

Organisation Mondiale de la Santé

Série de Rapports techniques

N° 18

GROUPE MIXTE OIHP/OMS D'ÉTUDES SUR LE CHOLÉRA

Rapport sur la troisième session

New-Delhi, 18-19 novembre 1949

	Pages
1. Questions quaranténaires posées par le problème du choléra et points soumis au groupe d'études par le Comité d'experts de l'Epidémiologie internationale et de la Quarantaine . . .	4
2. Etudes de laboratoire	7
3. Endémicité	8
4. Programme de lutte anticholérique de l'OMS pour 1950 . . .	9
Annexe 1. Diagnostic de laboratoire du choléra: Méthodes bactériologiques	11
Annexe 2. Diagnostic rétrospectif du choléra par l'étude de la réaction d'agglutination consécutive à une vaccination anticholérique.	17
Annexe 3. Variation du type rugueux au type lisse de <i>V. cholerae</i> Korein en présence de sérum anti-bactériophage	20
Annexe 4. Liste des personnalités ayant assisté à la réunion commune du Groupe mixte OIHP/OMS d'études sur le Choléra et du Comité consultatif du Choléra de l'Indian Research Fund Association	23

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

PALAIS DES NATIONS

GENÈVE

DÉCEMBRE 1950

GROUPE MIXTE OIHP/OMS D'ÉTUDES SUR LE CHOLÉRA

Troisième session

Membres :

Lieutenant-Colonel M. Jafar, Director-General of Health, Karachi, Pakistan

D^r C. G. Pandit, Secretary, Indian Research Fund Association, New-Delhi, Inde (*Président*)

Médecin-Général Inspecteur M. A. Vaucel, Directeur du Service de Santé colonial, Ministère de la France d'Outre-Mer, Paris, France

Expert-conseil :

Professor K. Subrahmanyam, Professor of Sanitary Engineering, All-India Institute of Hygiene and Public Health, Calcutta, Inde

Secrétariat :

OIHP :

D^r M. Gaud, Directeur de l'Office International d'Hygiène Publique, Paris, France

OMS :

D^r P. M. Kaul, Fonctionnaire médical de la Section des Etudes épidémiologiques, OMS

D^r C. Mani, Directeur du Bureau régional de l'OMS pour l'Asie du Sud-Est, New-Delhi, Inde

D R. Pollitzer, Epidémiologiste du Bureau régional de l'OMS pour l'Asie du Sud-Est, New-Delhi, Inde

Sir Aly T. Shousha, Pacha, Directeur du Bureau régional de l'OMS pour la Méditerranée orientale, Alexandrie, Egypte (sur invitation spéciale)

Le rapport sur la troisième session de ce groupe d'études a paru originalement sous forme de document ronéographié (WHO/Cholera/6), en date du 30 novembre 1949.

GROUPE MIXTE OIHP/OMS D'ÉTUDES SUR LE CHOLÉRA

Rapport sur la troisième session¹

Les membres du Groupe mixte OIHP/OMS d'études sur le Choléra sont arrivés dans l'Inde le 31 octobre 1949 et se sont rendus dans les localités suivantes : Bombay, Madras, Trichinopoly ; dans les zones de recherches sur le terrain à Tanjore et dans les villages voisins du district de Tanjore ; à Calcutta et dans les zones rurales de Diamond Harbour ; à Dacca et dans quelques zones rurales voisines, dans le Pakistan.

Le groupe d'études a visité d'intéressantes institutions médicales dans chacune de ces localités. Il a eu des conversations avec les ministres de la santé et avec des médecins au service de l'administration, ainsi que des discussions avec des personnes effectuant des recherches sur le choléra.

Au cours de leur voyage, les membres du groupe d'études ont pu voir des cholériques dans des hôpitaux, ainsi que dans des zones rurales ; ils ont pu inspecter les installations locales en ce qui concerne les approvisionnements d'eau, le drainage, l'évacuation des matières usées et les emplacements de bains (« ghats ») au bord des rivières, les taudis (« bus-tees »), les cours d'eau et les canaux. Ils ont vu quelles étaient les conditions ambiantes et étudié les habitudes de la population, aussi bien en milieu urbain que rural.

Dans le district de Tanjore, le groupe d'études a procédé à une inspection complète de la zone rurale où des recherches sur le choléra ont été entreprises sous les auspices de l'Indian Research Fund Association (IRFA). Certains membres du groupe d'études ont pu visiter les maisons effectivement habitées dans les villages et voir les habitants dans leur milieu local. Ils ont rendu visite à des cholériques dans les villages voisins. Le groupe d'études a été frappé par la collaboration fournie par la population de la région et par son désir d'améliorer ses conditions sanitaires. Il a passé beaucoup de temps au laboratoire de campagne fonctionnant

¹ Au cours de sa cinquième session, le Conseil Exécutif a adopté la résolution suivante :

Le Conseil Exécutif

- 1) PREND ACTE du rapport sur les travaux de la troisième session du Groupe mixte OIHP/OMS d'études sur le Choléra, et
- 2) AUTORISE sa publication.

(Actes off. Org. mond. Santé, 25, 6)

à Trichinopoly, où sont faits les examens des échantillons prélevés dans la zone des recherches. Il a constaté que le laboratoire était bien installé, convenablement pourvu de personnel et équipé d'une manière adéquate pour effectuer sur une grande échelle des examens bactériologiques de selles et d'eau.

Du 15 au 17 novembre, le groupe d'études a tenu à New-Delhi une réunion commune avec le Comité consultatif du Choléra de l'Indian Research Fund Association. Assistaient à cette réunion — outre les membres du groupe d'études et du Comité consultatif du Choléra de l'Indian Research Fund Association — des médecins de l'administration et des directeurs des services de santé des provinces où sévit le choléra, des chercheurs et d'autres personnalités scientifiques.² Des travaux ont été présentés et des discussions ont eu lieu sur les sujets suivants :

1) Analyse statistique de la fréquence du choléra dans la péninsule indienne au cours des 45 dernières années, en vue de déterminer les foyers endémiques d'infection.

2) Etude statistique de la fréquence du choléra dans l'Inde et au Pakistan, en vue d'évaluer la tendance de la maladie.

3) Influence des foires et pèlerinages sur la propagation du choléra.

4) Examen des sources d'approvisionnement en eau ; étude de l'état de porteur de germes ; viabilité des vibrions cholériques sur et dans les fruits, les aliments et les mouches ; études de laboratoire portant sur les formes lisse «S» et rugueuse «R» du vibron cholérique ; influence des sulfamides sur l'état des porteurs de germes ; réaction d'agglutination ; études sur la chimie de l'immunité ; standardisation des méthodes de diagnostic du choléra ; enfin, mesures de lutte contre la maladie.

Le Groupe mixte OIHP/OMS d'études sur le Choléra a tenu sa troisième session les 18 et 19 novembre 1949. Les réunions ont eu lieu au Bureau régional de l'OMS pour l'Asie du Sud-Est. Le Dr C. G. Pandit a été élu Président.

1. Questions quaranténaires posées par le problème du choléra et points soumis au groupe d'études par le Comité d'experts de l'Epidémiologie internationale et de la Quarantaine

1.1 Persistance des vibrions cholériques chez les convalescents et les contacts

Il a été pris note qu'aucun fait nouveau n'est apparu jusqu'ici, bien que de nouveaux travaux sur ce sujet soient en cours. Le groupe d'études recommande que les travaux soient poursuivis.

² Voir Annexe 4, page 23.

1.2 *Survivance du vibrion cholérique sur et dans les fruits, les aliments et les mouches :*

Les recherches entreprises sur les fruits, les légumes et les mouches pour déceler la présence de vibrions cholériques ne permettent pas de dégager de conclusions précises. L'importance d'un examen de ces denrées alimentaires, ainsi que des mouches recueillies à l'intérieur des locaux infectés, a été soulignée. Tenant compte des travaux japonais sur les poissons infectés et sur la dissémination du choléra par leur intermédiaire, étant donné également la possibilité que des poissons infectés de vibrions cholériques puissent contaminer des approvisionnements en eau, il conviendrait de procéder à de nouvelles recherches sur le rôle du poisson et d'autre faune aquatique, ainsi que sur le danger éventuel qu'ils présentent pour l'infection des approvisionnements en eau.

1.3 *Possibilité que les cas asymptomatiques et inapparents constituent un chaînon entre les poussées successives de choléra dans les zones d'endémicité*

Le groupe d'études a pris note de ce que, conformément aux recommandations faites lors de sa deuxième session,³ des recherches ont été récemment entreprises dans le district de Tanjore, sous les auspices de l'Indian Research Fund Association et avec l'aide de l'Office International d'Hygiène Publique (OIHP), sur la possibilité que des cas asymptomatiques et inapparents constituent un chaînon entre les poussées successives de choléra dans une zone d'endémicité. La zone d'étude choisie comprend un groupe de 30 villages avec une population d'environ 60.000 habitants. Les recherches se poursuivront dans cette zone pendant au moins deux saisons de choléra ; durant cette période, il sera procédé à une étude serrée de tous les facteurs pouvant intervenir chez les êtres humains : on examinera notamment le rôle des cas asymptomatiques et inapparents, des contacts, des porteurs de germes et des convalescents, ainsi que des facteurs du milieu tels que les approvisionnements en eau. Le laboratoire de campagne établi à Trichinopoly a entrepris ce travail. Les travaux viennent de commencer et les résultats ne seront pas connus avant quelque temps.

1.4 *Procédure-type pour le diagnostic du choléra*

La méthode décrite dans une note sur le diagnostic de laboratoire du choléra, rédigée par Ahuja, Krishnan, Pandit & Venkatraman,⁴ est recommandée comme méthode-type pour le diagnostic des vibrions cholériques.

³ *Actes off. Org. mond. Santé*, 19, 25

⁴ Voir Annexe 1, page 11.

1.5 *Influence des sulfamides sur l'excrétion de vibrions chez des convalescents et contacts*

Il a été pris note que des travaux sur ce sujet sont en cours. Les données préliminaires jusqu'ici disponibles ne sont pas suffisantes pour que l'on en puisse tirer des conclusions définitives.

1.6 *Epreuve de Bandi*

Le groupe d'études avait recommandé, lors de sa deuxième session, que l'on procède à une étude comparative des résultats obtenus par l'épreuve de Bandi, d'une part, et par les méthodes classiques, d'autre part⁵; des recherches sont en cours.

1.7 *Réactions d'agglutination pour le diagnostic rétrospectif du choléra*

Une note de Krishnan & Dutta, sur le diagnostic rétrospectif du choléra par l'étude de la réaction d'agglutination subséquente à la vaccination anticholérique, a été présentée à la réunion mixte avec l'IRFA.⁶ Le groupe d'études estime que ce travail peut être utile :

- 1) pour établir le diagnostic rétrospectif du choléra ;
- 2) lors de recherches sur l'immunité d'une population dans une zone d'endémicité.

Ces recherches peuvent également être utiles pour évaluer la valeur de la vaccination anticholérique.

Le groupe d'études recommande que ces travaux soient poursuivis et que des recherches en grand soient entreprises, dans l'Inde et dans d'autres régions, sur les sérums normaux provenant de zones non endémiques telles que les zones non cholériques du Pakistan occidental.

1.8 *Vaccination*

Une note du Dr Melville Mackenzie, préparée pour la deuxième session du Comité d'experts de l'Epidémiologie internationale et de la Quarantaine, sur la question de la vaccination contre le choléra,⁷ a été soumise au groupe d'études. Le groupe d'études réitère l'avis qu'il avait exprimé lors de sa première session,⁸ suivant lequel la vaccination est utile et doit être prise en considération dans l'application des mesures quaranténaires. A cet effet, il conseille deux injections à une semaine d'intervalle. Lorsque des doses de rappel sont nécessaires dans un délai

⁵ *Actes off. Org. mond. Santé*, 19, 25

⁶ Voir Annexe 2, page 17.

⁷ WHO/Epid/25 (document de travail non publié)

⁸ *Actes off. Org. mond. Santé*, 11, 16

inférieur à six mois, elles peuvent consister en une seule injection. Au-delà de cette période de six mois, deux injections doivent être considérées comme nécessaires. Le vaccin employé doit être conforme à la norme stipulée par l'OMS.

Le groupe d'études attire également l'attention du Comité d'experts de l'Epidémiologie internationale et de la Quarantaine sur l'avis qu'il a précédemment exprimé dans les termes suivants :

« En raison du caractère relatif de l'immunité conférée par la vaccination, les règlements quaranténaires internationaux ne doivent pas exempter les personnes vaccinées de toute mesure de contrôle. La « surveillance » sanitaire actuellement prévue par les conventions sanitaires internationales est toutefois considérée comme une mesure de protection adéquate. »⁹

1.9 Paracholéra

Le groupe d'études est d'avis que le paracholéra n'est pas une maladie pour laquelle des mesures quaranténaires doivent être envisagées.

2. Etudes de laboratoire

2.1 Formes « S » et « R » du vibrion cholérique

Le groupe d'études a pris note avec intérêt de la mutation de la forme « S » à la forme « R » du vibrion cholérique dans les selles de convalescents, telle qu'elle est décrite par le D^r Bruce White, et il a estimé souhaitable de poursuivre l'étude du phénomène en vue de confirmer cette observation. Une note préliminaire, due au D^r Doorenbos et au D^r Cossery Bey, sur la variation de la forme « R » à la forme « S » de *Vibrio cholerae* en présence de sérum anti-phage,¹⁰ a été présentée au groupe d'études par Sir Aly Shousha, Pacha. Le groupe d'études estime que des travaux complémentaires devraient être entrepris dans cette direction en vue de confirmer les résultats obtenus.

2.2 Etudes de la chimie de l'immunité relative au vibrion cholérique

Le groupe d'études a pris note avec grand intérêt des travaux qui ont abouti à l'isolement, à partir du vibrion cholérique, d'un polysaccharide possédant des propriétés antigéniques. Ces recherches peuvent ouvrir de nouvelles voies pour la préparation d'un vaccin anticholérique plus actif.

2.3 Toxine

Le groupe d'études a pris note avec un intérêt tout particulier des épreuves récemment décrites et qui utilisent des filtrats de toxine cholérique.

⁹ Actes off. Org. mond. Santé, 11, 16

¹⁰ Voir Annexe 3, page 20.

L'emploi de ces épreuves peut conduire à une meilleure compréhension de la pathogénèse et de l'immunologie du choléra.

3. Endémicité

3.1 Répartition géographique des zones d'endémicité du choléra

Les résultats des études statistiques présentées par le D^r S. Swaroop¹¹ semblent indiquer qu'en plus du Bengale oriental et occidental, d'autres régions deltaïques, telles que le delta du Cauvery dans la province de Madras et celui du Mahanadi dans l'Orissa, sont également des zones d'endémicité. En ce qui concerne la Chine, les faits semblent indiquer qu'il ne s'agit pas d'une véritable région d'endémicité. En Indochine, le delta méridional (Cochinchine et Cambodge du sud) a été généralement considéré comme zone d'endémicité, d'après les données concernant les trois dernières années. On note toutefois que, pendant les neuf premiers mois de l'année 1949, cette région a été relativement indemne de choléra.

3.2 Facteurs régissant l'endémicité du choléra dans l'Inde

Les conditions ci-après semblent favoriser l'endémicité du choléra :

- 1) conditions deltaïques ;
- 2) forte densité de la population ;
- 3) degré élevé d'humidité ;
- 4) abondance d'eau sans surveillance sanitaire ;
- 5) salinité et forte teneur en matières organiques de l'eau.

Il a été observé, cependant, que certaines régions où existent plusieurs des conditions ci-dessus ne sont pas endémiques, bien que sujettes à des invasions épidémiques de caractère périodique. Le groupe a émis l'opinion qu'une étude des différentes régions où se rencontrent de telles conditions pourrait jeter des lumières nouvelles sur l'importance probable et relative des dites conditions. A cette fin, il recommande de procéder à des études comparatives dans des régions deltaïques analogues, situées hors de l'Inde.

3.3 Pèlerinages et foires

Il semble n'y avoir aucune relation entre l'emplacement des foires et l'endémicité du choléra dans une région. La réunion de foules a été admise comme un facteur important pour la propagation de l'infection, à propos non seulement de ces rassemblements de population, mais également des déplacements collectifs de la main-d'œuvre.

¹¹ WHO/Cholera/5 (document de travail non publié)

3.4 *Présence de vibrions cholériques dans les réservoirs et autres sources naturelles d'approvisionnement en eau*

Des recherches récemment entreprises dans l'Inde sur l'isolement de vibrions cholériques dans des approvisionnements en eau ont donné un certain nombre de résultats positifs pour les eaux de Calcutta, alors que les examens auxquels il a été procédé dans d'autres régions ont conduit à des constatations nettement contraires. Ce fait peut être dû à la technique au kieselguhr qui est maintenant utilisée par les chercheurs indiens.

4. Programme de lutte anticholérique de l'OMS pour 1950

Le groupe d'études a pris acte avec satisfaction de la décision prise par la Deuxième Assemblée Mondiale de la Santé :

« Le choléra étant une maladie ... [qu']il est possible d'extirper complètement — c'est-à-dire sur le plan mondial — il importe de viser cet objectif ... »

Toutefois, l'objectif immédiat consiste à stériliser graduellement la zone véritablement endémique après délimitation préalable et après étude des facteurs d'endémicité ... »¹²

Le groupe d'études recommande la constitution d'équipes sur place telles qu'elles ont été envisagées par la Deuxième Assemblée Mondiale de la Santé. Tenant compte des études statistiques récentes qui indiquent l'existence dans l'Inde de zones d'endémicité en dehors du Bengale occidental, notamment dans la région deltaïque de Madras, et de l'organisation récemment créée dans cette province pour étudier l'endémicité cholérique, le groupe d'études recommande que l'équipe appelée à travailler dans l'Inde soit affectée à cette région. En ce qui concerne la deuxième équipe de travail sur place, le groupe d'études recommande de choisir une région appropriée dans la province pakistanaise du Bengale oriental.

Estimant que les facteurs d'assainissement joueront un rôle essentiel dans les programmes de lutte anticholérique, le groupe d'études affirme l'importance d'une étroite collaboration avec la Section de l'Assainissement de l'OMS, à tous les stades du travail.

A propos de la démonstration des méthodes de lutte et de l'application de techniques ayant pour objectif final l'extirpation du choléra, le groupe d'études désire souligner spécialement l'importance des points suivants :

1) Fourniture d'eau pure en abondance, afin de parer à la nécessité d'utiliser des eaux sans surveillance sanitaire. A cette fin, il serait indispensable d'élaborer des méthodes efficaces et économiques.

¹² *Actes off. Org. mond. Santé*, 18, 110

2) Détermination de méthodes appropriées et économiques d'évacuation ou de destruction des matières usées, applicables aux logis familiaux.

3) Education sanitaire de la population atteinte, en vue d'obtenir une collaboration des habitants et l'utilisation des moyens et installations fournis. A cette fin, une collaboration avec la Section de l'Education sanitaire du Public de l'OMS serait nécessaire.

Il y aurait lieu de prévoir une période d'études et d'enquêtes avant d'entreprendre sur place des opérations effectives.

Le groupe d'études est d'avis que ce problème appelle l'attention d'une manière urgente et qu'en conséquence des mesures devraient être prises pour appliquer le programme anticholérique de l'OMS aussi rapidement que possible. Il devrait être procédé immédiatement à l'organisation des équipes.

Annexe 1

DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DU CHOLÉRA

Méthodes bactériologiques¹

1. Le diagnostic bactériologique du choléra comporte, d'une part, l'isolement du vibron cholérique existant dans les matières fécales ou vomies qui proviennent d'un cas étudié et, d'autre part, l'identification du vibron par des méthodes morphologiques, culturales, biologiques et sérologiques. L'isolement du vibron cholérique peut être très facile ou singulièrement difficile, selon qu'on se trouve en présence d'un cas de choléra bien déterminé, dans sa phase aiguë, survenu au cours d'une épidémie, ou en présence d'un convalescent ou d'un contact, quelque temps après la fin de l'épidémie. De même, alors que, pendant une épidémie de choléra, un petit nombre d'épreuves simples, notamment la réaction d'agglutination avec un sérum agglutinant spécifique O, suffisent pour identifier le micro-organisme, lorsqu'un cas présentant les caractéristiques du choléra se déclare sans qu'il y ait d'épidémie ou au début d'une épidémie, et plus particulièrement dans des régions qui sont d'ordinaire indemnes de la maladie, l'identification doit être fondée sur un examen très complet. Les auteurs ont suivi, avec des résultats plus ou moins satisfaisants, des méthodes diverses pour isoler et identifier le vibron cholérique ; ils indiquent ici celles qui, à la suite d'une étude plus approfondie, leur ont paru préférables.

2. Récoite des échantillons : Lorsqu'il s'agit d'isoler le vibron cholérique chez un cas suspect, on peut se servir d'un échantillon de matières fécales qui viennent d'être évacuées ou que l'on a obtenues en insérant dans le rectum, au-delà du sphincter anal, un écouvillon (dont le manche est protégé par un morceau de sonde de caoutchouc). Si l'on dispose, sur place, des installations nécessaires pour procéder, dans des conditions satisfaisantes, à un examen bactériologique, on opère un ensemencement direct sur un milieu solide approprié. Les milieux sélectifs mentionnés plus loin peuvent être assez fortement ensemencés. Toutefois, si l'on prévoit un retard de quelques heures ou si l'échantillon doit être expédié par la poste à destination d'un laboratoire éloigné, on introduit une faible quantité des matières fécales dans un flacon contenant 10 ml d'un milieu de préservation constitué par une solution de chlorure de potassium, d'acide borique, de soude

¹ Note soumise par le Lt-Col. M. L. Ahuja, Director, Central Research Institute, Kasauli, Inde ; le D^r K. V. Krishnan, Professor of Microbiology, All-India Institute of Hygiene and Public Health, Calcutta, Inde ; le D^r S. R. Pandit, Director, Institut Pasteur, Shillong, Inde ; et le D^r K. V. Venkatraman, Director, King Institute, Guindy, Madras, Inde.

et de sel marin.² Dans le cas d'un échantillon obtenu par écouvillonnage rectal, l'écouvillon est plongé dans le milieu de conservation et son contenu est exprimé contre la paroi du flacon. Si l'examen porte sur des selles de convalescents ou de contacts, il est préférable d'ajouter un échantillon de matières fécales (de 1 à 3 g environ) au milieu de préservation. De même, des échantillons de matières vomies ou des lambeaux de vêtements souillés par des selles ou par des matières vomies provenant d'un cas de choléra peuvent être introduits dans le milieu de préservation.

3. Une préparation colorée (avec de la fuschine phéniquée diluée) et une préparation humide, préparée avec des flocons muqueux prélevés dans la selle riziforme d'un cas de choléra et lavés, peuvent montrer, à l'examen microscopique, la présence de nombreux vibrions extrêmement mobiles et fournir la base d'un diagnostic provisoire du choléra. Toutefois, on ne doit pas trop se fier à l'examen morphologique seul ; on ne trouve les colonies les plus caractéristiques que dans les cas où le choléra peut être diagnostiqué cliniquement presque à coup sûr. En effet, des vibrions non cholériques, impossibles à distinguer morphologiquement du véritable vibron cholérique, abondent dans presque toutes les eaux des plaines de l'Inde et sont présents dans les échantillons de matières fécales.

4. Lorsque, pour isoler les vibrions cholériques, on procède à l'examen cultural d'un échantillon provenant d'un cas aigu, il est préférable d'ensemencer directement le matériel frais ou le matériel conservé dans le milieu de préservation, plutôt que de pratiquer l'ensemencement après enrichissement. On peut se servir soit de plaques de gélose nutritive alcaline, soit d'un milieu de différenciation tel que le milieu d'Aronson, soit d'un milieu solide de Wilson et Riley modifié.³ Pandit a fait ressortir la supériorité des résultats obtenus au moyen de l'ensemencement direct, par rapport à ceux que donne l'ensemencement précédé d'un enrichissement. Il a examiné simultanément, par les deux méthodes, 430 spécimens d'échantillons de matières fécales en se servant dans chaque cas, pour les ensemencements, de gélose alcaline, du milieu d'Aronson et du milieu solide de Wilson et Riley modifié. Il a constaté que 96 % des résultats positifs étaient obtenus par l'ensemencement direct et que 89 % seulement étaient obtenus par l'ensemencement précédé d'enrichissement. Nous avons fait les mêmes constatations. Parmi les milieux mentionnés ci-dessus, celui d'Aronson et celui de Wilson et Riley modifié ont un effet inhibiteur sur un grand nombre de micro-organismes autres que les vibrions, le deuxième de ces milieux étant supérieur au premier en ce sens que son action inhibitrice s'exerce également dans une certaine mesure sur le vibron d'El Tor et sur un grand nombre —

² Voir Appendice 1, page 15.

³ Voir Appendice 2, page 15.

mais non sur la totalité — de vibrions non agglutinables. Bien que présentant en général toutes garanties, certains lots de milieu d'Aronson se révèlent peu propices au développement du vibron cholérique.

5. Par contre, lorsqu'on examine des matières fécales de convalescents et de contacts, l'enrichissement préliminaire est indiqué. Le milieu liquide d'enrichissement de Wilson et Blair modifié par Read nous a été très utile au cours de nos expériences.⁴ Ce milieu est particulièrement précieux lorsque les selles ne contiennent que très peu de vibrions. Onensemence le milieu liquide d'enrichissement avec 10 ml de milieu de préservation contenant la totalité de l'échantillon de selles et l'on repique quelques anses de la culture enrichie sur le milieu solide de Riley, après 18 à 20 heures d'incubation. Lorsqu'on a fait usage de la solution-tampon pour recueillir l'échantillon de matières fécales, l'ajustage du pH de la culture pendant l'enrichissement, après une période d'incubation de 4 à 6 heures environ, tel que le recommande Read, n'est plus nécessaire.

6. Lorsqu'il s'agit d'examiner rapidement un très grand nombre de spécimens de matières fécales provenant de contacts, il est commode de procéder par groupes de dix. Dans un flacon contenant la quantité requise de milieu liquide d'enrichissement, on verse le contenu de 10 flacons d'échantillons et, après une période d'incubation de 18 à 20 heures, onensemence sur milieu de Riley modifié le contenu d'un petit nombre d'anses de la culture enrichie. Il faut avoir soin, en versant, de ne pas contaminer les flacons originaux, qui sont mis de côté jusqu'à ce que l'on connaisse les résultats du groupe. Si l'on constate la présence de vibrions cholériques dans l'un des groupes, on traite séparément, par enrichissement et ensemencement, la petite quantité d'échantillon qui reste dans chacun des flacons constituant le groupe, afin de déterminer quel est l'échantillon du groupe qui a fourni les vibrions cholériques.

7. Les colonies de vibrions cholériques ont un aspect caractéristique aussi bien sur le milieu d'Aronson que sur celui de Riley. On prélève des parties de ces colonies avec une aiguille de platine et on les soumet à l'épreuve de l'agglutination sur lame, avec une dilution appropriée (variant de 1/50 à 1/100) de sérum agglutinant anticholérique contenant les agglutinines anti-O Inaba et Ogawa ou, mieux encore, avec deux sérums agglutinants distincts, l'un pour anti-Inaba et l'autre pour anti-Ogawa. Pendant une épidémie, une bonne façon de procéder consiste à établir un diagnostic provisoire de choléra en se fondant sur une agglutination positive obtenue par cette méthode et de vérifier les résultats en soumettant aux épreuves nécessaires les cultures des colonies obtenues au cours de cette première élimination.

⁴ Pour la formule, voir Appendice 3, page 16.

8. Afin d'identifier plus complètement le vibrion isolé, un petit nombre de colonies qui donnent un résultat positif par la réaction d'agglutination sur lame sont repiquées sur gélose inclinée et dans des tubes de bouillon isotonique de Douglas (« tryptic digest »). On se sert, pour l'identification sérologique, d'une suspension d'une culture sur gélose âgée de 18 à 24 heures dans de l'eau physiologique à 0,85 % contenant 0,2 % de formol, ajustée de manière à renfermer approximativement 2 milliards de microorganismes par ml (tube d'opacité de Brown N° 2), et, pour l'épreuve de l'hémolyse, d'une culture de 24 heures en bouillon de Douglas.

9. Les réactions d'agglutination s'effectuent au bain-marie à 52°C avec des sérums agglutinants anti-O Inaba et Ogawa. Les cultures jeunes de souches nouvellement isolées manifestent une tendance à la lyse rapide et, si l'on procède simultanément à un certain nombre d'épreuves, il est préférable de placer chaque porte-tubes dans le bain-marie aussitôt que la suspension de culture a été ajoutée, sans attendre que toute la série des adjonctions soit terminée. L'agglutination « O » du choléra se produit généralement très vite et l'on peut faire une première lecture au bout de deux heures ; toutefois, la lecture finale aura lieu le lendemain, lorsque les porte-tubes seront restés pendant toute la nuit à la température ambiante. Les suspensions doivent s'agglutiner à plus de 50 %-75 % du titre du sérum anti-O Inaba ou Ogawa.

10. On procède à l'épreuve de l'hémolyse de la manière suivante : on ajoute 1 ml d'une culture de 24 heures en bouillon isotonique de Douglas à 1 ml d'une suspension à 5 % d'érythrocytes lavés de mouton ou de chèvre ; on place le mélange à l'étuve à une température de 37°C pendant deux heures, puis on le laisse à la glacière pendant la nuit. Il est indispensable de déterminer la fragilité des érythrocytes employés pour l'épreuve dans une solution saline à 0,65 %. On peut aussi employer une suspension saline d'une culture de 24 heures sur gélose nutritive, standardisée de manière à renfermer 8 milliards de germes par millilitre. On ajoute à 1 ml de cette suspension de vibrions 1 ml d'une suspension à 3 % d'érythrocytes lavés, et le mélange est traité comme il est indiqué ci-dessus. Krishnan a procédé récemment à une étude détaillée des divers facteurs qui entrent en jeu dans les épreuves ; il a montré que l'on peut obtenir des résultats plus concordants en se servant de cultures en bouillon, plutôt que de suspensions salines de cultures sur gélose, et qu'une culture de 24 heures en bouillon est préférable à une culture âgée de 48 à 72 heures.

11. La culture en bouillon de Douglas est également utilisée pour ensemer des tubes de fermentation en vue de déterminer les caractéristiques biochimiques du vibrion examiné. Les vibrions cholériques produisent de l'acide sans gaz avec le glucose, le mannose, le saccharose et le maltose, mais non avec le lactose et l'arabinose. On peut obtenir la réaction rouge du

choléra en ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique pur à une culture du microorganisme en eau peptonée âgée de 24 heures, mais cette épreuve n'est pas caractéristique du vibrion cholérique. Un grand nombre d'autres vibrions donnent également cette réaction. La réaction Voges-Proskauer est négative.

12. Bien que la rapidité joue un rôle très important dans le diagnostic du choléra, il est tout aussi important de réserver son jugement et de se borner à faire un diagnostic provisoire, aussi longtemps que les épreuves indispensables pour l'identification du vibrion cholérique ne sont pas terminées, surtout dans les zones où le choléra ne sévit pas d'ordinaire. Dans des conditions favorables, il est possible, par les méthodes indiquées ci-dessus, d'établir un diagnostic provisoire dans les 16 à 20 heures. Le diagnostic définitif exige 48 heures de plus.

Appendice 1

Milieu de préservation pour la transmission des échantillons

Dissoudre 12,405 g d'acide borique (H_3BO_3) et 14,912 g de chlorure de potassium (KCl) dans 800 ml environ d'eau distillée chaude ; on laisse refroidir la solution et l'on ajoute le complément nécessaire pour former 1 litre. Prélever 250 ml de cette solution-mère et les mélanger à 133,5 ml de soude caustique N/5, puis ajouter le complément nécessaire pour porter le mélange à 1 litre. Dissoudre 20 g de sel marin séché (on peut également utiliser le sel ordinaire du commerce), et la solution tamponnée, filtrée sur papier, est répartie par quantités de 10 ml dans des flacons de 30 ml, munis de bouchons à vis. Stériliser ensuite les flacons à l'autoclave. La solution-tampon stérilisée a un pH de 9,2.

Appendice 2

Milieu de Wilson et Riley modifié pour la culture en plaques

Gélose (agar) de Douglas, pH 8,8 (fondue et refroidie à 50°C)	ml
Solution de sulfite de sodium à 20 %	100,0
Liquor bismuthi ⁵	4,8
Alcool absolu	0,16
Solution de mannose à 10 %	0,2
Mélanger et couler en plaques.	1,0

⁵ D'après Wilson & Blair (1931), le « liquor bismuthi » comporte :

Citrate de bismuth	60 g
Ammoniaque (12,5 %)	20 ml
Eau distillée, pour compléter jusqu'à	500 ml

Le « liquor bismuthi » se prépare comme suit : une bouteille bouchée à l'émeri est remplie presque complètement avec 500 ml d'eau distillée, le niveau du liquide est mar-

Appendice 3

Milieu de Wilson et Blair modifié par Read

Tous les ingrédients sont préparés en solutions séparées et conservés en flacons bouchés. On prépare, pour les besoins de la journée, une solution de mannose à 10 %, qui est stérilisée par ébullition. Le sulfite de sodium est préparé en solution à 20 % et légèrement chauffé pour faciliter la dissolution.

Formule du milieu :

	ml
Solution de peptone à 2 %	8,8
Préparation de sel marin ⁶	1,2
Eau distillée ou suspension de matières fécales dans de l'eau distillée	10,0
Solution de mannose à 10 %	1,0
Liquor bismuthi ⁵	0,12
Solution de sulfite de sodium à 20 %	1,2
Alcool absolu	0,2
Solution de HgCl ₂ à 1/10.000	0,8

Le milieu est ajusté à un pH de 9,2 avec de la soude normale, et du bleu de thymol comme indicateur.

qué sur le flanc de la bouteille. L'eau est rejetée. On introduit à la place 60 g de citrate de bismuth par un entonnoir large et ensuite 50 ml d'eau distillée. Avec un agitateur de verre, le citrate est transformé en une pâte fluide avec l'eau. On ajoute alors 20 ml d'ammoniaque à 12,5 %. Le mélange est agité avec une baguette de verre et une réaction chimique se produit avec dégagement de chaleur. Le bouchon de verre est mis, la bouteille est agitée et, dès que le citrate de bismuth est presque entièrement dissous, on ajoute de l'eau distillée jusqu'au niveau préalablement marqué de 500 ml.

⁶ Formule de la préparation de sel marin :

	<i>Parties</i>
NaCl	27
KCl	1
MgCl ₂ , 6H ₂ O	3
MgSO ₄ , 7H ₂ O	1,75
Eau distillée	100

Annexe 2

**DIAGNOSTIC RÉTROSPECTIF DU CHOLÉRA
PAR L'ÉTUDE DE LA RÉACTION D'AGGLUTINATION
CONSÉCUTIVE A UNE VACCINATION ANTICHOLÉRIQUE¹**

La réaction d'agglutination à la vaccination anticholérique a été étudiée dans trois groupes d'individus, à savoir : 1) un groupe normal, composé de personnes n'ayant pas eu précédemment le choléra et n'ayant pas été vaccinées contre le choléra ; 2) un groupe vacciné, composé de personnes n'ayant pas eu précédemment le choléra mais ayant été vaccinées une ou plusieurs fois contre le choléra ; 3) un groupe cholérique, composé de personnes ayant eu précédemment le choléra.

L'étude avait pour objet de déterminer le taux d'agglutinines dans ces trois groupes avant et après l'injection d'une dose connue d'un vaccin anticholérique déterminé contenant à la fois des vibrions Inaba et Ogawa, et de déterminer si la réaction d'agglutination à cette vaccination anticholérique était assez caractéristique pour aider au diagnostic rétrospectif de l'infection cholérique.

Les chercheurs précédents avaient utilisé deux types d'antigènes pour l'épreuve d'agglutination : suspension de vibrions agglutinables vivants dans une solution saline, ou suspension chauffée de vibrions. Soixante-quatorze épreuves comparatives effectuées avec un antigène chauffé et non chauffé et avec des sérums positifs connus ont montré que l'antigène non chauffé fournissait des résultats nettement meilleurs que l'antigène chauffé. Ce dernier n'a pas seulement donné un pourcentage plus faible de résultats positifs (55 %), mais il a également donné des indications positives à taux plus faibles. En conséquence, on a utilisé comme antigène une suspension de vibrions vivants. Pour l'épreuve, les mélanges antigènes-sérums ont été chauffés à 52°C au bain-marie pendant trois heures et maintenus ensuite à 37°C à l'étuve pendant toute la nuit. Le vaccin anticholérique utilisé a été, dans tous les cas, le vaccin de Kasauli. Dans chaque cas, on a administré 1 ml, contenant 8 millions de germes, et le sang destiné à l'examen a été prélevé 14 jours après la vaccination.

¹ Note soumise par le D^r K. V. Krishnan, Professor of Microbiology, All-India Institute of Hygiene and Public Health, Calcutta, Inde ; et le Captain S. N. Dutta, Assistant Research Officer, Cholera Enquiry, All-India Institute of Hygiene and Public Health, Calcutta, Inde.

Jusqu'ici, 175 personnes au total ont été examinées, soit 18 personnes du premier groupe, 132 personnes du deuxième groupe et 25 personnes du troisième groupe. Les résultats obtenus sont indiqués ci-après :

Groupe normal. Les sérums de 18 personnes ont été examinés avant l'inoculation : 14 n'ont pu agglutiner des suspensions tant d'Inaba que d'Ogawa, même à la dilution de 1/10 ; 3 ont agglutiné à la dilution de 1/20, et 1 à celle de 1/80. Seize de ces 18 personnes ont reçu du vaccin anticholérique, et leurs sérums ont été de nouveau examinés deux semaines plus tard : 2 ont donné des résultats négatifs à la dilution de 1/10 ; 13 ont donné des résultats positifs à la dilution de 1/80 ou moins et 1 a donné résultat positif à la dilution de 1/320.

Groupe vacciné. Dans ce groupe, 132 personnes ont été examinées. Elles ont indiqué avoir été précédemment vaccinées une ou plusieurs fois contre le choléra. Le délai écoulé depuis la dernière vaccination variait, suivant les cas, de quelques mois à quelques années. Sur les 132 personnes examinées, 74 seulement ont donné une agglutination positive ; les 58 autres ont donné un résultat négatif à la dilution de 1/10. Sur les 74 sujets positifs, 31 ont donné un taux d'agglutination de 1/20 au moins, 41 une réaction positive à 1/80 ou moins, et 2 à 1/320 ou moins.

Dans ce groupe, 119 personnes ont été vaccinées avec 1 ml de vaccin anticholérique et leurs sérums sanguins ont été examinés après deux semaines. Sur ce nombre, 113 ont donné une agglutination positive et 6 des résultats négatifs. Parmi les résultats positifs, 11 ont donné un taux d'agglutination de 1/20 ou moins, 44 un taux de 1/80 ou moins, et 58 un taux de 1/320 ou moins.

Groupe cholérique. Les personnes de ce groupe étaient soit des convalescents d'une récente attaque de choléra, soit d'anciens cholériques guéris. Le groupe comptait 25 personnes : pour 17 de celles-ci le diagnostic de choléra avait été établi bactériologiquement (soit Inaba soit Ogawa) et pour 8 autres le diagnostic avait été fait sur la base d'indications cliniques (pas d'examen bactériologique, ou examen bactériologique négatif). Des 8 cas non confirmés bactériologiquement, 4 ont donné une agglutination négative à 1/10, et les 4 autres ont donné des résultats positifs à 1/80 ou moins. Sur les 17 cas diagnostiqués bactériologiquement, tous ont donné une agglutination positive : 4 ont donné un résultat positif à 1/80 ou moins, 9 un résultat positif à 1/320 ou moins, 3 un résultat positif à 1/1.280 ou moins, et 1 un résultat positif à 1/2.560.

Quatre des cholériques convalescents ont été vaccinés avec 1 ml de vaccin et leurs sérums examinés deux semaines plus tard. La réaction d'agglutination a été, dans 3 cas, positive à plus de 1/320 et dans un cas elle fut positive à 1/160. Comme les travaux ne sont pas achevés, aucune conclusion ne peut être tirée.

TABLEAU I. TAUX D'AGGLUTINATION DANS DIFFÉRENTS GROUPES

	Nombre de personnes examinées	Réactions négatives	Réactions positives				
			1/20 ou moins	1/80 ou moins	1/320 ou moins	1/1.280 ou moins	1/2.560
Groupe normal { A : : B : :	18	14	3	1	—	—	—
	16	2	3	10	1	—	—
Groupe vacciné { A : : B : :	132	58	31	41	2	—	—
	119	6	11	44	58	—	—
Groupe cholérique { A : : B : :	17	—	—	4	9	3	1
	4	—	—	—	1	3	—

A = Avant vaccination

B = Après vaccination

Réaction aux antigènes Inaba et Ogawa

a) *Chez des sujets vaccinés.* La réaction d'agglutination aux antigènes Inaba et Ogawa chez des sujets ayant été vaccinés contre le choléra a été étudiée. Dans un groupe de 26 sujets ayant précédemment reçu une ou plusieurs injections de vaccin anticholérique, 7 ont donné le même taux de réaction pour Inaba et Ogawa, 13 une réaction plus élevée pour Inaba que pour Ogawa et 6 une réaction plus élevée pour Ogawa que pour Inaba. Ces sujets ont été examinés de nouveau après revaccination : 13 ont donné une réaction égale pour Inaba et Ogawa, 8 une réaction plus élevée pour Inaba que pour Ogawa, et 5 une réaction plus élevée pour Ogawa que pour Inaba. Il semble résulter de ces constatations que le vaccin mixte utilisé dans l'Inde fait apparaître une réaction égale pour les souches Inaba et Ogawa.

b) *Chez des cholériques.* Trois cas de choléra diagnostiqués bactériologiquement comme Inaba ont été examinés. Leurs sérums agglutinaient Ogawa à peu près au même taux qu'Inaba. Sur 10 cas Ogawa étudiés, 4 ont donné des taux nettement plus élevés pour Ogawa que pour Inaba, 3 le même taux pour Inaba que pour Ogawa, et 3 un taux légèrement plus élevé pour Inaba que pour Ogawa.

Dans 1 cas Inaba et 3 cas Ogawa, des seconds échantillons ont été prélevés vers la quatrième semaine de convalescence et examinés. Dans tous les cas, le taux d'agglutination obtenu a été à peu près le même que pour le premier échantillon prélevé à la fin de la deuxième semaine de convalescence.

TABLEAU II. RÉACTION AUX ANTIGÈNES INABA ET OGAWA

	Nombre de personnes examinées	Taux de la réaction		
		Semblable pour Inaba et Ogawa	Inaba plus élevé qu'Ogawa	Ogawa plus élevé qu'Inaba
Groupe vacciné :				
avant la vaccination . . .	26	7	13	6
après la vaccination . . .	26	13	8	5
Cholériques :				
Inaba	3	3	—	—
Ogawa	10	3	3	4

Annexe 3

**VARIATION DU TYPE RUGUEUX AU TYPE LISSE
DE *V. cholerae* KOREIN
EN PRÉSENCE DE SÉRUM ANTI-BACTÉRIOPHAGE**

Note préliminaire ¹

Le sérum anti-bactériophage a été préparé par injection intraveineuse, à des lapins, de phage anticholérique. Quatre doses ont été injectées, en commençant par 0,5 ml et en augmentant les doses jusqu'à 2 ml. Les intervalles entre les doses ont été de trois, cinq et sept jours, puis le sérum a été recueilli dix jours après la dernière injection.

L'activité du phage anticholérique sur *V. cholerae* Korein a été de 1 pour 10 milliards. Le nombre de corpuscules du phage a été estimé en le diluant dans du bouillon et en étalant 0,05 ml de ce bouillon sur des plaques de gélose alcaline à 1,2 %,ensemencées de vibrions. Ce nombre a varié entre 10 et 20 milliards par millilitre.

Le sérum anti-phage a manifesté un faible pouvoir agglutinant sur le vibron Korein, son taux d'agglutination étant d'environ 1/300. Une dilution de sérum anti-phage à 1/500 a été faite dans du bouillon. Dans cinq tubes à essais, on a introduit 2 ml de ce sérum dilué, puis 2 ml de dilutions diverses de phage, de manière à obtenir une dilution finale de sérum de 1/1.000.

TABLEAU I. ACTIVITÉ DU SÉRUM ANTI-PHAGE SUR DIVERSES DILUTIONS DE PHAGE *V. CHOLERA* KOREIN

	Dilution de phage		Sérum anti-phage 1/500	Activité du phage après 4 heures d'incubation
1	10 ⁻⁴	2 ml	2 ml	+
2	10 ⁻⁵	2 ml	2 ml	—
3	10 ⁻⁶	2 ml	2 ml	—
4	10 ⁻⁷	2 ml	2 ml	—
5	10 ⁻⁸	2 ml	2 ml	—

Après incubation à 37°C pendant quatre heures, on a étalé 0,05 ml de chaque mélange phage-sérum sur des plaques de gélose à 1,2 %, qui ont ensuite étéensemencée avec *V. cholerae* Korein.

Après 24 heures à 37°C, les phages ne présentaient d'activité que sur une seule plaque, où l'on constatait trois zones d'inhibition (2 ml de bactériophage à 10⁻⁴ + 2 ml de sérum).

¹ Soumise par le D^r W. Doorenbos et le D^r G. N. Cossery Bey, Laboratoires centraux du Ministère de l'Hygiène publique, Le Caire, Egypte.

Ensemencant sur plaques les dilutions originelles (ne contenant pas l'anti-phage) à 10^{-6} , 10^{-7} et 10^{-8} , on a vu apparaître une multitude de zones d'inhibition, le centre des plaques de gélose ne présentant absolument aucun signe de culture. La numération des phages par dilution et étalement donne des résultats variables, mais lors de l'expérience décrite ci-dessus on a noté une inhibition précise de l'activité du phage après 4 heures d'incubation en présence d'un sérum anti-phage à 1/1.000.

Transformation du type rugueux en type lisse

A partir d'une culture secondaire vieille de cinq jours ajoutée à du phage dans un bouillon de *V. cholerae* Korein, on a obtenu une variété rugueuse, et l'effet du phage-sérum sur ce vibrion a été examiné.

Des dilutions de sérum à 1/100 et 1/500 dans du bouillon ont été ensemencées avec la variété rugueuse ; un bouillon de culture avec du sérum normal de lapin à 1/100, ensemencé avec cette variété rugueuse, a servi de témoin.

Après 48 heures d'incubation, une anse de platine de chaque culture a été transférée dans des tubes semblables, contenant du bouillon-sérum, et 48 heures plus tard cette opération a été répétée. Après incubation pendant 72 heures, les cultures ont été étalées sur des plaques de gélose pour choléra.

Après 24 heures d'incubation, on n'a constaté aucune différence apparente entre les vibrions de la variété rugueuse développés en présence du sérum anti-phage et de sérum normal de lapin, les colonies étant petites et sèches, bien qu'il ait été impossible d'émulsionner les vibrions dans une solution saline normale.

Les plaques ont été laissées à la température du laboratoire pendant cinq jours ; à ce moment, on a constaté que les colonies se trouvant sur les plaques de contrôle avaient gardé leur aspect rugueux alors que les vibrions ayant crû de façon répétée en présence du sérum-phage manifestaient une tendance nette à retourner au type lisse.

Les colonies avaient augmenté de dimensions, le centre de la culture demeurait de type rugueux mais les bords présentaient le type lisse. Environ 60 à 70 % des colonies manifestaient ce phénomène, et il n'y avait aucune différence apparente entre la plaque ensemencée avec la dilution de sérum à 1/100 et celle ensemencée avec la dilution de sérum à 1/500.

On a transféré des prélèvements opérés sur les bords de type lisse de plusieurs colonies cultivées sur les deux plaques (dilution de sérum à 1/100 et 1/500) dans des tubes de gélose ; la culture obtenue s'est montrée d'aspect lisse et pouvait être émulsionnée facilement dans une solution saline normale.

L'agglutinabilité de ces vibrions de type lisse était la même (1/3.200) que celle de la culture lisse originale de ce vibron, avant qu'elle ait été soumise à l'action du phage.

Discussion

Le sérum anti-phage a manifesté un pouvoir net d'inhibition sur l'activité du phage, mais il contenait également quelques agglutinines anti-vibrions.

La transformation des vibrions du type rugueux en type lisse en présence de ce sérum peut être due au fait qu'il s'agit d'un « sérum immun », ou bien elle peut être imputée à ses propriétés anti-phage ou encore à une combinaison de ces deux facteurs.

Le fait que le taux d'agglutination de ce sérum est faible, 1/300, donnant une clarification complète à 1/300 et n'en donnant pas à 1/500, et le fait que les dilutions 1/100 et 1/500 ont eu le même effet sur la transformation du type rugueux en type lisse, nous incite à croire que la propriété anti-phage a été la cause première de la transformation. Les vibrions de type rugueux, cultivés en présence de sérum normal de lapin à 1/100, n'ont pas présenté ce phénomène.

La possibilité, bien que faible, d'une transformation spontanée du type rugueux en type lisse des vibrions de type rugueux cultivés sur différents milieux, devait être prise en considération ; toutefois, le fait demeure — comme le montrent les expériences susmentionnées — que, sous l'influence d'un anti-phage spécifique, un vibron de type rugueux retourne à sa forme lisse primitive.

De nouvelles recherches sur la question sont en cours et leurs résultats feront, en temps voulu, l'objet d'un rapport.

Les auteurs tiennent à exprimer leurs remerciements à Sir Aly Shousha Pacha, ancien Sous-Secrétaire d'Etat au Ministère de l'Hygiène publique d'Egypte, à la suggestion et aux encouragements duquel ce travail doit d'avoir été entrepris.

Annexe 4**LISTE DES PERSONNALITÉS AYANT ASSISTÉ A LA RÉUNION
COMMUNE DU GROUPE MIXTE OIHP/OMS D'ÉTUDES SUR
LE CHOLÉRA ET DU COMITÉ CONSULTATIF DU CHOLÉRA
DE L'INDIAN RESEARCH FUND ASSOCIATION**

- D^r N. T. Advani, Assistant Director of Public Health, Central Registration,
District de Poona
- Lt-Col. M. L. Ahuja, Director, Central Research Institute, Kasauli
- D^r A. C. Banerjee, Director of Medical and Health Services, United
Provinces, Lucknow
- Major-General S. L. Bhatia, Inspector General of Civil Hospitals,
Hyderabad (Deccan)
- Lt-Col. A. N. Duggal, Director of Public Health, Bihar, Patna
- D^r S. C. Ghosal, Professor of Bacteriology and Pathology, School of
Tropical Medicine, Calcutta
- D^r V. R. Khanolkar, Director of Laboratories and Research, Tata Memo-
rial Hospital, Bombay
- D^r K. V. Krishnan, Professor of Microbiology, All-India Institute of
Hygiene and Public Health, Calcutta
- D^r R. B. Lal, Professor of Epidemiology, All-India Institute of Hygiene
and Public Health, Calcutta
- Brigadier Sarup Narain, Director of Research and Training, Directorate
General of Indian Armed Forces, Medical Services, Ministry of Defence,
New-Delhi
- D^r S. R. Pandit, Director, Institut Pasteur, Shillong
- D^r K. C. K. E. Raja, Director-General of Health Services, Government
of India, New-Delhi
- D^r Gurkirpal Singh, Medical Assistant, Central Research Institute,
Kasauli

Major-General Sir Sahib Singh Sokhey, Director, Haffkine Institute, Bombay ¹

D^r R. Subramaniam, Director of Public Health, Madras

D^r R. Subramanian, Deputy Director of Public Health, Central Provinces, Nagpour

D^r Satya Swaroop, Professor of Statistics, All-India Institute of Hygiene and Public Health, Calcutta ²

D^r K. V. Venkatraman, Director, King Institute, Guindy, Madras ³

D^r P. M. Wagle, Assistant Director,⁴ Haffkine Institute, Bombay

¹ Actuellement : Sous-Directeur général, Département des Services techniques centraux, Organisation Mondiale de la Santé

² Actuellement : Chef de la Section des Etudes statistiques, Division des Statistiques sanitaires, Organisation Mondiale de la Santé

³ Actuellement : Serologist and Chemical Examiner to the Government of India, School of Tropical Medicine, Calcutta

⁴ Actuellement : Director