de javel, les acides, etc.

d) *Recommandations.*

Le vaccin doit être inoculé par voie sous-cutanée à des animaux en parfait état de santé. Ceux-ci doivent être soumis à une activité ralentie durant au moins les trois semaines suivant l'injection du vaccin.

La vaccination des jeunes animaux issus de mères immunisées ne se justifiera que sur les sujets âgés d'au moins 6 mois. Ce délai est nécessaire à la disparition, dans le sérum du jeune, d'anticorps colostraux dont la présence pourrait nuire à l'établissement d'une bonne immunité.

e) *Mutation virale.*

L'emploi intensif de vaccins vivants sur le terrain pose toujours des problèmes théoriques importants. L'un des plus discutés est de savoir si plusieurs passages de virus-vaccin chez les animaux sensibles ne font pas recouvrer à ce même virus-vaccin le pouvoir pathogène. Dans le cas de la P.E.A., il ne semble pas que le virus neurotrophe soit transmis naturellement de cheval à cheval (84). Par ailleurs, après un passage sur cheval, le virus neurotrophe conserve son neurotropisme (6).

D'un autre côté, l'expérience n'a pu montrer que le passage d'un virus-vaccin sur animaux déjà vaccinés provoquerait des mutations virales (cité par 45), de même que les passages en série sur animaux de laboratoire (33). En outre, les virus de type nouveau apparaissant sur le terrain ne sont pas dus à une mutation au niveau des insectes vecteurs (33).

On peut être amené à se demander si lors de vaccination polyvalente, la multiplication simultanée de plusieurs virus sur le même sujet ne ferait pas apparaître des mutants par recombinaison de plusieurs types de virus.

En fait, la production d'un vaccin polyvalent de plus en plus complexe contenant 2, puis 4 et enfin 8 types présentement, a été imposée dans les régions d'enzootie à la suite de l'apparition de ruptures d'immunité suivies de l'isolement de types nouveaux (33).

Tous ces différents types n'auraient en commun qu'un composant antigénique partiel. Les recombinaisons génétiques à partir d'infections cellulaires multiples sont soupçonnées d'engendrer des types nouveaux (45, 67), mais, sur le terrain, pareille éventualité n'a jamais été démontrée (67).

f) *Interférence.*

Quoique le taux de conversion sérologique des équidés immunisés à l'aide de vaccins neurotropes polyvalents soit élevé, certaines interférences virales peuvent se produire, et la démonstration sur culture cellulaire en a été faite (67).

II. — PROPHYLAXIE SANITAIRE

Les caractères épizootologiques de la P.E.A. conduisent les Autorités sanitaires d'un pays infecté à prendre un certain nombre de dispositions sanitaires depuis longtemps préconisées par les Experts (15, 36, 89).

Ces dispositions ont été rappelées par les Organisations Internationales (O.I.E.-F.A.O.) lors de l'apparition de la maladie au Moyen-Orient et n'ont cessé depuis de faire l'objet de Recommandations et de directives aux Gouvernements intéressés, notamment à l'occasion de l'extension récente de la maladie à l'Afrique du Nord et à la Péninsule Ibérique.

Au sujet de ces dispositions, on peut se référer utilement à l'une des plus récentes Réunions internationales qui ont eu à connaître de la Peste équine, la Réunion d'urgence des Délégués permanents des pays du Maghreb auprès de l'O.I.E. sur la Peste équine, tenue à Tunis les 29 et 30 juin 1966 avec la participation du Directeur de l'O.I.E. et d'un représentant de la F.A.O.

Cette Réunion a souhaité:

- que la Peste équine soit, le cas échéant, déclarée sans délai;
- que l'apparition de nouveaux foyers soit signalée;
- que l'identification du type de virus soit faite pendant l'évolution de la maladie et les mesures de prophylaxie appliquées.

Cette Réunion a rappelé la Résolution adoptée à Pris, en mai 1966, par la XXXIV^e Session Générale du Comité de l'O.I.E., relative aux dispositions qu'il est recommandé aux Gouvernements de prendre pour lutter efficacement contre les maladies importantes, notamment:

- la nécessité de prévoir les ressources financières appropriées;
- celle d'organiser les Services Vétérinaires (législation sanitaire, mesures de quarantaine, dotation en personnel par l'administration, les laboratoires, l'action sur le terrain);
- celle d'indemniser les propriétaires (abattage, etc.), en soulignant que les dépenses correspondantes sont en définitive moins lourdes que les pertes dues aux épizooties mal contrôlées.

Cette même Réunion a noté, s'agissant de lutter contre une maladie transmise par des insectes vecteurs, que les Organisations Internationales chargées de la protection des cheptels, et notamment l'O.I.E., entretiennent des rapports incessants avec les Organisations chargées de la Réglementation des transports sur le plan international et tout particulièrement avec:

- l'O.A.C.I. (Organisation de l'Aviation Civile Internationale);
- l'I.A.T.A. (Association Internationale des Transports Aériens);
- l'I.M.C.O. (Organisation Intergouvernementale Consultative de la Navigation Maritime), afin que l'aide de ces Organisations soit apportée pour la désin-

sectisation systématique des avions et des bateaux faisant escale dans les pays infectés.

Les mesures de prophylaxie sanitaire à prendre lors de l'identification de la maladie sont de deux ordres: international et national.

a) *Mesures à prendre sur le plan international.*

Il va de soi qu'il est hautement souhaitable que les pays infectés prennent spontanément les initiatives propres à éviter l'extension du contagé à l'étranger, notamment:

- 1° Celle d'arrêter l'exportation d'équidés vivants;
- 2° Celle de procéder à la désinsectisation systématique de tous les véhicules susceptibles de transporter hors du territoire des vecteurs contagifères;
- 3° Enfin, celle d'informer directement les pays voisins, et plus généralement tous les pays intéressés par l'intermédiaire de l'O.I.E., de l'existence de la maladie sur leur territoire.

b) *Mesures à prendre sur le plan national.*

La mesure la plus importante consiste dans l'immobilisation des équidés sur le lieu de leur travail ou de leur élevage, dans l'interdiction des réunions d'animaux et de leur commerce (foires, réunions sportives, etc.)

L'abattage des sujets atteints et contaminés, la destruction rationnelle de leurs cadavres, sont toujours bénéfiques surtout lorsqu'une désinsectisation est simultanément mise en œuvre dans les foyers (en procédant de l'extérieur vers le centre de ces foyers afin d'éviter l'évasion des arthropodes vecteurs vers la périphérie indemne).

D'une façon plus générale et quelle que soit la situation particulière des différentes parties du territoire infecté, il doit être conseillé, en particulier dans l'attente de la vaccination et pour qu'elle puisse être assurée en milieu encore indemne, de lutter contre les insectes vecteurs par la pulvérisation d'insecticides rémanents dans les locaux et les gîtes à moustiques, la pose de moustiquaires sur les ouvertures des écuries, le traitement anti-parasitaire externe des animaux et la protection nocturne des chevaux en stabulation libre par des écrans fumigènes.

Il est à noter qu'il convient d'éviter de grouper inconsidérément les animaux pour les vacciner, surtout lorsque la situation sanitaire de la zone en cours de vaccination est incertaine et la suspicion de sa contamination probable.

Il est donc souhaitable que la vaccination soit pratiquée autant que possible à domicile, d'où la nécessité de disposer d'un personnel important et dûment instruit.

B. — PAYS INDEMNES
FAISANT L'OBJET D'UNE MENACE IMMÉDIATE

Dans cette éventualité, les mesures de prophylaxie sanitaire doivent être appliquées avec rigueur, la vaccination ne pouvant être mise en œuvre parfois qu'avec réserve.

1. PROPHYLAXIE SANITAIRE.

Le pays menacé par un voisinage territorial immédiat est conduit :

- à supprimer tout trafic des animaux sensibles avec le pays infecté;
- à interdire les importations des équidés vivants;
- à prendre toutes dispositions visant à s'opposer aux importations frauduleuses par la contrebande;
- de ce fait, à déterminer une zone frontalière de surveillance pour l'identification de tous les sujets des espèces sensibles (carte d'identité individuelle, marquage, etc.);
- à instituer pour tout mouvement à l'intérieur de cette zone un régime d'autorisation sanitaire et *a fortiori* pour toute sortie de la zone de surveillance vers l'intérieur du pays menacé.

Le pays menacé devra concurremment prendre toutes mesures de désinsectisation des véhicules susceptibles de transporter des vecteurs, notamment aux frontières terrestres, maritimes et aériennes.

Les mesures de désinsectisation seront utilement et préventivement appliquées dans les zones frontalières directement concernées ainsi que dans les régions où l'implantation de la maladie est à craindre, du fait de leur infestation chronique par les vecteurs responsables ou présumés tels.

2. PROPHYLAXIE MÉDICALE.

Elle ne peut revêtir qu'un aspect d'expectative, telle la prévision d'un stock de vaccin et d'un budget spécial, en vue d'indemniser les propriétaires d'équidés dans le cas où l'abattage des animaux des premiers foyers de P.E.A. serait rendu obligatoire. Toutefois, avant l'apparition de la maladie sur un territoire indemne, la vaccination systématique du cheptel équin ne pourrait faire appel qu'à des vaccins inactivés.

C. — PAYS INDEMNES FAISANT L'OBJET D'UNE MENACE LOINTAINE

Seules les mesures de prophylaxie sanitaire, précédemment exposées, peuvent être appliquées avec rigueur, pour élever une barrière devant la menace permanente de l'introduction du virus de la P.E.A. dans un pays jusqu'alors à l'abri d'un tel danger.

Dans certaines circonstances, ces pays peuvent être conduits à envisager d'importer des chevaux de valeur en provenance de pays où la maladie, bien que non actuellement déclarée, a existé à une époque antérieure.

Dans ce cas, une quarantaine ⁽¹⁾ prolongée, dans des locaux parfaitement isolés,

1. A noter que le Projet de Règlement Zoo-sanitaire International présenté à la XXXIV^e Session Générale de l'O.I.E. en mai 1966 a fixé (chap. VIII, art. 137, p. 116) la période d'incubation de la Peste équine à 21 jours.

peut être conçue, à l'occasion de laquelle on procéderait à l'injection (éventuellement rejetée) du sang du cheval importé en observation à un ou à des chevaux neufs témoins, test accompagné éventuellement d'une recherche d'anticorps faite par un laboratoire spécialisé.

CONCLUSION

La Peste équine africaine, fléau de l'élevage équin, a toujours représenté un danger pour le pays indemne: le réservoir permanent qu'est l'Afrique déverse parfois le virus pesteux vers l'Afrique Orientale, le Moyen-Orient et, récemment, l'Afrique du Nord et l'Espagne du Sud.

Les taux élevés de morbidité et de mortalité nécessitent des moyens de lutte efficaces et des mesures actives de police sanitaire.

L'étude du virus pesteux doit être envisagée d'un triple point de vue:

- Recherche des vecteurs biologiques et des réservoirs naturels;
- Recherche systématique de souches de fort pouvoir immunogène;
- Mise au point de vaccins toujours plus actifs et polyvalents d'universalité d'emploi.

CONCLUSION

African Horse Sickness, a scourge in the maintenance of equine animals, has always been a danger to unaffected countries: from the permanent reservoir, Africa, the virus of Horse Sickness travels now and then towards Eastern Africa, the Middle-East and recently reached North Africa and Southern Spain.

The high morbidity and mortality incidences necessitate efficacious method of control and active police sanitary measures.

Study of the virus of Horse Sickness should be envisaged from three points of view:

- Research on biological vectors and natural reservoirs;
- Systematic research on the most efficient immunogenic strains;
- Development of the most active and polyvalent vaccines for universal use.

CONCLUSION

La Peste equina africana, plaga de la ganadería equina, sigue representando un peligro cierto para el país libre de la misma; el reservorio permanente que constituye Africa, lanza a veces el virus péstico hacia el Africa Oriental, el Oriente Medio y recientemente al Africa del Norte y España del Sur.

Los elevados índices de morbilidad y mortalidad necesitan medios de lucha eficientes y medidas de policía sanitaria activas.

Se ha de considerar el estudio del virus péstico desde tres puntos de vista:

- Investigación de los vectores biológicos y de los reservorios naturales;
- Investigación sistemática de las cepas de alto poder inmunígeno;
- Preparación de vacunas cada vez más activas y polivalentes de empleo universal.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALEXANDER (R. A.) — Preliminary note on the infection of white mice and guinea-pigs with the virus of Horse Sickness. *J. S. Afr. vet. med. Ass.*, 1933, **4**, 1-9.
2. ALEXANDER (R. A.) & DU TOIT (P. J.). — The immunization of horses and mules against horse sickness by means of the neurotropic virus of mice and guinea-pigs. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1934, **2**, 375-391.
3. ALEXANDER (R. A.). — Studies on the neurotropic virus of Horse Sickness. I. Neurotropic Fixation. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1959, **4**, 291-322.
4. ALEXANDER (R. A.). — Studies on the neurotropic virus of Horse Sickness. II. Some physical and chemical properties. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1935, **4**, 323-348.
5. ALEXANDER (R. A.). — Studies on the neurotropic virus of Horse Sickness. III. The intracerebral protection test and its application to the study of immunity. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1935a, **4**, 349-377.
6. ALEXANDER (R. A.). — Studies on the neurotropic virus of Horse Sickness. IV. The pathogenesis in horses. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1935b, **4**, 379-388.
7. ALEXANDER (R. A.). — Studies on the neurotropic virus of Horse Sickness. V. The antigen response of horse to simultaneous trivalent immunization. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1936, **7**, 1, 11-16.
8. ALEXANDER (R. A.), NEITZ (W. O.) & DU TOIT (R. M.). — 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. vet. Res.*, 1936, **7**, 17-30.
9. ALEXANDER (R. A.). — Studies on the neurotropic virus of Horse Sickness. VI. Propagation in the developing chick embryo. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1938, **11**, 9-19.
10. ALEXANDER (R. A.) & MASON (J. H.). — Studies on the neurotropic virus of Horse Sickness. VII. Transmitted immunity. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1941, **16**, 19-32.
11. ALEXANDER (R. A.). — The 1944 Epizootic of Horse Sickness in the Middle East. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1948, **23**, 77-92.
12. BAKAYA (H.) & GURTURK (S.). — Morphologische Untersuchungen am Virus der afrikanischen Pferdesterbe. *Dtsch. tierarztl. Wschr.*, 1962, **69**, 451-452.
13. CASALS (J.). — Acetone ether extracted antigens for complement fixation with certain neurotropic viruses. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.*, 1949, **70**, 339-343.
14. CLARKE (D. H.) & CASALS (J.). — Technique for haemagglutination and H.I. with arthropod-borne viruses. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1958, **7**, 561-573.

15. CURASSON (G.). — *Traité de pathologie exotique vétérinaire et comparée, tome I: Maladie à ultravirus. Vigot frères Edit., Paris, 1942. 170.*
16. DU TOIT (P. J.) & ALEXANDER (R. A.). — The immunization of horses against horse sickness by the use of formolized virus. *XVIIth Report Dir. Vet. Union S. Afr., 1930, 85-104.*
horses against Horse Sickness by the use of formolized virus. *Onderstepoort J. vet. Res., 1935a, 1, 25-48.*
17. DU TOIT (P. J.), ALEXANDER (R. A.) & NETZ (W. O.). — The immunization of mules with formolized Horse Sickness virus. *Onderstepoort J. vet. Res., 1935b, 1, 21-24.*
18. DU TOIT (P. J.), ALEXANDER (R. A.) & NETZ (W. O.). — The immunisation of mules with formolized Horse Sickness virus. *Onderstepoort J. vet. Res., 1935b, 1, 21-24.*
19. DU TOIT (R. M.). — The transmission of Bluetongue and Horse Sickness by culicoides. *Onderstepoort J. vet. Res., 1944, 19, 7-16.*
20. ERASMUS (B. J.). — Cultivation of Horse Sickness virus in tissue culture. *Nature, Lond., 1963, 200, 716.*
21. ERASMUS (B. J.). — Preliminary observations on the value of the guineapig in determining the innocuity of neurotropic attenuated Horse Sickness strains. *Onderstepoort J. vet. Res., 1963, 30, 11-22.*
22. ERASMUS (B. J.). — Some observations on the propagation of Horse Sickness virus in tissue culture. *Bull. Off. int. Epiz., 1964, 62, 923-928.*
23. ERASMUS (B. J.). — The attenuation of viscerotropic Horse Sickness virus in tissue culture. *Bull. Off. int. Epiz., 1965, 64, 697-702.*
24. HAIG (D. A.), MCINTOSH (B. M.), COMMING (R. B.) & HEPSTEAD (J. S.). — An outbreak of Horse Sickness complicated by distemper in a pack of foxhounds. *J. S. Afr. vet. med. Ass., 1956, 27, 245-249.*
25. HAZRATI (A.). — The contribution of Iran in combating recent epizootic of African Horse Sickness in the Middle East. *Arch. Inst. Hessarek, 1963, 15, 73-81.*
26. HAZRATI (A.) & TASLIMI (H.). — Study on horse sickness virus strains isolated in Iran. *Proc. XVIIth World vet. Congr. Hannover, 1963, 1, 535-543.*
27. HAZRATI (A.) & OZAWA (Y.). — Monovalent live virus Horse Sickness vaccine. *Bull. Off. int. Epiz., 1965, 64, 683-695.*
28. HAZRATI (A.) & OZAWA (Y.). — Serological studies of African Horse Sickness virus with emphasis on neutralization test in tissue culture. *Canad. J. comp. Med., 1965, 29, 173-178.*
29. HAZRATI (A.). — African Horse Sickness live and killed virus tissue culture vaccine. *Proceeding first intern. Conf. of Equine infect. Disease, July, 1966, Stresa.*
30. HOPKINS (I. G.), HAZRATI & OZAWA (Y.). — Development of plaque techniques for titration and neutralization tests with African Horse Sickness virus. *Amer. J. vet. Res., 1966, 27 (116), 96-105.*
31. HORNE (R. W.), BRENNER (S.), WATERSON (A. P.) & WILDY (P.). — Electron microscopy of neurotropic African Horse Sickness virus. *J. mol. Biol., 1959, 1, 84.*
32. HOWELL (P. G.). — Report, F.A.O. Meeting on African Horse Sickness, Beirut, Lebanon, Aug. 3-5, 1960. *Bull. Off. int. Epiz., 1960, 53, 1168 & 1191.*

33. HOWELL (P. G.). — The isolation and identification of further antigenic types of African Horse Sickness virus. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1962, **29** (2), 139-149.
34. HOWELL (P. G.). — Observations on the occurrence of African Horse Sickness amongst immunized horses. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1963, **30** (1), 3-10.
35. HOWELL (P. G.) & ERASMUS (B. J.). — Recent contributions to the study of the virus of African Horse Sickness. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, **60**, 883-887.
36. HOWELL (P. G.). — Maladies nouvelles des animaux. H. La Peste équine africaine. Etudes agricoles de la F.A.O., 1964, **61**, 75-115.
37. HUQ (M. M.). — African Horse Sickness in Pakistan. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1961, **55**, 278-284.
38. HUQ (M. M.) & ANSARI (M. Y.). — Gel-precipitin test for the diagnosis of south African Horse Sickness. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1962, **58**, 691-698.
39. HUCK (R. A.). — The classification of viruses. *Vet. Bull.*, 1964, **5**, 239-253.
39. bis. JOUBERT (L.). — Actualités. Alerte à la Peste équine. L'ébizoote au Maroc et la protection en France. *Rev. Méd. vét.*, 1967, **30**, 49-57.
40. KANDA (Y.) & MELNICK (J. L.). — *In vitro* differentiation of virulent and attenuated polio virus by their growth characteristics on MS cells. *J. exp. Med.*, 1959, **109**, 9-24.
41. KIND (G. G.). — Investigations into Horse Sickness. The nature of immunizing agents in formalized virus. *J. S. Afr. vet. med. Ass.*, 1934, **5**, 25-28.
42. MCINTOSH (B. M.). — The isolation of virus in mice from cases of Horse Sickness in immunized horses. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1953, **26**, 183-195.
44. MCINTOSH (B. M.). — Complement fixation with Horse Sickness viruses. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1956, **27**, 165-169.
45. MCINTOSH (B. M.). — Immunological types of Horse Sickness virus and their significance in immunization. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1958, **27**, 465-538.
46. MAURER (F. D.). — African Horse Sickness. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 1961, **138** (1), 15-16.
47. MAURER (F. D.) & MCCULLY (R. M.). — African Horse Sickness, with emphasis on pathology. *Amer. J. vet. Res.*, 1963, **24**, 235-266.
- 47 bis. MAURICE (Y.) & PROVOST (A.). — Les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la Peste équine. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trcp.*, 1963, **19**, 439-449.
48. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — Adaptation du virus de la Peste équine à la culture de cellules. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 1962, **255**, 424-425.
49. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — Adaptation of Horse Sickness virus to tissue culture. *Nature, Lond.*, 1963, **198**, 704-706.
50. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — Visualization of Horse Sickness virus by the fluorescent antibody technique. *Immunology*, 1964, **7**, 213-219.
51. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — Immunization against African Horse Sickness with tissue culture adapted neurotropic virus. *Brit. vet. J.*, 1964, **120**, 481-486.

52. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — Attempts to vaccinate foals with living tissue culture adapted Horse Sickness virus. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1964, **62**, 911-921.
53. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — Inhibitory effect of heparin on African Horse Sickness virus. *Arch. Inst. Hessarek*, 1965, **17**, 89-91.
54. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — The formation of plaques by African Horse Sickness viruses and factors affecting plaque size. *Canad. J. comp. Med.*, 1966, **30**, (2), 47-51.
55. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — The nucleic acid of African Horse Sickness virus. *J. Hyg. Camb.*, 1966, **64**, 255-259.
- 55 bis. MIRCHAMSY (H.) & TASLIMI (H.). — Thermal stability of African Horse Sickness virus. *Arch. ges. Virus-forsch.*, 1967, **20**, 275-277.
- 55 ter. MOREL (P. C.). — Les ultra-virus des animaux domestiques transmis par les arthropodes en Afrique (virus ARBOR). *Bull. Off. int. Epiz.*, 1962, **58**, 391-425.
56. NIESCHULZ (O.). — L'infection des souris avec le virus de la Peste équine africaine. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 1932, **59**, 1433-1445 (en hollandais).
57. NIESCHULZ (O.), BEDFORD (G. A. H.) & DU TOIT (R. M.). — Results of a mosquito survey at Onderstepoort during the summer 1931-1932 in connection with the transmission of Horse Sickness. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1934, **3**, 43-77.
58. NIESCHULZ (O.), BEDFORD (G.A.H.) & DU TOIT (R. M.). — Investigations into the transmission of Horse Sickness at Onderstepoort during the season 1931-1932. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1934, **3**, 275-334.
59. NIESCHULZ (O.) & DU TOIT (R. M.). — Investigations into the transmission of Horse Sickness at Onderstepoort during the season 1932-1933. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1937, **8**, 213-268.
60. NOBEL (T. R.) & NEUMANN (F.). — Vaccination against African Horse Sickness and post vaccination reaction in Israel, *Refuah vet.*, 1961, **18** (3), 168-173.
61. ORHAN (A.). — Notes on African Horse Sickness in Cyprus. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1961, **55**, 250-257.
62. OZAWA (Y.). — The production of African Horse Sickness vaccine, F.A.O. Publications No. 1556. F.A.O., Rome (Italy), 1962.
63. OZAWA (Y.) & HAZRATI (A.). — Growth of African Horse Sickness virus in monkey kidney cell culture. *Amer. J. vet. Res.*, 1964, **25**, 505-511.
64. OZAWA (Y.), HAZRATI (A.) & EROL (M.). — African Horse Sickness live virus tissue culture vaccine. *Amer. J. vet. Res.*, 1965, **26**, (110), 154-168.
65. OZAWA (Y.) & NAKATA (G.). — Experimental transmission of African Horse Sickness by means of mosquitos. *Amer. J. vet. Res.*, 1965, **26**, (112), 744-748.
66. OZAWA (Y.), HOPKINS (I.) & HAZRATI (A.). — Cytology of monkey kidney cell infected with African Horse Sickness virus. *Nature, Lond.*, 1965, **200**, 1321-1323.
67. OZAWA (Y.). — Interference between African Horse Sickness viruses in tissue culture. *Amer. J. vet. Res.*, 1966, **27**, (116), 10-109.
68. OZAWA (Y.), MOJTABAI (A.), HOPKINS (I. G.), HAZRATI (A.) & KAVEH (M.). — Sequential cellular changes produced by African Horse Sickness virus in monkey cells. *Amer. J. vet. Res.*, 1966, **27** (118), 695-697.

69. OZAWA (Y.), NAKATA (G.), SHA-DEL (F.) & NAVAI (S.). — Transmission of African Horse Sickness by a species of mosquito: *Aedes aegypti* Linnaeus. *Amer. J. vet. Res.*, 1966, **27** (118), 695-697.
70. OZAWA (Y.) & BAHRAMI (S.). — African Horse Sickness killed virus tissue culture vaccine. *Canad. J. comp. Med.*, 1966, **30**, 311-314.
71. PAVRI (K. M.). — Haemmagglutination and haemmagglutination-inhibition with African Horse Sickness viruses. *Nature, Lond.*, 1961, **189**, 249.
72. PAVRI (K. M.) & ANDERSON (C. R.). — Haemmagglutination-inhibition tests with different types of African Horse Sickness virus. *Indian J. vet. Sci.*, 1963, **33**, 113-117.
73. PAVRI (K. M.) & ANDERSON (G. R.). — Isolation of a vaccine strain of African Horse Sickness virus from brains of two horses given polyvalent vaccine. *Indian J. vet. Sci.*, 1963, **33**, 215-219.
74. PIERCY (S. E.). — Some observations on African Horse Sickness including an account of an outbreak amongst dogs. *E. Afr. agric. J.*, 1951, **17**, 1-3.
- 74 bis. PILO-MORON (E.), RAHAL (A.) & VINCENT (J.). — Premiers cas de Peste équine observés en Algérie. *Arch. Inst. Pasteur Alger.*, 1965, **43**, 129-130.
75. POLSON (A.). — The particle size of African Horse Sickness virus as determined by ultrafiltration and ultracentrifugation. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1941, **16** (1-2), 33-50.
76. POLSON (A.). — The electrophoresis of the neurotropic virus of Horse Sickness and its neutralizing antibodies in low concentration. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1941, **16** (1-2), 51-66.
77. POLSON (A.). — The diffusion constant and molecular weight and shape of neurotropic Horse Sickness virus. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1947, **22**, 41-50.
78. POLSON (A.) & DENT (J.). — The rate of inactivation by ultraviolet irradiation as a means of distinguishing antigenically different strains of African Horse Sickness virus. *Brit. J. exp. Path.*, 1950, **31** (1), 1-4.
79. POLSON (A.) & MADSEN (T.). — Particle size distribution of African Horse Sickness virus. *Biochim. biophys. Acta*, 1954, **14**, 366-373.
80. POLSON (A.) & DEEKS (D.). — Electron microscopy of neurotropic African Horse Sickness virus. *J. Hyg. Camb.*, 1963, **61**, 149-153.
81. RAFYI (A.). — La Peste équine. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1961, **56**, 107-215 (français) & 216-250 (anglais).
82. REID (N. R.). — African Horse Sickness. *Brit. vet. J.*, 1961, **118**, 137-142.
83. SHAH (K. V.). — Investigation of African Horse Sickness in India. Study of the natural disease and the virus. *Indian J. vet. Sci.*, 1964, **34**, 1-14.
84. SHAH (K. V.), CHINOY (D. N.), TABA (B.) & GOKHALE. — Investigations of African Horse Sickness in India. Reactions in non-immune horses after vaccination with the polyvalent African Horse Sickness vaccine. *Indian J. vet. Sci.*, 1964, **34**, (2), 75-83.
85. THEILER (A.). — African Horse Sickness. *South Africa. Department of Agriculture Science. Bulletin No. 19*, 1921.

86. THEILER (A.). — African Horse Sickness. *Syst. Bact. in Relation to Med. Br. med. Res. Council*, London, 1930, 362-375.
87. WALKER (J.). — Horse Sickness, prophylactic vaccination experimental. *Ann. Agric. Colony and Protectorate, Kenya*, 1931. 304-308.
88. WHITWORTH (S. H.). — Memorandum on Horse Sickness immunization. *Depu. Agric. Colony and Protectorate, Kenya*, 1929. *Bull. 8 D of 1929*.
89. F.A.O.-W.H.O.-O.I.E. Annuaire de la Santé Animale, Rome, 1960.
90. Rapport de la Réunion d'urgence O.I.E.-F.A.O. sur la Peste équine africaine et la Peste porcine africaine, tenue à aPris en janvier 1961. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1961, **55**, 76-538.
91. Report to the Governments of Afghanistan, India, Iran, Iraq, Pakistan, Turkey and the United Arab Republic on the 1960 epizootic of African Horse Sickness, F.A.O. Rep. ser. 1961.
92. F.A.O.-O.I.E. meeting on emerging diseases of animals, Ankara, Turkey, June 19-24 1961. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1961, **55** (7-8), 1228-1301.