

PREMIERE PARTIE

I—La fièvre charbonneuse en Iran

1 — Historique — Espèces atteintes

Il n'est pas possible, pour des raisons qui apparaîtront au cours de ce travail, d'obtenir en Iran des renseignements numériques exacts concernant les épizooties. Nous nous abstenons par conséquent de faire état des statistiques, qui doivent être interprétées avec beaucoup de précaution, et nous ne retiendrons que les faits authentiques.

Le premier diagnostic certain de fièvre charbonneuse, fut établi en 1905 par le vétérinaire français Poinson, qui dirigeait à l'époque les haras impériaux. Son successeur Carré, en 1907, observa 18 cas mortels dans une seule écurie où se trouvaient 40 chevaux.

Le chef du Laboratoire vétérinaire de l'Armée, Carpentier (1931) observa de nombreux cas chez le cheval, de 1927 à 1929. Il rapporte qu'aux abattoirs de Téhéran, sur une moyenne de 1.200 à 1.300 moutons et chèvres, et 15 à 20 bovins, on observa chaque jour, pendant la même période, au moins 2 ou 3 cas de charbon. En 1930, sur un troupeau de 275 têtes, 80 animaux furent reconnus charbonneux et saisis. Depuis, nous avons pu constater soit directement, soit par l'examen de matériel envoyé des provinces, que la fièvre charbonneuse sévit sur toute l'étendue du territoire, et cause des pertes considérables particulièrement chez le mouton. En évaluant à 15 millions la population ovine de l'Iran, on peut admettre qu'avant 1931, les pertes annuelles étaient supérieures à 1 million. C'est d'ailleurs le préjudice considérable porté à l'économie du pays par la peste bovine d'une part, et le charbon des moutons d'autre part, qui détermina le Gouvernement, en 1931, à créer un Institut de recherches et de préparation des vaccins, puis un Service vétérinaire.

La fréquence du charbon n'est pas tant en relation avec la réceptivité des diverses espèces, qu'avec leurs conditions d'existence. Par exemple dans des conditions expérimentales, la chèvre est au moins aussi réceptive que le mouton, et cependant,

dans les troupeaux, les chèvres sont rarement infectées. L'explication la plus plausible est que la chèvre recherche les feuilles élevées, tandis que le mouton trouve sa pâture au ras du sol.

Chez le cheval, le charbon n'est fréquent que dans les effectifs militaires, où, en l'absence de vaccination la mortalité est très élevée. D'après Carpentier (1931), l'infection serait facilitée par la distribution d'orge aux épis très vulnérants, et de luzerne mêlée de chardons.

Chez les bœufs, le charbon n'est point très rare, mais sévit sous la forme sporadique, parce que ces animaux sont exceptionnellement réunis en troupeaux. Il en est de même pour les chameaux, qui pâturent isolément et semblent peu sensibles à l'action des herbes piquantes dont ils se nourrissent.

L'élevage du porc n'a pris quelque extension en Iran que depuis quelques années, et le charbon est exceptionnellement signalé.

C'est donc seulement en ce qui concerne le mouton que le charbon constitue un problème dont la solution comporte de très sérieuses difficultés.

2 — Relations entre les conditions d'élevage des moutons et l'épidémiologie du charbon.

L'élevage des moutons est, depuis des siècles, une des ressources naturelles les plus importantes de l'Iran, nous en trouvons la preuve dans les récits des anciens voyageurs. Tavernier (1677) écrit dans son *VOYAGE EN PERSE* : « Pour ce qui est des moutons, c'est une chose étonnante de voir la quantité prodigieuse de troupeaux qui sortent du Pays des Mèdes. . . . Il ne se passe guère de jours que nous ne trouvions quantité de ces troupeaux dont le moindre est de plus de 1000 bêtes. »

Le Chevalier Chardin (1785) fait des remarques analogues : « La Perse abonde en moutons et chèvres. . . . J'ai vu des troupeaux qui couvraient quatre à cinq lieues de Pais. »

De nos jours, la situation s'est à peine modifiée, parce qu'en raison de l'insuffisance des pluies et de l'irrigation, seule une faible partie de ce pays, qui couvre 1.650.000 kilomètres

carrés, peut être cultivée. Le reste, à l'exclusion des régions désertiques et des forêts, convient parfaitement à l'élevage du mouton sous sa forme la plus simple, qui ne nécessite de la part de l'homme qu'un minimum d'efforts.

Partout, les moutons sont plus ou moins nomades. Ils vont chercher leur nourriture où elle se trouve, c'est-à-dire, pendant l'été en haute montagne, et aux autres saisons dans les régions basses. Dans certaines provinces, les transhumances entraînent chaque année des dizaines de milliers d'animaux hors des frontières du pays, ce qui, du point de vue économique, est préjudiciable aux intérêts nationaux, et complique beaucoup l'établissement d'un plan prophylactique. Ainsi l'élevage, gouverné selon des coutumes ancestrales, échappe à toute amélioration zootechnique sérieuse. Le type de mouton des hauts plateaux est encore celui que décrivait Hérodote, et dont le caractère le plus remarquable est la grosse queue, comparable en tant que réserve de graisse, à la bosse du chameau. Ces animaux, hauts sur pattes, sont capables de parcourir chaque jour de grandes distances, tout en trouvant sur des terrains apparemment dépourvus d'herbe, une nourriture suffisante. Leurs aptitudes, au point de vue de la production de la laine, du lait et de la viande, sont médiocres, et ils n'ont de valeur que par leur nombre. L'homme qui possède des milliers d'animaux ou en est responsable, se préoccupe avant tout de les conduire aux endroits où ils trouveront de l'eau et de l'herbe. L'animal malade n'est l'objet d'aucun soin. S'il ne peut plus suivre le troupeau on l'égorge, pour consommer sa viande, et vendre sa dépouille. C'est seulement lorsqu'une épizootie se révèle très meurtrière que l'on commence à s'émouvoir.

Il est surprenant de constater que l'augmentation considérable du prix des animaux, qui, en 5 ans, est devenu dix fois plus élevé, n'a pas modifié la mentalité des éleveurs. Ils acceptent volontiers de laisser vacciner leurs moutons, mais à condition de ne rien changer à leurs habitudes et de ne supporter aucune dépense. De cette situation, il est difficile de rendre responsables les bergers et les paysans, qui sont de simples gérants, le plus souvent illettrés. Les initiatives devraient venir des grands propriétaires, riches et cultivés, qui pourraient en collaborant avec les services

de l'Etat, réaliser en Iran ce qui a été réalisé en Afrique du Sud ou en Australie, et transformer ainsi la situation économique de leur pays.

Les considérations qui précèdent sont directement en rapport avec l'épidémiologie et la prophylaxie du charbon. La très large contamination des pâturages par les spores est une conséquence évidente des habitudes nomades. Lorsque dans un troupeau apparaît la maladie, un berger isolé, responsable de centaines de bêtes, voit en quelques heures tomber plusieurs moutons. Il égorge les premiers pour pouvoir utiliser leur viande et leur peau; puis abandonne les malades pour emmener au loin son troupeau. Ainsi, pendant des jours, le troupeau infecté transforme les terrains qu'il traverse, en ce que l'on appelait autrefois en France, des *champs maudits*. Les bêtes abandonnées sont déchirées par les carnivores sauvages et les vautours, qui dispersent parfois très loin les organes virulents, avant que la putréfaction ait pu détruire les bactéries. Les zones infectées sont sans cesse plus vastes et plus nombreuses, et il ne peut être question de les repérer.

Il est évidemment facile de critiquer ces pratiques, mais en la circonstance, la critique est stérile. Lorsque sévit l'enzootie il est tout à fait impossible, pour le berger, d'enfouir chaque jour des dizaines de carcasses. L'enfouissement sommaire serait d'ailleurs plus nuisible qu'utile, parce que l'herbe pousse plus dru sur les fosses, et qu'elle est contaminée par les spores pendant des années (voir les notes de Pasteur, Chamberlan et Roux, 1880 et 1881). Si les vieux bergers ont quelque notion des «*champs maudits*» elle ne peut être que très vague: l'incubation de la fièvre charbonneuse dure en effet plusieurs jours, et c'est souvent bien loin des terrains infectés que les moutons trouvent la mort.

La réglementation sanitaire prescrivant la destruction des carcasses, en supposant qu'elle soit applicable et appliquée, est certainement utile pour réduire la fréquence de l'infection charbonneuse chez l'homme, mais ne peut modifier l'épidémiologie du charbon chez le mouton. Il en est de même pour la surveillance des abattoirs et pour le contrôle des produits destinés à l'exportation.

Nous sommes convaincus que l'application des règles de

police sanitaire, restera non seulement impossible, mais encore inutile, aussi longtemps que l'élevage sera basé sur la nomadisation à ses divers degrés. Or, la sédentarisation des nomades ou la transformation des méthodes d'élevage, sont œuvres de longue haleine, qui ne doivent pas faire négliger les moyens immédiats de combattre les épizooties. C'est donc en pleine connaissance de cause que depuis quinze ans, les efforts ont été concentrés sur l'immunisation active des animaux, pour leur permettre de vivre en milieu infecté.

Il n'est point besoin de démontrer que si le but théorique, qui est la vaccination annuelle de tous les moutons, pouvait être atteint, la contamination des territoires cesserait de progresser, et l'on obtiendrait avec le temps un assainissement naturel des pâturages.

L'application du plan adopté en 1930 par le gouvernement iranien avait permis en 1939, de pratiquer dans l'année 6.055.000 vaccinations anticharbonneuses, et le chiffre de 12.000.000 considéré comme suffisant pour réduire la mortalité à un taux négligeable aurait été atteint en 1942. Il convient de souligner que toutes les dépenses relatives à la préparation du vaccin et à son utilisation étaient et sont encore à la charge de l'Etat. Ceci constitue une contribution dont l'importance peut être mesurée par le fait qu'en Afrique du Sud on a évalué à 30.000 Livres sterling la valeur de 2.250.000 doses de vaccin livrées gratuitement aux éleveurs en 1924-1925 (Viljoen, Curson) et Fourie 1928).

A partir de 1936, dans toutes les régions soumises au contrôle du Service vétérinaire, les enzooties ne survenaient plus que dans des troupeaux qui avaient été systématiquement soustraits à la vaccination, gratuite, mais non obligatoire. Seules certaines tribus nomades restaient difficiles à atteindre, mais le problème aurait pu être résolu par l'organisation d'équipes spéciales, suivant les tribus dans leurs déplacements au moment le plus favorable.

L'impossibilité où s'est trouvé le gouvernement iranien de continuer l'action entreprise, en raison de l'occupation de plusieurs régions par les forces alliées, nous a pratiquement

ramenés au point atteint en 1936. Le nombre des vaccinations est en effet tombé de plus de 6.000.000 en 1939, à moins de 3.000.000 en 1944.

Dans toutes les régions où les vaccinations ont été interrompues, la mortalité est chaque année plus importante, et le préjudice causé à l'économie nationale est, compte tenu de l'élévation considérable du prix des animaux, extrêmement élevé.

Néanmoins, la situation pourrait être rapidement rétablie parce que l'expérience acquise, tant dans la préparation des vaccins que dans l'organisation des Services vétérinaires permettrait si les circonstances étaient favorables, d'agir avec rapidité et certitude.

II—La vaccination anticharbonneuse

1 — Remarques sur la pratique des vaccinations en Iran

Dans les pays où l'élevage est pratiqué selon les méthodes modernes, les vaccins ne sont utilisés que par des vétérinaires compétents qui peuvent compter sur la collaboration attentive des éleveurs. On ne vaccine que dans des conditions favorables, et en s'entourant de toutes les précautions utiles. On n'utilise que des vaccins fraîchement préparés ou conservés dans de bonnes conditions. Les sujets vaccinés sont surveillés pendant plusieurs jours, ce qui permet d'intervenir dans les cas de réactions graves. Enfin, le prix des vaccins est considéré comme secondaire.

En Iran, les conditions sont entièrement différentes, ce qui résulte d'une part des méthodes d'élevage qui ont été décrites, et d'autre part de la qualité du personnel technique. Il n'existait pas autrefois en Iran, et il n'existe pas actuellement, de vétérinaires privés, payés par leur clientèle. Ceci est la conséquence de l'indifférence des éleveurs, sur laquelle nous avons précédemment insisté, pour la santé et l'amélioration zootechnique de leurs animaux. Il n'existait pas non plus de vétérinaires des services civils. Depuis que l'État a pris à sa charge l'instruction et la rétribution de tous les techniciens, un Service a pu être créé, qui dispose actuellement de 55 vétérinaires et de 350 aides et vaccinateurs. Ce personnel est théoriquement réparti en 20 régions, ce qui, étant donné l'étendue considérable du pays et l'insuffisance

du réseau routier, suppose que les techniciens sont constamment en déplacement. En raison des transhumances, de la nomadisation, il est impossible d'établir et de respecter un plan méthodique de vaccinations préventives. Les Chefs de région doivent donc vacciner dans les circonstances de temps et de lieu qu'ils jugent le plus favorables, et qui varient d'une année à l'autre. Très souvent, ce sont les vaccinateurs qui posent les diagnostics et pratiquent sans contrôle les vaccinations.

Ces vaccinateurs n'ont qu'une instruction technique sommaire et on ne peut attendre qu'ils résolvent correctement des difficultés qui embarrasseraient parfois des vétérinaires spécialisés dans la prophylaxie des maladies infectieuses.

Prenant en considération cette situation, à laquelle il est impossible de rien changer, on peut concevoir dans quelles conditions les vaccinations sont généralement pratiquées.

Vaccination du milieu infecté.

Elle a été pratiquée pendant des années et reste inévitable. Deux cas peuvent se présenter: ou bien, le diagnostic a été correctement effectué, et certains animaux peuvent être atteints de charbon, ou bien le vaccinateur s'est trompé et vaccinera contre le charbon quand il s'agit d'une autre maladie.

Dans le premier cas, les instructions prévoient que les animaux malades, ou même suspects ne doivent pas être vaccinés, parce que leur mort serait certainement imputée à l'action du vaccin. Un vaccinateur consciencieux examinera donc, s'il en a le temps et la possibilité, les troupeaux à vacciner, et écartera les animaux qui semblent malades. C'est dans ce choix qu'il risque fort de se tromper, pour des raisons que je crois utile de préciser. On admet que le charbon évolue le plus souvent chez le mouton, sous la forme qui est qualifiée de suraigüe, ou de foudroyante, et dont on trouve la saisissante description sous la plume de Delafond (cité par Chamberland, 1883).

«La bête est gaie,» écrit-il, «elle mange de grand appétit, et présente généralement toutes les apparences d'une santé parfaite, quand tout à coup elle cesse de prendre ses aliments, ou s'arrête en les ruminant, s'allonge, se raccourcit, tournoie, tombe par terre,

se débat convulsivement, expulse avec violence de l'écume sanguinolente par les naseaux, urine quelques gouttes de sang, et meurt dans un intervalle qui varie de cinq à dix minutes». Mais l'observateur judicieux qu'était Delafond, marque bien que, *dans l'immense majorité des cas*, cette fin dramatique est précédée de symptômes morbides qui durent plusieurs jours, et la connaissance de ces symptômes revêt au point de vue qui nous intéresse une grande importance. La plupart des classiques les décrivent comme un état de dépression générale que l'on retrouve au début de toutes les maladies infectieuses: l'animal ne mange pas, reste immobile, la tête basse, ne se déplace que si l'on l'y oblige, traîne en arrière du troupeau. Ce sont ces symptômes que cherchera le vaccinateur, et on ne saurait l'en blâmer. La réalité cependant est bien différente, et nous ne pouvons mieux faire, pour la décrire, que de citer encore Delafond:

«Les bêtes à laine qui vont être atteintes du charbon, ont une vivacité et une excitabilité qui ne sont point ordinaires. Leur regard est vif, et on les voit quelquefois se dresser sur l'animal le plus voisin... Lorsque le troupeau parcourt en liberté, on voit ordinairement les bêtes les plus belles, les plus jeunes et les plus grasses, s'arrêter quelques instants, allonger la tête, dilater les narines, ouvrir la bouche et respirer péniblement, mais cette dyspnée disparaît bientôt... Après le repas, le ventre se ballonne, mais toujours cette indisposition est de courte durée. Ces signes acquièrent une haute importance, lorsqu'on voit que l'urine est roussâtre, déjà sanguinolente, et que l'on s'aperçoit que plusieurs toisons sont tachées de rouge par l'urine des bêtes déjà malades... Tous ces symptômes indiquent que la maladie existe déjà dans les bêtes qui les présentent, et que bientôt elle va peut-être s'aggraver et faire périr l'animal rapidement. C'est ce qui arrive en effet, s'il fait un repas trop substantiel, s'il est exposé à l'insolation, s'il éprouve l'influence de l'air chaud, chargé d'électricité, s'il reste au parc pendant une pluie d'orage,

s'il ressent les effets d'un changement subit de température.»
C'est alors seulement que la «bête à laine» reste en arrière du troupeau, cesse de manger et ne tarde pas à mourir en présentant les manifestations du «charbon foudroyant.»

Delafond, nous prévient «*que ces préludes précèdent de plusieurs jours l'invasion du mal, mais ne frappent point des yeux peu exercés sur les maladies du menu bétail, parce qu'il faut les constater en gouvernant le troupeau dont les bêtes d'ailleurs paraissent jouir d'une excellente santé.»*

Si nous n'avons pas résisté à la tentation de reproduire cet excellent passage d'un auteur oublié, c'est qu'il met parfaitement en évidence les erreurs auxquelles est exposé un vaccinateur moyen. Loin d'écarter les animaux qui ne pourraient paraître suspects qu'à un clinicien averti, ou à l'éleveur qui «*gouverne attentivement son troupeau,*» ce sont eux qu'il vaccinera de préférence, et dont on l'accusera d'avoir causé la mort.

Passons maintenant au cas, où le vaccinateur commet une erreur de diagnostic, et vaccine contre le charbon des animaux atteints d'une autre maladie.

Si l'on en croit Carpentier (1931) l'on aurait, en 1923, vacciné contre le charbon, tous les bovins d'une région, alors qu'ils étaient atteints de peste. Viljoen, Curson et Fourie (1928) signalent d'ailleurs que des erreurs de diagnostic identiques étaient autrefois commises en Afrique du Sud. Nous avons constaté qu'en Iran, on confond souvent avec la fièvre charbonneuse du mouton, certaines formes de pasteurellose, d'entéro toxémies et de piroplasmose. Ces erreurs sont possibles, parce que ces diverses affections présentent des points communs, surtout quand leur évolution est rapide. Le diagnostic microscopique est facile pour un homme de laboratoire expérimenté, mais entre les mains d'un vaccinateur, le microscope est un instrument dangereux. Il faut donc admettre que la vaccination peut être employée mal à propos. En pareil cas, la réaction causée par le vaccin peut aggraver le cours de la maladie, mais la conséquence la plus regrettable est que l'intervention est sans utilité apparente, et que le public conclut à l'inefficacité du vaccin.

Le seul moyen d'atténuer les dangers de la vaccination en

milieu infecté, est d'employer un vaccin ne déterminant qu'une réaction faible, incapable d'avoir une influence sérieuse sur le cours des maladies, et produisant rapidement l'apparition de l'immunité.

Vaccination en un seul temps.

Alors que la conclusion du précédent paragraphe suggère l'emploi de la vaccination en deux temps, d'autres raisons obligent à écarter cette méthode.

Il faut d'abord considérer que lorsqu'on opère sur des millions d'animaux le fait de pratiquer deux injections au lieu d'une, c'est-à-dire de doubler les dépenses de temps et de matériel, a de très sérieuses conséquences financières. Ensuite, on ne pourrait vacciner en deux temps les troupeaux nomades qu'en attachant à leur suite pendant au moins deux semaines une équipe de vaccinateurs, ce qui ne pourrait être envisagé.

La vaccination en un seul temps est donc une nécessité.

Pour les mêmes raisons, l'immunité conférée doit durer au moins une année, ce qui complique encore le problème. Enfin, on peut recommander l'injection du vaccin dans le derme, mais ne pas trop compter que cette recommandation sera respectée. Les vaccinateurs ont affaire à des animaux indociles, ils n'ont que peu ou point d'aides, doivent travailler rapidement, et sont par conséquent excusables si l'aiguille traverse la peau fine des moutons.

Erreurs de dosage.

Il est arrivé qu'un vaccinateur se plaigne de réactions très graves occasionnées par le vaccin. L'enquête faite sur place montra que confondant sérum et vaccin, il injectait dix centimètres cubes à chaque animal, au lieu d'injecter un cinquième de centimètre cube. Ce cas est unique, mais des erreurs moins graves sont inévitables. Même en supposant que la seringue soit convenablement maniée, les réactions de l'animal entraînent fréquemment soit le passage à l'extérieur d'une partie de la dose, soit l'injection d'une dose plus forte. Il n'est point rare aussi qu'un animal soit vacciné deux fois. La dose prescrite doit donc être très éloignée de la dose dangereuse, toute en renfermant plusieurs doses immunitaires.

Altération des vaccins.

Lorsqu'il quitte l'institut de production, le vaccin peut, selon les circonstances, être utilisé immédiatement ou au contraire séjourner des mois à des températures très basses ou très élevées. Bien souvent il est transporté pendant des journées, dans des camions surchauffés, ou à dos de mulet en plein soleil, de sorte que la température dans les ampoules peut atteindre 50 degrés.

Ceci explique partiellement les mauvais résultats obtenus avec les vaccins de l'ancien type pastorien, importés de l'étranger ou préparés sur place. Des expériences restées inédites et effectuées à notre Institut en 1931-32, ont permis de constater que, selon les conditions de leur conservation, ces vaccins peuvent perdre rapidement leur activité, ou au contraire acquérir temporairement une activité excessive. La perte d'activité survient rapidement si le vaccin est exposé d'emblée à des températures dépassant 40°. Les myceliums meurent, et seules les spores que renferment inévitablement les préparations réputées non sporulées peuvent avoir une faible action immunisante. Si au contraire, le vaccin reste un certain temps au voisinage de 30°, les spores qu'ils renferment entrent en germination, et la concentration du vaccin en bactériidies est temporairement augmentée, ce qui explique les réactions dangereuses maintes fois constatées. Puis, les myceliums perdent leur vitalité sans donner de spores, et il ne reste qu'un liquide absolument inactif, bien que présentant après agitation l'aspect du vaccin normal.

Il est donc indispensable que le vaccin soit préparé de manière à conserver longtemps son activité, sans qu'elle subisse de variations. L'expérience nous a montré que pour satisfaire aux conditions de travail habituelles en Iran, la durée de conservation doit être d'au moins un an.

2 — Choix d'un vaccin.

Les remarques précédentes, tout en expliquant la cause des échecs et accidents de vaccination, montrent qu'on ne saurait diminuer leur fréquence qu'en utilisant un vaccin présentant des qualités difficiles à réunir: il doit être peu virulent, pour être employé en milieu infecté, en un seul temps, en prévoyant les erreurs de dosage importantes, et sans entraîner des réactions

locales graves. Il doit être très actif, et faire apparaître dans un bref délai une immunité de longue durée, après une seule injection. Il doit se conserver sans précautions spéciales pendant au moins un an. Il doit pouvoir être préparé en très grandes quantités par des techniques assez simples pour que le prix de revient soit peu élevé. Enfin, il est très désirable que le même vaccin puisse être employé chez les diverses espèces animales, en faisant simplement varier les doses.

En 1931, lorsque nous eûmes à décider du type de vaccin qui serait employé, existaient les vaccins pastoriens classiques, les nouveaux vaccins saponinés du type *Carbozoo*, et les vaccins sporulés du type Einchhorn ou Theiler. Les mérites de la vaccination intracutanée étaient généralement reconnus.

Les premiers essais dans les troupeaux, de vaccins non sporulés du type pastorien donnèrent de mauvais résultats, pour des raisons qui sont données ci-dessus. La préparation de ces vaccins fut définitivement interrompue en 1932. Les vaccins saponinés ne nous ont jamais donné de résultats assez constants pour être employés hors du laboratoire et ne présentent aucun avantage sur les vaccins sporulés non additionnés de saponine. Alors que nous avons définitivement abandonné leur emploi, nous avons eu connaissance du travail de Sterne, Robinson et Nicol (1939) qui, travaillant dans des conditions en bien des points semblables aux nôtres, sont arrivés à des conclusions que nous confirmons entièrement. Ce travail constituant une étude très complète de la question, il serait inutile de relater en détail nos propres expériences, qui sont d'ailleurs moins nombreuses, et il suffit d'insister sur les points suivants:

- a—Le vaccin *Carbozoo* italien original, n'est pas préparé avec une souche pleinement virulente. Les cultures obtenues par repiquage, et traitées de manière à obtenir une émulsion de spores sans saponine, ne sont pas plus virulentes que le 2^o vaccin Pasteur.
- b—Des cultures virulentes de souche iranienne n'ont pas pu être transformées en vaccin (c'est-à-dire être utilisées sans danger), après addition de saponine à diverses concentrations.
- c—Lorsque l'on utilise pour préparer les vaccins, des spores convenablement atténuées, il n'y a aucun avantage à les addition-

ner de saponine, dont l'action locale est inutilement violente, et qui a en soi une action toxique, notamment chez le mouton.

C'est le troisième type de vaccin, à base de spores en suspension dans l'eau physiologique glycinée, qui a montré entre nos mains les diverses qualités dont nous avons expliqué la nécessité. Il a été employé dans ce pays pendant 14 ans, sur plus de 40 millions d'animaux. Nous avons, au cours des années, mis en expérience les vaccins nouveaux qui ont été proposés, mais aucun ne s'est révélé préférable.

III—Le vaccin unique sporulé et stabilisé

1—Historique

L'idée de stabiliser par la glycérine des spores charbonneuses de virulence atténuées, destinées à préparer les vaccins, est probablement due à Cienkowsky (1884), de Kharkov. Des vaccins de ce type furent ensuite utilisés par Detre (1901) en Hongrie, chez les divers animaux domestiques, par Nitta (1914) au Japon, par Kind (1922) en Afrique du Sud. Einchhorn (1925) décrit en détail la technique de préparation en partant d'émulsions de spores obtenues sur gélose. Depuis, les vaccins sporulés furent très largement employés aux Etats-Unis, en Australie, au Japon et dans certains pays d'Europe.

En Afrique du Sud, le «*spore-vaccine*» fut mis à l'étude en 1920. Il est indispensable de se reporter à l'important travail de Viljoen, Curson et Fourie (1923) pour apprécier les qualités du vaccin qui fut finalement mis au point, la simplicité de sa préparation, et la confiance que méritent les procédés de titrage et de contrôle.

Au Maroc, Velu, à partir de 1924, combina chez le mouton l'emploi d'un vaccin sporulé à l'inoculation intradermique selon la méthode de Besredka. D'après une communication personnelle de cet auteur (1932), le vaccin était préparé à Casablanca d'après la technique sud-africaine. Povero (1932) travaillant au laboratoire de Velu a plus particulièrement étudié la préparation des émulsions de spores virulentes destinées à éprouver l'immunité

chez les animaux d'expérience, mais ses conclusions ne sont pas à l'abri de toute critique.

Mentionnons enfin, qu'en Europe centrale, et en divers pays, l'on employait avant la guerre un vaccin sporulé préparé par la maison Bayer. D'après Stephan (1934) ce vaccin était constitué par des spores de diverses souches. La dose vaccinale pour bœuf renfermait au moins 50.000 spores dans un volume de 1cc.

2 — Souches utilisées

Les qualités fondamentales du vaccin sporulé (innocuité, efficacité, stabilité), sont en grande partie fonction de la souche employée.

Nous avons étudié comparativement des souches locales, atténuées par la méthode pastorienne, et diverses souches étrangères obligeamment fournies par les Professeurs Staub, Belfanti et du Toit, ou tirées de vaccins du commerce. Nous avons finalement adopté une souche unique (C5), provenant d'un tube de 2^o vaccin Pasteur original (Paris). Ce tube faisait partie d'un lot de vaccin destiné aux chevaux de l'armée, et qui, injecté sous la peau causait en général des réactions graves. Au laboratoire, les cultures en bouillon tuèrent, au début de 1931, 24 lapins sur 40 à la dose de 0,1 centicube, et chez le mouton, elles causaient des réactions graves si on les injectait dans le derme à la dose de 0,2 centicube. Nous aurions abandonné cette souche qui semblait peu maniable, si elle n'avait présenté une sporulation remarquablement rapide et régulière. Elle servit d'abord pour étudier les conditions de sporulation, et fut passée de nombreuses fois sur cobaye et lapin dans des buts qui étaient sans relation directe avec la préparation du vaccin.

En août 1931, travaillant avec une émulsion de spores en milieu glyciné, nous avons constaté que la virulence pour le lapin avait notablement baissé, et que le mouton tolérait parfaitement de très fortes doses de cette émulsion. Nous préparâmes un premier lot de vaccin (C5-1) qui, au laboratoire comme dans les troupeaux, donna des résultats nettement meilleurs que ceux obtenus avec d'autres souches. Depuis, nous avons constaté que la souche C5 pouvait être utilisée chez toutes les espèces domestiques, et c'est

elle que nous avons constamment employée. Voici ses caractéristiques essentielles.

3 — Caractéristiques de la souche atténué C5

Pouvoir pathogène.

La souche C5 est très virulente pour le cobaye et l'est très peu pour le lapin et les grands mammifères domestiques.

Cobaye

Pour obtenir une DSM-Cobaye, nous partons d'une suspension concentrée de spores stabilisées en S.G., et préparons selon une technique spéciale, des suspensions très diluées dont la teneur en spores vivantes est directement contrôlée par culture. Pour cela, nous prélevons avec 4 pipettes différentes 4 volumes exacts de 1cc. de chaque suspension, et nous les portons dans 4 tubes de Legroux, renfermant 10cc. de gélose peptonée maintenue à 60 degrés. Après agitation, ces tubes sont couchés de manière à obtenir une plaque de gélose sur laquelle les colonies pourront être comptées. Nous faisons une première numération après 48 heures d'étuve, et une seconde après 3 jours. Ce premier temps permet de choisir les suspensions qui seront inoculées.

Pour l'inoculation, nous prenons 4 cobayes de 500 grammes pour chaque suspension. Avec une seringue de 5cc. nous prélevons 5cc. de suspension, longuement agitée au préalable, et nous ensemençons 4 tubes de Legroux, à raison de 1cc. par tube, comme il a été dit plus haut. Puis nous rinçons la seringue à l'eau distillée stérile tiède, et nous l'utilisons pour inoculer sous la peau de 4 cobayes, 1cc. de la suspension considérée.

Le tableau I reproduit un protocole d'expérience.

Les nombreuses expériences de ce genre que nous avons faites, et que nous interprétons naturellement sans aucune prétention à une exactitude mathématique, nous permettent de considérer que pour le cobaye de 500 grammes, la DSM de la souche C5 est représentée par au moins 10 spores vivantes suspendues dans 1cc. de S.G. et inoculée sous la peau. Nous qualifions cette dose de sûrement mortelle parce qu'elle cause la mort de 100 pour 100 des cobayes inoculés. Dans l'ensemble de nos expériences, les doses renfermant de 4 à 8 spores ont tué 80 pour 100 des cobayes, et

T A B L E A U I

Numéro Cobaye	No de la suspension inoculée	Volume	Nombre de spores (2e numération)	Moyenne de spores au centicube	Résultats
1	6	lcc.	29	32	Mort 3 ^e jour
2	—	—	35		Mort 3 ^e jour
3	—	—	35		Mort 3 ^e jour
4	—	—	28		Mort 3 ^e jour
5	10	lcc.	25	22	Mort 3 ^e jour
6	—	—	16		Mort 3 ^e jour
7	—	—	26		Mort 3 ^e jour
8	—	—	21		Mort 3 ^e jour
9	15	lcc.	10	14,5	Mort 3 ^e jour
10	—	—	16		Mort 3 ^e jour
11	—	—	13		Mort 3 ^e jour
12	—	—	19		Mort 3 ^e jour
13	20	lcc.	5	2,7	Mort 3 ^e jour
14	—	—	0		Résiste
15	—	—	2		Résiste
16	—	—	4		Mort 4 ^e jour

moins de 4 spores, 10 pour 100.

Ces chiffres ne sont donnés qu'à titre indicatif, parce que nous ne pouvons jamais être certains d'avoir réellement introduit sous la peau du cobaye un nombre déterminé de spores. Notre opinion est qu'il suffit d'une spore de la souche C5 admise à végéter dans le tissu sous cutané du cobaye, pour causer une infection mortelle, mais que, dans la pratique, ce résultat ne peut être sûrement obtenu qu'en utilisant une dose renfermant un nombre de spores plus élevé.

Nous ne pouvons ici, exposer et justifier en détail les diverses précautions que comporte notre méthode, mais l'expérience nous a permis de constater que la technique habituelle des dilutions expose à de grossières erreurs. Il faut se garder en par-

ticulier de compter les spores dans la suspension la plus diluée, et d'en déduire par calcul le nombre de spores que doivent renfermer les suspensions plus concentrées.

Nous n'avons pas connaissance d'expériences faites dans des conditions semblables aux nôtres, ce qui nous empêche de comparer, pour le cobaye, la virulence de notre souche à celle d'autres souches vaccins. Elle est certainement plus virulente que les souches employées par Sterne et Robinson (1939), qui ne doivent pas tuer tous les cobayes «à la dose de 1|1000 de centimètre cube d'émulsion glycerinée concentrée». Elle est aussi plus virulente que les souches du vaccin de Bayer mentionné plus haut, qui ne tuent que «la majorité des cobayes de 150 à 200 grammes à la dose de 25.000 à 50.000 spores».

Lapin

La souche C5 est si peu pathogène pour le lapin que pour tuer cet animal avec 1 centimètre cube de matériel injecté sous la peau, il faut employer des émulsions concentrées et qui ne peuvent par suite être définies avec précision. En nous basant sur 120 inoculations, choisies parce qu'elles ont été effectuées dans des conditions précises et correctes, nous avons trouvé que la DMM-lapin est au moins égale à 1000 DSM-Cobaye. En raison de la réceptivité très variable des sujets, la DSM est très éloignée de la DMM, et est de l'ordre de 200.000 spores. D'autre part, en employant pour les inoculations, non plus des émulsions de spores titrées par numération, mais des émulsions vaccinales titrées directement chez le mouton comme il sera dit plus bas, les expériences portant sur 13 années montrent que la dose vaccinale pour mouton a tué 27 pour 100 des lapins.

Mouton

Pour l'épreuve de chaque lot de vaccin, deux moutons reçoivent toujours environ 10.000 doses vaccinales (10cc. d'émulsion mère lorsque la dose vaccinale est 0,2 centicube d'émulsion mère diluée à 1 pour 200).

Sur 70 moutons qui ont jusqu'ici subi cette épreuve, il n'a été constaté qu'une hyperthermie ne dépassant pas 7 jours. On peut donc admettre que la souche C5 n'est que faiblement patho-

gène pour le mouton et ne peut produire chez cet animal une infection mortelle.

Bovidés

Se comportent comme le mouton.

Chèvres

Tenant compte des observations qui font considérer les chèvres comme particulièrement sensibles, nous préparions en 1932 un vaccin plus atténué, destiné à ces animaux. Par la suite il a été constaté que la souche C5 est aussi bien tolérée par la chèvre que par le mouton et que le dosage du vaccin peut être sans inconvénients le même chez les deux espèces.

Equidés

La souche C5 aux doses les plus élevées (10.000 DV-mouton) ne peut causer chez le cheval que des réactions locales et thermiques sans altération de l'état général.

Pouvoir immunisant.

Cette question sera traitée lorsque nous décrirons les épreuves pour le contrôle de l'efficacité des lots de vaccin.

Sporulation.

La souche C5 sporule rapidement et régulièrement lorsqu'elle est cultivée à 35-36° sur gélose pauvre, à base de macération de viande sans peptone. La gélose péptonée permet d'obtenir une sporulation initiale plus rapide, mais il est fréquent que lorsque la sporulation a atteint environ 50 pour cent, apparaissent des colonies secondaires filamenteuses, envahissantes, composées d'éléments vacuolaires, boursoufflés, qui meurent sans donner de spores.

Cette variation peut également survenir sur gélose pauvre, si les boîtes restent à l'étuve plus de 4 jours. Nous incubons donc à 35-36° pendant 3 jours, moment où la sporulation atteint 80 à 90 pour cent, puis nous laissons les boîtes à 20-25° pendant 2 à 5 jours pour obtenir dans toutes les boîtes une sporulation finale de 90 à 100 pour cent.

Nous avons essayé à diverses reprises de faire varier la température d'incubation, le *pH*, et la teneur en NaCl, facteurs

qui, d'après certains auteurs (Povero 1932), auraient une influence sur la sporulation. En rapprochant les résultats obtenus par culture de plus de 6.000 boîtes de Roux, dans diverses conditions, nous pouvons conclure que seule la température d'incubation a une influence à peu près constante. Il n'y a aucun intérêt à s'écarter des conditions normales d'alcalinisation (pH 7,0 à 7,5) ni de la proportion normale de NaCl (6 à 8 pour 1.000).

Il est bon de chercher lorsqu'on cultive un nouveau lot, la boîte où la sporulation est la meilleure, et de faire en partant de cette boîte les repiquages qui serviront à conserver la souche.

La sporulation doit être très attentivement surveillée. Lorsqu'elle devient irrégulière il est facile de constater la présence dans les cultures sur gélose de colonies muqueuses, très différentes des colonies à aspect givré qui possèdent l'aptitude sporogénique. On doit alors repartir de colonies givrées jusqu'à ce que les sous-cultures donnent uniformément une sporulation parfaite.

Une autre méthode consiste à faire un passage sur cobaye suivi d'hémocultures en bouillon. Les repiquages sur gélose donnent alors à peu près constamment des colonies présentant uniformément l'aspect givré.

*Cultures en bouillon **

Nous n'avons recours aux cultures en bouillon que pour obtenir la semence nécessaire à la préparation d'un nouveau lot. La souche C5 peut être différenciée des souches virulentes, isolées des animaux ou de l'homme, en déposant la semence sur la paroi du tube de culture, au niveau de la surface du bouillon. Après 24 heures, les souches virulentes donnent d'élégants filaments qui ondulent depuis la surface, jusqu'au fond du tube, tandis que la souche vaccin C5 pousse en flocons légers irréguliers, qui se déposent lentement. Dans les deux cas, le milieu reste parfaitement clair.

4—Souches d'épreuve

Le matériel d'épreuve est constitué par des émulsions de spores en S.G., préparées comme les émulsions vaccinales.

Nous employons depuis 1932 la même souche (C2) isolée d'un bœuf atteint de charbon. Elle a été actuellement passée sur

110 moutons et un grand nombre de lapins, sans que nous trouvions dans l'examen de notre documentation de fait digne de remarque.

Nous avons essayé de déterminer le nombre de spores constituant la DSM pour les divers animaux, mais les résultats donnés par cette méthode doivent être acceptés avec circonspection. Chez le mouton, par exemple, la DSM avait d'abord été fixée à 1.000 spores, en se basant sur une «*série heureuse*» qui avait donné des résultats homogènes. Par la suite nous avons observé des différences considérables qui pouvaient être aussi bien attribuées à des variations de la souche qu'à l'inégale réceptivité des sujets d'expérience. Nous avons maintenant coutume de préparer une fois par an une nouvelle émulsion et de déterminer expérimentalement chez le mouton, non pas la DMM, mais la DSM. Cette dose n'est pas évaluée en nombre de spores mais en volume (1cc. d'émulsion mère diluée à 1 pour 100.000 par exemple).

A titre indicatif, mentionnons que pour une émulsion donnée, la DSM-mouton est à peu près identique à la DSM-lapin, et deux fois plus forte que la DSM-chèvre. La résistance des bovins est très variable, mais toujours plus grande que celle des moutons. La résistance du cheval est plus grande encore. Pour des raisons qui ne sont pas seulement d'ordre économique, nous n'avons pas cherché à déterminer la DSM-cheval, mais pour contrôler le degré d'immunité conféré par la vaccination nous avons à plusieurs reprises éprouvé simultanément les sujets vaccinés et des témoins neufs, soit en tout 31 chevaux, dont 8 témoins.

Sur les 8 témoins inoculés avec 20 à 15.000 DSM-mouton, un seul, qui avait reçu 100 DSM est mort le 8^e jour. Les autres ont fait seulement des réactions locales et thermiques sans relation avec la sévérité de l'épreuve. Ces résultats montrent tout au plus que pour le cheval, la DSM est au moins 15.000 fois plus forte que pour le mouton. Le fait qu'un cheval a succombé à l'inoculation de 100 DSM témoigne d'une réceptivité particulière, d'ailleurs explicable par l'âge avancé et le mauvais état de cet animal.

5 — Technique de préparation du vaccin sporulé

La durée totale des opérations est d'environ 70 jours.

MATÉRIEL: (pour un lot de 2.500.000 à 3.000.000 de doses)

100 boîtes de Roux de 1 litre.

50 tubes à essai renfermant des billes de verre, stérilisés.

2 flacons à goulot de 8 à 10 litres, bouchés au coton, et accompagnés d'un bouchon de caoutchouc enveloppé de papier et fixé au col du flacon. Le tout stérilisé.

2 grands entonnoirs munis d'une double gaze pour retenir les billes de verre, et stérilisés.

70 flacons de 100cc. à bouchon de caoutchouc, stérilisés.

210 litres de glycérine commerciale neutre.

310 litres de solution de chlorure de sodium à 7 pour 1000.

Matériel usuel de culture et de répartition, ampoules, etc

30 moutons, 10 chèvres, 10 lapins, 10 cobayes.

PRÉPARATION DE LA GÉLOSE PAUVRE.

V viande de veau ou de bœuf	800	grammes
NaCl	5	"
Agar-agar	15 à 20	"
Eau	1000	"

Hacher la viande et laisser macérer une nuit à froid dans l'eau. Porter quelques minutes à l'ébullition en agitant. Exprimer le jus. Filtrer sur papier mouillé. Compléter le volume à un litre, avec de l'eau distillée et ajouter le sel. Neutraliser à la soude jusqu'à virage au bleu du tournesol. Ajouter l'agar-agar lavé et faire dissoudre à feu doux. Porter à l'ébullition. Ajuster à pH 7.2. Filtrer sur toile. Répartir à raison de 150cc. par boîte de Roux et stériliser 20 minutes à 115° .

On voit que nous avons supprimé la première stérilisation et la filtration sur papier qui sont sans utilité.

PRÉPARATION DE LA SEMENCE.

La conservation du pouvoir pathogène de la souche ne peut être contrôlée avec précision que chez le cobaye, et ce contrôle est fait périodiquement selon la technique qui a été décrite à propos de l'étude du pouvoir pathogène, par un technicien différent de celui qui est chargé de la préparation du vaccin.

Pour préparer la semence, partir d'un tube de conservation sur gélose et ensemercer un petit ballon de bouillon peptone. Après 24 heures, repiquer cette culture en bouillon et sur plaques de gélose qui, après 24 heures d'incubation sont examinées macroscopiquement et microscopiquement. Si le résultat est satisfaisant, inoculer 4 cobayes et 4 lapins avec 0,1 centimètre cube de culture en bouillon.

Les cobayes doivent mourir en moins de 3 jours, et les lapins résister. Il est admissible qu'un lapin sur quatre meure, mais si la mortalité est plus élevée, il faut procéder à une nouvelle série d'inoculations sur une dizaine de lapins. Dans le cas où le pourcentage de mortalité dépasse 25 pour cent, il est préférable de repartir d'un autre tube de conservation.

Dès la mort de chaque cobaye, prélever aseptiquement le sang du cœur que l'on ense-

mence en 2 ballons de 500 cc. de bouillon et 2 plaques de gélose. Les cultures doivent être pures, les colonies sur gélose doivent être uniformément du type «givré». Après 24 heures, la sporulation doit être déjà bonne, et les frottis doivent être exempts d'éléments anormaux. Ainsi, après une semaine, il est possible de juger les résultats des inoculations et des cultures et de décider si la semence est satisfaisante. Choisir alors pour ensemen- cer les boîtes de Roux, une culture en bouillon incubée pendant moins de 48 heures, et qui peut être soit une hémoculture directe de cobaye, soit un repiquage d'une colonie sur gélose.

ENSEMENCEMENT DES BOITES DE ROUX.

Après répartition de la gélose les boîtes de Roux doivent rester 3 à 4 jours à l'étuve, tournées de manière à ce que la gélose soit en haut. Ceci permet de vérifier la stérilité et d'évaporer l'eau de condensation.

Le bouillon semence, bien agité, est introduit dans chaque boîte avec un flacon répartiteur. La quantité doit être juste suffisante pour permettre d'humecter, sans laisser de plages sèches, toute la surface de la gélose.

Cette opération doit être faite par le Chef de laboratoire lui-même, avec un aide entraîné, et en prenant toutes les précautions d'aseptie désirables.

Les boîtes, numérotées, sont mises à l'étuve. La faceensemencée sera tournée vers le haut pendant une demi-journée, puis les boîtes seront renversées pour qu'elle soit tournée vers le bas.

VÉRIFICATION DE LA SPORULATION. ■

Après 24 heures la gélose doit être couverte d'une mince couche sèche, d'aspect givré. Les frottis colorés par la méthode de Ziehl doivent présenter des éléments mycéliens réguliers, isolés ou en très courtes chaînes, dans lesquels sont visibles les spores en formation.

Après 48 heures, la sporulation doit atteindre 80 à 90 pour cent et le 30^e jour, on ne trouve guère que des spores libres, de forme et de taille uniformes. Si les plaques de gélose n'ont pas été suffisamment séchées par évaporation de l'eau de condensation, ou si la quantité de bouillon-semence utilisée est excessive, la culture se développe sous forme d'un enduit visqueux, peu adhérent, et la sporulation est généralement irrégulière...

Les boîtes retirées de l'étuve après 48 heures sont laissées 2 à 3 jours à 20-25°.

Pendant ce temps, la sporulation est vérifiée dans toutes les boîtes. S'il en est de défectueuses, elles sont mises à part pour investigations. Une des meilleures boîtes sera choisie pour faire un passage en bouillon et ensemen- cer les géloses de conservation.

RÉCOLTE DES SPORES.

Le Chef de laboratoire assisté d'un aide expérimenté, dispose le matériel nécessaire (billes de verre, tubes d'eau physiologique, flacon goulot taré, avec entonnoir et gaze, glycérine stérile). Dans chaque boîte, introduire la moitié d'un tube à essai de billes de verre et agiter doucement pour râcler la culture sans décoller la gélose. Quand la culture est bien détachée, introduire en 2 ou 3 fois la quantité de solution physiologique stérile nécessaire pour mettre les spores en suspension. Lorsque la gélose est bien lavée, verser le contenu de la boîte sur l'entonnoir-filtre.

Lorsque toutes les boîtes ont été râclées, laver la gaze filtrante avec la quantité d'eau physiologique nécessaire pour que le volume total soit égal à 3 litres. Enlever l'entonnoir, et adapter le bouchon de caoutchouc. Porter sur la balance et ajouter à

l'émulsion 3 kilos de glycérine stérile. Agiter longuement, apposer sur le flacon une étiquette portant les indications nécessaires et complètes. Luter le bouchon à la paraffine et porter à l'étuve à 37° .

ELIMINATION DES ÉLÉMENTS MYCÉLIENS.

On considère qu'un vaccin est stable lorsqu'il conserve ses propriétés immunisantes, telles qu'elles ont été révélées au cours des épreuves, pendant tout le temps de la période de validité du vaccin.

La solution physiologique glycinée à 50 pour cent assure d'abord la destruction des éléments filamenteux, et ensuite la conservation intégrale des spores. Si donc, on titre le vaccin alors qu'il ne renferme plus que des spores on a l'assurance que son pouvoir antigène ne variera pas dans des proportions notables. Si au contraire, on titre le vaccin alors qu'il renferme encore une proportion inconnue d'éléments filamenteux, les résultats obtenus sont sans valeur.

La glycérine diluée à 50 pour cent assure la destruction des éléments filamenteux à 37° dans un temps inférieur à 3 semaines. Il est donc indiqué de laisser l'émulsion mère à l'étuve pendant 3 semaines. Il n'y a aucune espèce d'intérêt à abrégé la durée de ce séjour sauf si l'on est très pressé.

CONTROLE DE L'ÉMULSION.

A) STÉRILITÉ: On prélève 1cc. d'émulsion qui, après dilution dans 100cc. de bouillon sert à ensemencer deux tubes de bouillon, deux tubes de gélose inclinée, et deux tubes Veillon. Les cultures obtenues doivent être pures.

B) TENEUR EN SPORES: Lorsque la préparation du vaccin est conduite par le même technicien, et que la sporulation a été normale, la suspension mère renfermant sous un volume de 6 litres le produit de 100 boîtes de Roux, contient, après stabilisation, environ 500.000.000 de spores par centimètre cube.

Il est cependant utile de contrôler pour chaque lot la teneur en spores. On peut se contenter de comparer au néphélomètre des dilutions identiques de la suspension du lot précédent. On peut également avoir recours à la méthode pondérale, que nous pratiquons selon la technique suivante:

Après longue agitation, prélever avec une pipette de 5cc., exactement 20cc. de suspension, et les porter dans un tube à centrifuger exactement taré. Rincer la pipette dans 10cc. d'eau distillée chaude que l'on ajoute ensuite aux 20cc. de suspension. On peut augmenter cette quantité d'eau distillée sans inconvénient si la capacité des tubes à centrifuger le permet.

Mélanger en roulant le tube dans la main.

Centrifuger pour précipiter la totalité des spores, ce qui, étant donné la viscosité du milieu, nécessite une grande vitesse. A 3.500 tours, après 2 heures, le liquide est parfaitement clair, mais la culture révèle qu'il renferme encore des spores.

Retourner brusquement le tube pour se débarrasser du liquide, et le poser sur du papier filtre stérile, ouverture en bas, pendant quelque minutes. Le porter ensuite dans un dessiccateur garni de chlorure de calcium, qui est laissé 12 heures à l'étuve à 37° .

Après refroidissement, peser le tube, et calculer par différence le poids de spores.

Dans les conditions qui viennent d'être exposées, une suspension mère renfermant

environ 500 millions de spores par centimètre cube, donne un culot de centrifugation pesant environ 0,090 grammes pour 10cc.

Cette méthode pondérale présente le grave inconvénient de ne pas renseigner sur la quantité de spores réellement vivantes présentes dans la suspension. La seule méthode donnant à ce sujet un renseignement assez précis, est la numération par culture sur plaques de gélose. Cette numération donne d'assez bons résultats, à condition que l'on emploie une technique permettant d'obtenir des dilutions de l'émulsion mère allant de 1|10.000.000 à 1|30.000.000, effectuées sans perte de spores. La description de la technique employée dans cet Institut fera l'objet d'un autre travail.

6—Détermination de la dose vaccinale

Les résultats acquis, tant au cours des nombreuses expériences effectuées, qu'en préparant et éprouvant 22 lots de 1 à 3.000.000 de doses de vaccin, nous ont permis de déterminer assez exactement la dose vaccinale.

En partant d'une suspension mère de notre souche C5, stabilisée et renfermant environ 0,090 grammes de spores pour 10cc., soit environ 500 millions de spores par centicube, les doses vaccinales sont fixées comme suit:

T A B L E A U II

Animaux	Dilution	Volume	Nombre de spores
Moutons et chèvres	Suspension diluée à 1 200	0,2cc.	500.000
Veaux	—id—	0,5cc.	1.250.000
Bovins adultes	—id—	1 cc.	2.500.000
Chevaux	—id—	1 cc.	2.500.000

Il est recommandé d'injecter le vaccin dans le derme. Pour les ruminants, à la base ou à la face palmaire de la queue (moutons à queue grasse), pour les chevaux, en 4 ou 5 points répartis sur une surface de 100 centimètres carrés à la face latérale de l'encolure.

Néanmoins, aucun lot de vaccin n'est considéré comme «bon à livrer», avant d'avoir subi des épreuves destinées à confirmer la correction de la dose, son innocuité et son efficacité.

Les expériences sont faites chez le mouton et la chèvre, selon le protocole suivant.

Protocole.

—Mettre en observation 16 moutons, ou 16 moutons et 16 chèvres, selon les cas. Prendre des animaux de un an à 18 mois, en bonne santé et n'ayant certainement pas été vaccinés. Nous employons en général des animaux de notre ferme expérimentale. Prendre les températures matin et soir.

—Préparer les suspensions suivantes en partant de la suspension mère stabilisée et titrée:

T A B L E A U III

No des suspensions	Suspension à diluer		Volume S. G.	Dilution
	n°	cc		
1	mère	10	90 cc	1 10
2	1	10	40 cc.	1 50
3	2	10	30 cc.	1 200
4	3	10	40 cc.	1 1000

—Inoculer les animaux comme suit: (1° et 2° séries)

1° Série

T A B L E A U IV

I N N O C U I T É							E F F I C A C I T É			
No de l'animal	Date (jour)	Suspension	Voie	Dose	Réaction probable		Date (jour)	Nombre de DSM.	Réaction probable	
					Locale	Générale			Locale	Générale
1	1	mère	s c	10 cc.	forte	forte	12	3000	faible	variable
2	1	mère	s c	10 cc.	forte	forte	12	3000	faible	variable
3	1	mère	i d	0,2cc.	moyenne	nette	12	3000	faible	variable
4	1	mère	i d	0,2cc.	moyenne	nette	12	3000	faible	variable
5	1	1 200	i d	0,2cc.	faible	faible	12	3000	faible	nette
6	1	1 200	i d	0,2cc.	faible	faible	12	3000	faible	nette
7	1	1 1000	i d	0,2cc.	faible	faible	12	3000	faible	forte
8	1	1 1000	i d	0,2cc.	faible	faible	12	3000	faible	forte
9	Témoin		s c				12	1	Mort en 24-48 H.	
10	Témoin		s c				12	1	Mort en 24-48 H.	

Remarques

Innocuité.

Les sujets 1 et 2 présentent toujours une forte réaction thermique mais leur état général n'est pas sérieusement altéré et tout rentre dans l'ordre en 4 ou 5 jours. La réaction générale est constituée par un œdème dur de 8 à 10 centimètres de diamètre, qui se résorbe en 4 ou 5 semaines.

Les autres réagissent de façon variable. Il se forme toujours au point d'inoculation un nodule dont la taille va de celle d'un pois à celle d'une noisette, et qui se résorbe en 10 à 15 jours. Il n'est pas rare qu'il se forme une escharre peu étendue qui est éliminée sans complications. La réaction thermique est variable et sans relation avec la dose injectée. Elle peut être plus forte par exemple chez les sujets 7 et 8, que chez 5 et 6. En général elle atteint son maximum entre le 2^o et le 3^o jour, et cesse le 4^o jour. L'état général n'est nullement affecté.

Efficacité.

A la suite de l'inoculation du matériel d'épreuve (3000 DSM), la réaction est toujours faible. La réaction générale se borne à une élévation thermique plus ou moins intense, sans altération de l'état général.

Les sujets 7 et 8 inoculés avec 0,2cc. de la suspension à 1|1000 doivent parfaitement résister à l'inoculation d'épreuve pour que la dose vaccinale soit fixée à 0,2cc. de la suspension à 1 pour 200.

S'ils réagissent très fortement à l'inoculation d'épreuve, on inoculera deux moutons avec 0.2cc. de suspension à 1|500 et deux moutons avec 0,2cc. de la suspension à 1|100. Si l'immunité des deux premiers moutons est bonne et si les réactions des deux derniers sont modérées la DV sera fixée à 0,2cc. de suspension à 1 pour 100.

Les chèvres sont éprouvées de la même manière, mais il suffit pour contrôler l'efficacité d'injecter 1.000 DSM.

Nous avons supprimé les contrôles sur bovidés et sur chevaux qui se sont révélés inutiles.

On jugera peut-être, que notre vaccin pourrait être sans inconvénients plus faible, et il est vrai que la suspension à 1|100

serait dans la plupart des cas suffisante. Néanmoins, l'innocuité réelle de notre souche, et les conditions dans lesquelles le vaccin est conservé et employé, nous ont conduits à adopter un dosage fort, et il n'en est jamais résulté d'accidents.

2° série

Contrôle final

Les résultats de la première série d'épreuves étant connus, nous effectuons le contrôle final du vaccin de la façon suivante:

Si la suspension à 1 pour 200 a été choisie, on met en suspension 10cc. de suspension mère dans 1.990cc. de S.G. et on répartit en ampoules.

Après 8 jours d'étuve, on prend deux ampoules dont la pureté microbiologique est vérifiée par culture, et on vaccine 10 moutons avec 0,2cc.

10 à 12 jours plus tard, ces moutons sont éprouvés avec 3.000 DSM et deux témoins reçoivent 1 DSM. Les vaccinés doivent résister sans réactions anormales et les témoins doivent mourir en 2 à 4 jours.

— Lorsqu'un lot de vaccin est destiné non seulement aux moutons, mais aussi à d'autres animaux, les épreuves de la 2° série sont effectuées chez ces animaux en employant les doses suivantes de vaccin.

Chèvres	0,2cc.
Veaux	0,5cc.
Bovins adultes	1 cc.
Chevaux	1 cc.

Détermination de la dose vaccinale lorsque la souche vaccin n'est pas parfaitement connue.

Lors de la préparation des premiers lots de vaccin, alors que nous n'avions pas une expérience suffisante de l'action pathogène et immunisante de la souche C5, ni de la réceptivité des animaux, la dose vaccinale était déterminée chaque fois expérimentalement sur moutons, chèvres, bovins et parfois chevaux.

En pareil cas, la première série d'épreuves sur mouton,

pourrait sur une série de dilutions plus complète.

Suspension mère: 10 cc., 1 cc., 0,2 cc.

Dilutions à: 1|10, 1|25, 1|50, 1|100, 1|200, 1|500, et à 1|1.000, 0,2 centicube.

Les épreuves sur bovins et chevaux étaient réalisées sur le même type, mais en employant des suspensions plus concentrées, ce qui conduisait à préparer 3 vaccins différents.

Ces précautions sont à recommander lorsque la préparation du vaccin est mise en train, et ne peuvent être supprimées que si un nombre suffisant d'expériences le justifie.

7—Conservation du vaccin

La suspension mère est conservée aux environs de 4° en ampoules ou flacons de 100cc. et son activité reste à peu près constante pendant au moins deux ans. Dans nos conditions de travail elle est utilisée dans les six mois.

Le vaccin est préparé au fur et à mesure des besoins en diluant une ampoule de suspension mère, dans la quantité voulue de S.G. Il est nécessaire d'agiter longuement (au moins 30 minutes) et énergiquement les suspensions, car, en raison de la viscosité du milieu, la dispersion des spores est lente.

La validité des ampoules de vaccin est fixée à un an et, après ce délai, celles qui n'ont pas été utilisées nous sont renvoyées.

Les contrôles effectués à diverses reprises ont montré que le vaccin était resté suffisamment efficace et aurait pu être employé.

8—Emploi du vaccin

La seule précaution importante est l'agitation des ampoules avant usage. Nous recommandons l'inoculation intradermique, mais si le vaccin est introduit partiellement sous la peau, il n'en résulte pas de réactions graves.

9—Interprétation des réactions

L'intensité des réactions thermiques provoquées chez le mouton, la chèvre et les bovidés par la vaccination et par l'inoculation d'épreuve est sans relation fixe avec les doses injectées, et varie avec les sujets.

Nous donnons à titre d'exemple (*Figure 1*) les courbes thermiques de 8 moutons pris dans la 2° série d'épreuves du lot

FIGURE 1

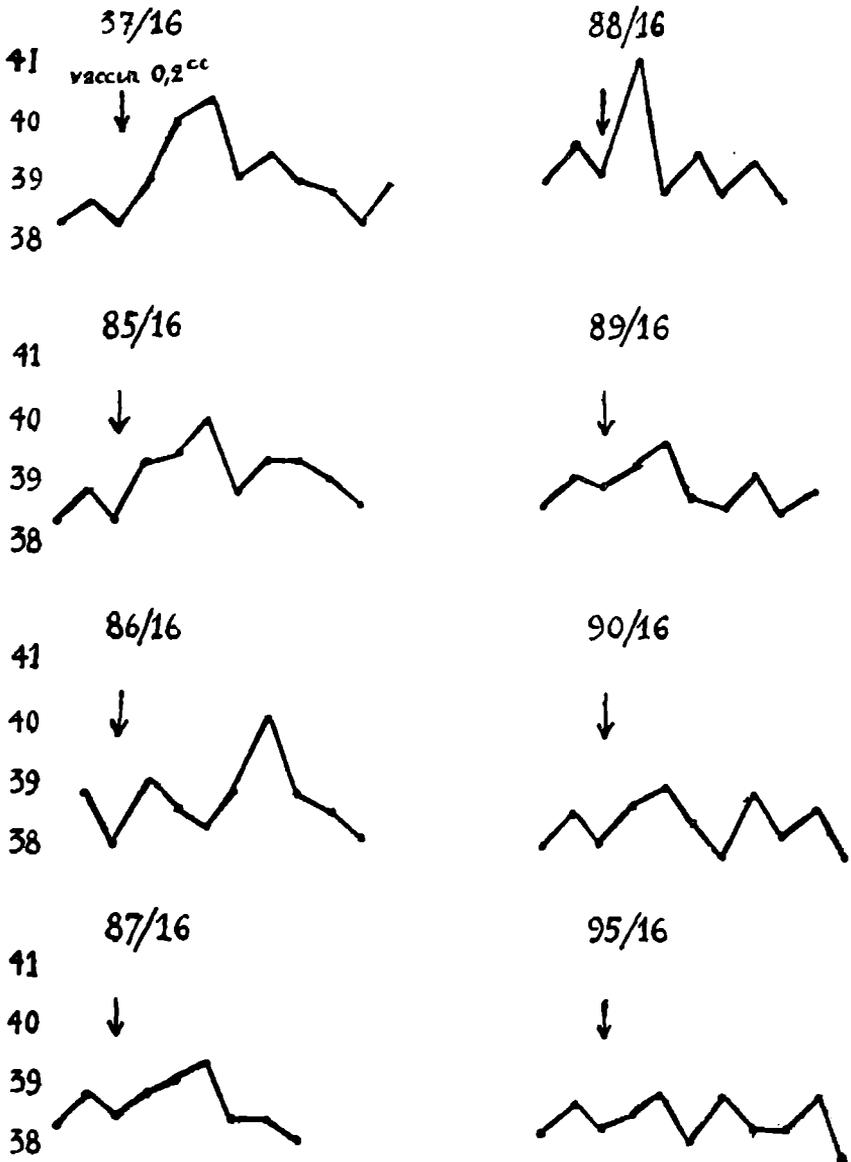


Figure 1—Réactions thermiques chez 8 moutons vaccinés avec le lot de vaccin C5-16.

C5-16. Sur ces 8 moutons, un a dépassé 41°, trois ont dépassé 40°, quatre sont restés au-dessous de 40°. Nous avons vu des différences du même ordre se reproduire lors de l'essai des autres lots.

Avec des doses vaccinales très fortes (10.000 DV), les réactions thermiques sont aussi variables, comme le montre la *Figure II*.

On ne saurait donc se baser entièrement sur la réaction thermique pour apprécier la correction de la dose vaccinale.

En ce qui concerne le degré d'immunité conférée, la réaction thermique ne nous renseigne pas davantage. Des sujets vaccinés avec une très forte dose peuvent réagir plus violemment à l'épreuve que d'autres, vaccinés avec une dose infra normale.

D'une façon générale, les moutons qui réagissent faiblement à l'inoculation vaccinale réagissent faiblement à l'inoculation d'épreuve, et ceci confirme le rôle de ce que l'on pourrait appeler «l'aptitude réactionnelle individuelle». (*Figure III*)

Si on considère que l'état de parfaite immunité doit permettre de tolérer sans aucune réaction des injections de matériel virulent, cet état n'est jamais obtenu. En effet, si à un mouton vacciné, puis éprouvé avec 3.000 DSM, on injecte une nouvelle dose quelconque de matériel virulent, il donnera toujours une réaction thermique dont l'importance est sans signification. (*Figure IV, No 12-5.*)

Le même phénomène s'observe d'ailleurs chez les chevaux, les ânes et les bovidés producteurs de sérum anticharbonneux. Tous réagissent aux recharges successives par des poussées thermiques, et l'intensité aussi bien que la durée de ces poussées varient avec chaque sujet.

La réaction thermique des sujets immunisés ne s'accompagne pas d'altérations sérieuses de l'état général: l'appétit est conservé, l'animal ne semble pas indisposé, les muqueuses et l'urine restent normales.

Chez l'animal non-immunisé au contraire, on sait que l'ascension thermique est accompagnée des signes habituels de la fièvre charbonneuse.

Les réactions locales sont toujours nettes, mais bénignes. La présence de glycérine dans le vaccin provoque une réaction

FIGURE II

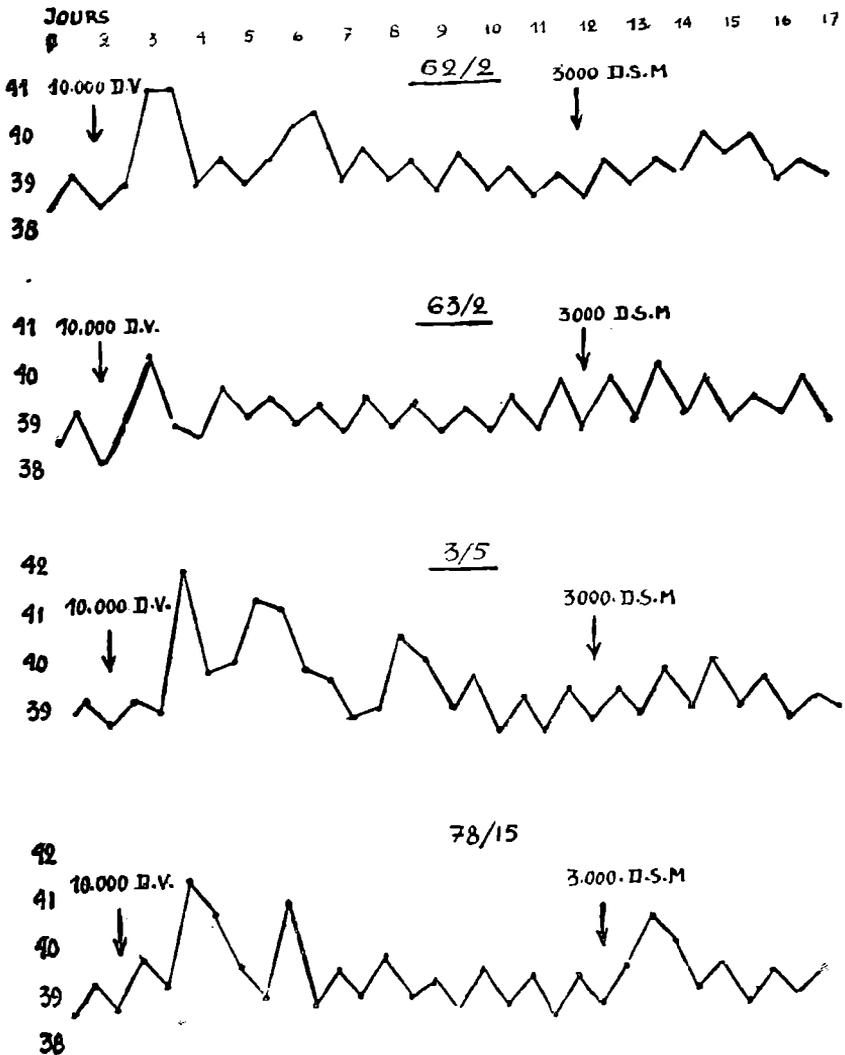


Figure II.—Réactions thermiques provoquées chez le mouton par l'inoculation de 10.000 Doses vaccinales (épreuve d'innocuité), et effets de l'inoculation d'épreuve (3000 Doses sûrement mortelles).

FIGURE III

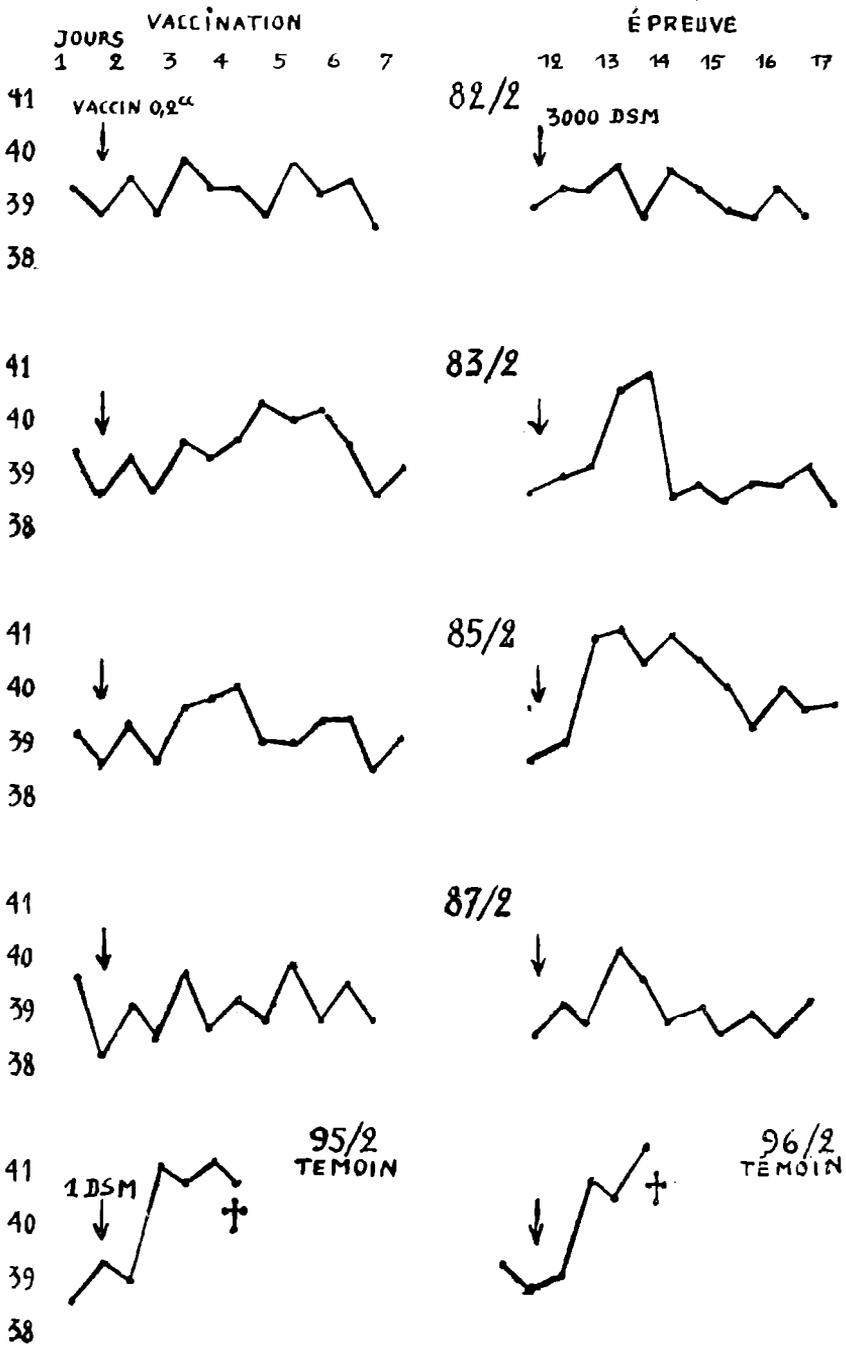


FIGURE IV

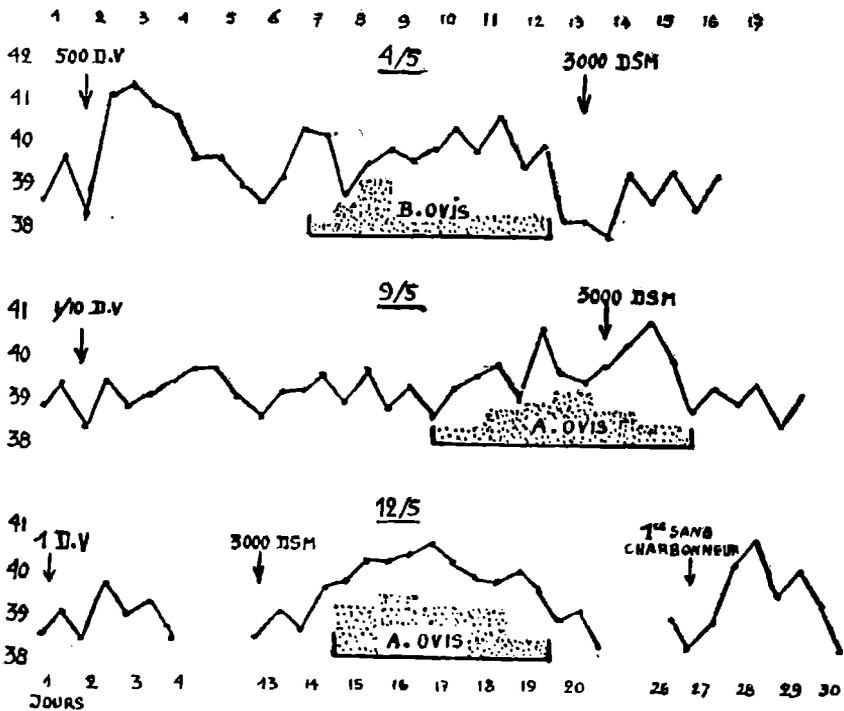


Figure IV—Interférence de la vaccination et des infestations à protozoaires. Le graphique 12-5 montre en outre qu'un sujet qui a toléré une inoculation d'épreuve de 3000 DSM réagit cependant à l'inoculation de lcc. de sang charbonneux.

Figure III (page 36)—Réactions d'importance variable provoquées chez 4 moutons par la vaccination, puis par l'inoculation de 3000 Doses sûrement mortelles (épreuve finale). Les graphiques 95-2 et 96-2, montrent le tracé thermique des témoins ayant reçu une Dose sûrement mortelle. Mort le 3^e jour.

tissulaire non spécifique et elle est d'après nous responsable de la formation d'un nodule dur, bien limité, gros comme un pois, qui ne s'observe pas lorsqu'on emploie des vaccins non glycélinés. Ce nodule est présent, mais plus diffus lorsque le vaccin est injecté sous la peau.

L'injection de matériel d'épreuve sporulé et glycéliné, faite sous la peau, détermine chez l'animal suffisamment immunisé une réaction du même ordre, c'est-à-dire bien limitée et dure. Si l'immunité est insuffisante, apparaît une zone d'œdème. Enfin chez les sujets non immunisés, l'œdème s'étend rapidement et est suivi par une large infiltration des tissus.

Ce sont donc en définitive les caractères de la réaction locale qui doivent être pris en considération, tant pour établir la dose vaccinale que pour juger du degré d'immunité obtenu.

Chez le cheval, le vaccin C5 injecté à la dose de 2cc. dans le derme et en plusieurs piqûres ne détermine d'après les expériences faites au laboratoire qu'une réaction locale modérée consistant en nodules de la grosseur d'un pois à celle d'une noisette, qui sont résorbés en moins de 15 jours. Parfois le 3^o ou le 4^o jour, on observe une poussée congestive. Les nodules deviennent sensibles et il se forme un placard œdémateux. Ces phénomènes disparaissent en 48 heures. La réaction thermique est en règle générale beaucoup moins nette que chez le mouton.

Dans la pratique, les vétérinaires militaires ont signalé des réactions locales plus importantes et parfois des réactions thermiques notables. Nous n'avons malheureusement pas pu obtenir des observations exactes au sujet de ces réactions, dont la fréquence n'a pas été soigneusement établie.

Quoi qu'il en soit, depuis 10 ans, l'armée iranienne vaccine annuellement tous ses chevaux avec notre vaccin, et l'absence de réclamations est un signe certain que les résultats sont bons.

10—Apparition et durée de l'immunité

Les animaux utilisés pour le contrôle des lots de vaccin sont éprouvés du 10^o au 12^o jour. Néanmoins, l'immunité apparaît beaucoup plus tôt, et, dès le 4^o jour après la vaccination, les moutons et les bovidés supportent parfaitement l'inoculation de

3.000 DSM. La réaction thermique est cependant plus intense, et la réaction locale plus étendue, en raison de la formation d'une zone d'œdème autour du nodule.

Dans la pratique, la vaccination arrête presque immédiatement la mortalité dans les troupeaux vaccinés. Il est tout à fait exceptionnel que des animaux meurent après le 4^o jour.

La durée de l'immunité est certainement supérieure à un an. Ceci a été constaté au laboratoire, en éprouvant des animaux, 6, 12 et 16 mois après la vaccination. Ils réagissent à l'épreuve exactement comme ceux qui sont éprouvés après 12 jours (voir tableau V). Dans la pratique, la vaccination annuelle est tout à fait suffisante, aussi bien pour les ruminants que pour les chevaux.

T A B L E A U V
Durée de l'immunité (Vaccin C5-3)

No.	Date de vaccination	Date d'épreuve	Temps depuis vaccination	Nom- bre DSM	Résultats
88	20-8-1940	3-12-41	16 mois	5	Forte réaction thermique pendant 5 jours. Avortement et guérison.
90	20-8-1940	3-12-41	16 mois	5	Réaction thermique pendant 4 jours. Résiste.
136	7-12-1940	3-12-41	12 mois	10	Réaction thermique pendant 3 jours. Résiste.
137	7-12-1940	3-12-41	12 mois	10	Résiste sans réaction.
138	7-12-1940	3-12-41	12 mois	10	Résiste sans réaction.
139	7-12-1940	3-12-41	12 mois	10	Réaction thermique pendant 3 jours. Résiste.
225		3-12-41		1	Mort en 48 heures.
226		3-12-41		1	Mort en 3 jours.

11 — Interférence de la vaccination et des maladies autres que le charbon

Les vaccinations sont très souvent pratiquées dans des troupeaux où le charbon a commencé à sévir, et, d'après l'ensemble

des rapports du personnel vétérinaire, le taux de mortalité ne s'en trouve pas augmenté.

En raison de la fréquence des maladies à hématozoaires, nous avons pu observer le comportement des animaux atteints de ces maladies, lorsqu'ils sont soumis à la vaccination.

Les moutons qui ont vécu un été dans la région de Téhéran, sont généralement infectés par *Babesia ovis* Starcovici 1893, *Theileria ovis* Littlewood 1914, *Anaplasma ovis* Lestoquard 1914, *Theileria recondita* Lestoquard 1919, et *Eperythrozoon ovis* Neitz et du Toit 1935. En d'autres régions ils sont également infectés par *Babesia motasi* Wenyon 1926.

B. ovis et *B. motasi* provoquent lors de l'infestation initiale des accès graves, qui sont parfois confondus avec le charbon. Les autres parasites ne déterminent que des troubles sans gravité. Les animaux guéris restent infectés, comme la splénectomie permet de le constater, de sorte que la plupart des sujets utilisés pour le contrôle du vaccin hébergent l'un ou plusieurs des hématozoaires énumérés ci-dessus.

Rien ne nous permet de penser que la vaccination anti-charbonneuse soit capable de déterminer une rechute parasitaire. Nous avons souvent observé des accès de piroplasmose ou d'anaplasmose chez les animaux en cours d'expérience, mais nous en avons observé autant chez les témoins. Il ne semble donc pas y avoir relation de cause à effet entre les inoculations charbonneuses et les rechutes parasitaires.

Dans les cas où les animaux en expérience ont fait des accès, ce qui constitue à nos yeux une coïncidence, ces accès ont été bénins et ne nous ont été révélés que par la température et les examens du sang. L'inoculation de vaccin ou de matériel d'épreuve ne semble pas en avoir augmenté la gravité.

Nous donnons à titre d'exemple trois graphiques:

Le graphique No. 4-5 (*Fig. IV*) est relatif au mouton, No 4-C5-5, qui à la fin de la réaction thermique provoquée par l'injection de 500 DV présenta de l'hyperthermie pendant une semaine avec présence de *B. ovis* dans le sang. Cette circonstance ne nous empêcha pas de pratiquer le 12^e jour après la vaccination l'inoculation d'épreuve de 3.000 DSM, qui fut parfaitement tolérée.

Le graphique No 9-5 (*Fig. IV*) est relatif au mouton No 9-C5-5, qui, 9 jours après la vaccination fit un accès d'anaplasmose. Il fut éprouvé le 12^e jour, à l'acmé de l'accès parasitaire avec 3.000 DSM. Néanmoins, la température revint à la normale et les parasites disparurent dans les 3 jours suivants.

Dans le cas du mouton No 12-C5-5 (*Fig. IV*), l'inoculation d'épreuve de 3.000 DSM, fut suivie par un accès thermique d'une semaine avec présence d'*Anaplasma ovis* dans le sang. Une semaine après la fin de cet accès, le sujet reçut pour vérifier la solidité de son immunité, 1cc. de sang provenant d'un bœuf mort de charbon et très riche en bactériidies. Il n'en résulta qu'une réaction thermique de 3 jours, sans rechute parasitaire.

Nous pourrions citer bon nombre d'observations identiques.

Chez les bovidés, les choses se passent de la même manière. Il est remarquable en particulier, que l'infection à *Babesia bigemina* qui est généralement réveillée par l'inoculation de virus pestique n'est pas influencée par les injections vaccinales ou d'épreuve de *B. anthracis*.

Chez le cheval, nous n'avons pas pu faire d'observations précises, mais il est possible que certaines réactions thermiques graves signalées par les vétérinaires militaires soient dues à l'interférence de la vaccination et des piroplasmoses.

IV—Résultats généraux des vaccinations

Tout animal vacciné est certainement soustrait à l'infection charbonneuse. La population ovine de l'Iran pouvant être estimée à 15.000.000 de têtes, et la durée de l'immunité conférée par le vaccin étant très supérieure à un an, nous estimons que si l'on pratique 5 à 6.000.000 de vaccinations par an, et si ces vaccinations sont judicieusement pratiquées, les pertes attribuables à la fièvre charbonneuse doivent être très faibles.

Nous pourrions nous baser sur les chiffres fournis par les services vétérinaires pour montrer que cette opinion a été confirmée par la diminution progressive des cas de charbon de 1931 à 1940, mais nous ne saurions garantir que ces chiffres sont toujours exacts, et nous avons la certitude qu'ils ne s'appliquent pas à l'ensemble du pays. Il est en effet impossible de savoir

T A B L E A U V I
Statistique des vaccinations effectuées

Années	Quantités de vaccins livrées
1931-32	21.007
1932-33	287.000
1933-34	893.000
1934-35	1.800.000
1935-36	1.402.000
1936-37	3.400.000
1937-38	3.500.000
1938-39	6.055.000
1939-40	5.058.700
1940-41	5.037.350
1941-42	4.773.000
1942-43	4.872.600
1943-44	2.415.500
TOTAL	39.515.157

exactement ce qui se passe dans les troupeaux nomades.

Voici ce qui peut être accepté comme certain:

- a) De 1931 à 1936, nous avons dû exercer une action soutenue pour faire accepter la vaccination. Les épizooties de charbon sont restées fréquentes.
- b) A partir de 1936, les demandes de vaccination émanant des propriétaires nous ont obligés à augmenter rapidement notre production, qui est passée de 1.400.000 doses en 1935 à 6.000.000 de doses en 1938.

En 1939, le charbon était pratiquement supprimé dans la plupart des régions.

- c) Pendant la guerre, les Services vétérinaires ont été partiellement désorganisés, et à partir de 1942, l'absence de moyens de transport, a empêché l'envoi des vaccinateurs dans la plupart des régions. Néanmoins, jusqu'en 1943, l'on n'a pas signalé des pertes considérables.

d) En 1944, le charbon a sévi dans plusieurs régions et la mortalité a été très élevée. Cette situation s'est considérablement aggravée en 1945, et les pertes peuvent être évaluées à 1.000.000 de moutons.

La suppression partielle ou totale, selon les régions, de la vaccination, a donc eu pour conséquence une recrudescence rapide de la fièvre charbonneuse. Ceci prouve que les sources de l'infection sont loin d'être épuisées, comme on pouvait d'ailleurs le supposer.

e) En évaluant à 1.000.000 le nombre des moutons morts du charbon en 1945, (ce qui constitue une évaluation optimiste) on peut fixer à 500.000.000 de Rials, soit environ 15.000.000 de Dollars, la perte subie par les éleveurs Iraniens.

Le prix de revient de 6.000.000 de vaccinations qui eussent permis de protéger les troupeaux se serait élevé, en tenant compte des frais actuels pour la préparation du vaccin, des salaires du personnel vétérinaire et des frais de transport, à un maximum de 10.000.000 de Rials, soit environ 300.000 Dollars.

* * *

DEUXIEME PARTIE

L'infection charbonneuse chez l'homme.

La coutume très répandue dans les campagnes d'égorger les animaux malades pour en consommer la viande et en utiliser la peau, la laine et certains organes, explique la fréquence des pustules charbonneuses de l'homme.

Notre intention était, en nous occupant de cette question, de rechercher seulement les relations entre l'infection des animaux et celle de l'homme, mais la documentation inédite mise à notre disposition présente un tel intérêt qu'il nous paraît nécessaire d'en publier l'essentiel.

1 — Historique

Il résulte des recherches que M. le Docteur Nadjm Abadi, un des érudits iraniens les plus compétents en la matière, a bien voulu faire à notre intention dans les écrits des vieux savants persans, que l'infection charbonneuse de l'homme n'était pas considérée jadis comme une entité morbide bien définie.

Ahvazi, Avicenne (Ebn Cina), Djordjani, décrivent diverses tumeurs inflammatoires du tissu cutané, nommées «*Kafguirak*» (phlegmon), «*Khoradj*» (anthrax), «*Adassieh*» (lentille), «*Koch Richeh*» (escharre), «*Aghouna*» (ulcère), et qui peuvent concerner des lésions charbonneuses. Elles étaient considérées par ces auteurs comme d'origine interne, et rentraient dans la catégorie des œdèmes sanguins ou phlegmasiques, des parties molles.

Aucun auteur ne semble avoir soupçonné la possibilité de contamination de l'homme par les dépouilles des animaux morts.

Dans les récits des anciens voyageurs, y compris Chardin, qui a cependant réservé un chapitre à la médecine, on ne trouve aucune description pouvant être rattachée au charbon de l'homme ou des animaux.

Enfin, Schlimmer, qui vers 1880 enseignait à la Faculté de médecine de Téhéran, distingue dans sa terminologie médico-pharmaceutique (1874) l'anthrax bénin «lié à un état particulier de la digestion, et l'anthrax malin, mais se borne à mentionner ce dernier, sans donner aucun détail.

De nos jours, bien que les médecins et vétérinaires formés dans les Facultés étrangères ou iraniennes appliquent à la prophylaxie et au traitement du charbon les méthodes les plus éclairées, la masse de la population en reste aux anciennes croyances.

La pustule maligne de l'homme, ou «*Syah Zakhm*» est bien connue, mais on ne soupçonne pas qu'elle puisse avoir quelque rapport avec la fièvre noire (*Tab'Siah*) la fièvre de rate (*Esbol Tô*), ou l'hématurie (*Khoune Chèche*) des animaux.

Les paysans incriminent souvent les piqûres d'insectes ou de tiques. D'autres croient à une origine interne. Aucun en tous cas n'est convaincu que la viande d'un animal égorgé selon les rites puisse présenter un danger quelconque.

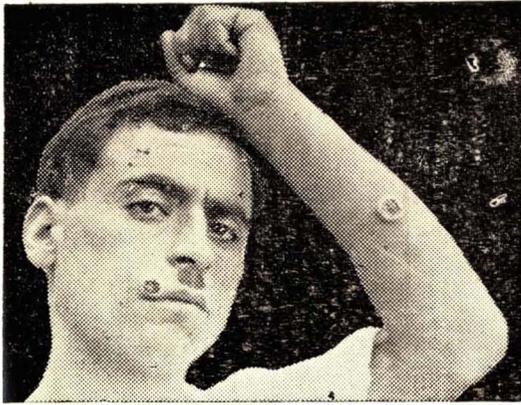
Le diagnostic précis de la fièvre charbonneuse fut probablement posé pour la première fois en 1905 ainsi que nous l'avons dit, par le vétérinaire français Poinignon.

2 — Fréquence

L'examen des statistiques mises à notre disposition par M. le

PUSTULES CHARBONNEUSES

Les photographies Nos 1, 2, 3 et 4 ont été obligeamment communiquées par le Professeur Eghbal et les photographies Nos 5, 6, 7, 8, 9 et 10 par le Professeur Habibi.



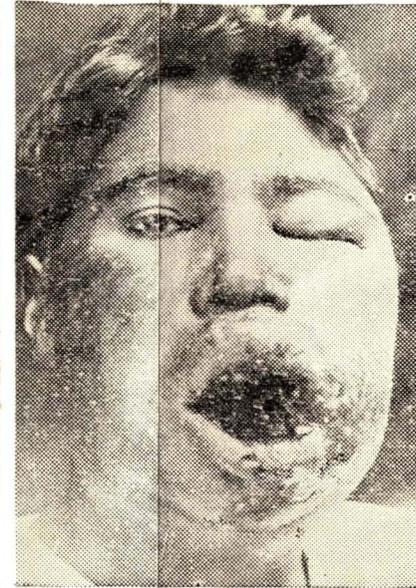
No 1



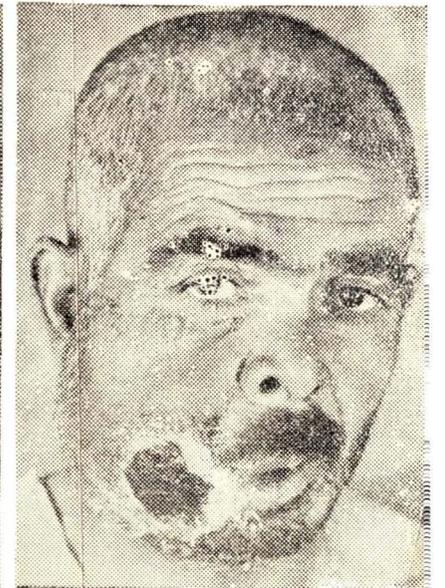
No 2



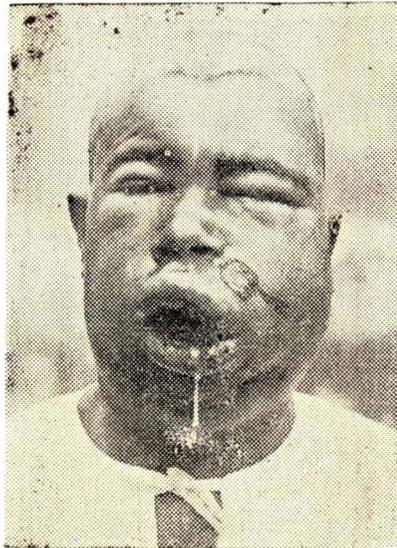
No 5



No 6



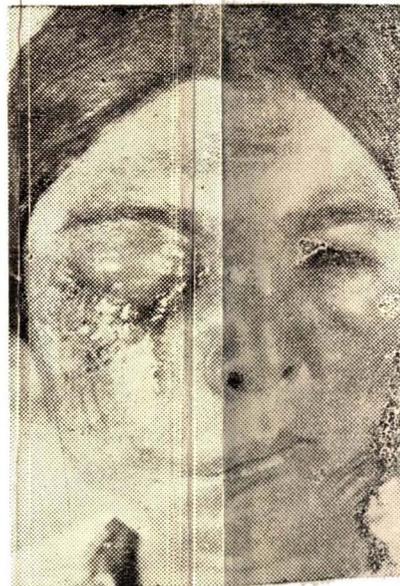
No 7



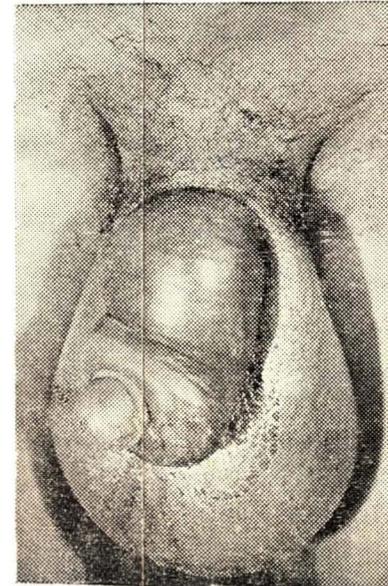
No 3



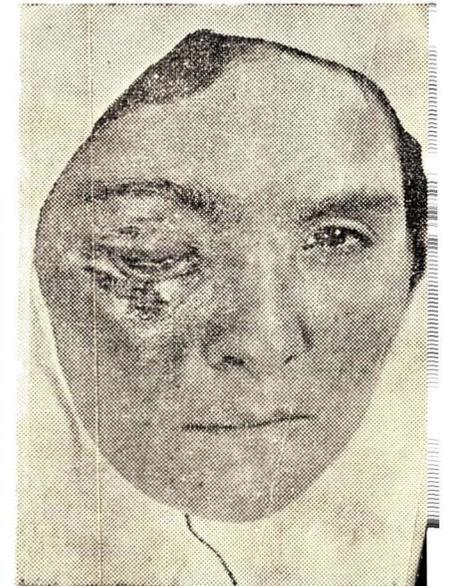
No 4



No 8



No 9



No 10

Docteur Hafizi, Directeur au Ministère de l'Hygiène Publique, avec l'autorisation de Son Excellence Saïd Malek, conduit à cette conclusion que la pustule maligne est signalée dans toute l'étendue du pays.

Il est sans intérêt de reproduire ces statistiques qui ne prétendent pas être complètes. Notons seulement que le charbon humain semble actuellement augmenter de fréquence, en même temps que la fièvre charbonneuse du mouton: alors qu'en 1944, on avait signalé pour tout le territoire 607 cas de charbon, il en a été signalé 1.282 pour 7 mois de 1945.

Ces chiffres ne comprennent pas les malades soignés dans les hôpitaux dépendant du Ministère de l'Instruction publique, or dans le seul hôpital Razi de Téhéran, les statistiques du Professeur Eghbal, mentionnent pour 4 mois de 1945, 131 cas de pustule maligne, dont 48 ont été hospitalisés.

En ce qui concerne la fréquence par profession, les 48 malades hospitalisés à l'Hôpital Razi, se répartissent comme suit:

Ouvriers (manœuvres non spécialisés)	15
Cultivateurs.....	14
Cuisiniers et domestiques de maison	6
Bouchers.....	5
Bergers.....	4
Cochers.....	2
Tanneur.....	1

Dans une filature d'Isfahan, on a observé en 1945, 3 pustules malignes.

Fréquence saisonnière.

La pustule maligne ne s'observe guère qu'au printemps et en été, ce qui correspond à la période où sévissent les épizooties.

3 — Pathologie

Le charbon interne n'est diagnostiqué que très exceptionnellement. Le seul cas authentique qui nous ait été signalé a été trouvé par le Professeur Habibi, à l'autopsie d'un homme mort avant que le diagnostic ait pu être posé.

La pustule maligne présente les caractères classiques et les photographies que nous reproduisons ne nécessitent pas de commentaires.

Pour les 131 cas de pustule maligne observés dans le service du Professeur Eghbal en 1945, nous trouvons les localisations suivantes:

Face	78
Cou	9
Nuque	9
Bras et mains	22
Thorax	4
Abdomen	2
Région lombaire	1
Pieds	4
Anus	1
Cavité nasale ...	1

131

Les localisations à la verge et à l'anus semblent exceptionnelles.

Chaque malade ne présente en règle générale qu'une pustule, cependant une des photographies du Professeur Eghbal montre la coexistence de pustules au bras et à la lèvre. Dans deux autres cas, les malades présentaient simultanément des lésions de la main et de la face. Enfin, le Professeur Eghbal a observé plusieurs fois 3 pustules sur le même malade.

D'après les statistiques du Ministère de l'Hygiène publique, sur 18.064 malades, il a été constaté 847 décès, soit une mortalité de 4,6 pour cent.

La statistique de l'hôpital Razi, porte 7 morts sur 48 malades hospitalisés, soit environ 14 pour cent. Ce pourcentage élevé s'explique par le fait que seuls sont hospitalisés les gens dont l'état est particulièrement grave. La mort fut attribuée aux causes suivantes:

Collapsus cardiaque	4
Compression de la glotte	2
Phlegmon consécutif à la cautérisation pratiquée hors de l'hôpital	1

D'après les observations du professeur Eghbal, la durée moyenne de la maladie jusqu'à élimination de l'escharre, est de

3 semaines, la durée de la période fébrile d'une semaine.

4—Traitement

Le traitement généralement employé en province est la sérothérapie spécifique. Le service médical de notre Institut à eu l'occasion de traiter par le sérum 12 malades, dont certains dans un état grave, et la guérison fut obtenue dans tous les cas.

Plusieurs médecins de Téhéran, préférèrent le traitement par le Lugol, préconisé, croyons-nous, en premier lieu par Amunalègue et Pulgar, au Chili (Roger 1928).

Le professeur Eghbal emploie à l'hôpital Razi la solution suivante.

Iode	1
Iodure de potassium	2
Eau distillée	100

La même formule est donnée par H. Roger (1928).

On injecte dans la veine, matin et soir, 5cc. de cette solution. Il est généralement suffisant de poursuivre, le traitement pendant 3 jours, c'est-à-dire après injection de 30cc. de Lugol. Il n'a jamais été constaté de phénomènes d'intolérance.

Dans les cas très graves le traitement sulfamidé est associé au Lugol.

Des essais récents de traitement par la pénicilline (200 à 300.000 unités) ont permis d'obtenir la guérison dans 5 cas sur 4.

Dans les campagnes, le traitement ordinaire consiste soit dans l'extirpation au couteau de la pustule, soit dans sa cautérisation au fer rouge ou au nitrate d'argent.

Conclusions

1—Jusqu'en 1931, la Fièvre charbonneuse sévissait dans toute l'étendue de l'Iran, chez les ruminants et les chevaux. La mortalité chez les moutons était annuellement de l'ordre de 1.000.000.

2—En raison des conditions de l'élevage dans ce pays, la seule méthode prophylactique applicable était et est encore la vaccination préventive. Le vaccin employé, préparé par l'Institut d'Etat des Vaccins et Sérums est constitué par des suspensions de spores de virulence atténuée, en solution saline glycinée à 40 pour 100.

Les caractères de la souche utilisée ainsi que la technique de préparation du vaccin et ses effets sont exposés en détail.

3—Depuis 1930, la vaccination gratuite mais non obligatoire des troupeaux a été progressivement généralisée jusqu'à atteindre le chiffre de 6.000.000 de vaccinations en 1939, soit plus du tiers de la population ovine.

Les conditions locales résultant de la guerre mondiale ont entraîné une importante diminution du nombre des vaccinations qui, en 1945, a été inférieur à 3.000.000.

Les épizooties de fièvre charbonneuse qui, de 1937 à 1942, avaient été pratiquement supprimées, sévissent à nouveau avec la même gravité que jadis et entraînent une mortalité aussi importante. Le préjudice subi par les éleveurs en 1945, par suite de l'impossibilité de pratiquer les vaccinations nécessaires est évalué à 500.000.000 de Rials, soit environ 15.000.000 de Dollars.

4—L'infection charbonneuse de l'homme dont la fréquence est proportionnelle à la gravité des épizooties, est étudiée d'après la documentation fournie par les Professeurs Eghbal et Habibi, de la Faculté de Médecine de Téhéran, et par les Docteurs Hafizi et Nadjim Abadi.

Institut d'Etat des Sérums et Vaccins. Hessarek.

BIBLIOGRAPHIE

- CARPENTIER-1931. Les Services Vétérinaires en Perse.
 CHARDIN-1785. Voyages du Chevalier Chardin en Perse et autres lieux d'Orient.
 CIENKOWSKY-1884. Cité par Hutyra et Marek 1926, Vol. 1.
 DELAFOND. Cité par Chamberland 1883: Charbon et vaccination charbonneuse p. 106.
 DETRE-1901. Cité par Hutyra et Marek 1926 Vol. 1.
 EINCHHORN-1925. J. of Am. Vet. Med. Ass. Vol. 68.
 KIND-1922. THESIS, University of Zurich.
 LE GAG P., FOUBERT A. ET AIHONNOU L.-1945-- Bull. Soc. Path. exot. 38,252.
 NITTA-1914. ANALYSE: Zentralbl. f. Bakt. Vol. 59.
 PASTEUR CHAMBERLAN ET ROUX-1880. Académie des Sciences.
 POVERO-1932. Thèse, Faculté de Médecine de Paris.
 H. ROGER-1928. Nouveau traité de médecine. 2, p. 501.
 SCHLIMMER-1874. Terminologie Médico-Pharmaceutique et Anthropologique Française-Persane. Téhéran.
 STEPHAN-1934. De la vaccination anticharbonneuse. Médecine et Chimie-Bayer-Leverkussen-Rhin. p. 316.
 STERNE ET ROBINSON-1939. Onderspoort J. of Vet. Science and Animal Industry. Vol 12, no 1.
 STERNE, ROBINSON ET NICOL-1939. Onderspoort J. of Vet. Science and Animal industry. Vol. 12, no 2.
 VELU-1924-- Bul. Soc. Path. exot. vol. 17.
 VELU, BALOZET ET JALABERT-1926. C. R. Soc. Biol. p. 168.
 VILJOEN, CURSON ET FOURIE-1928. 13th. and 14th. Rep. of Direct. of Veter. educ. and Res. South Africa pp. 431-531.