

Ce rapport exprime les vues collectives d'un groupe international d'experts et ne représente pas nécessairement les décisions ou la politique officiellement adoptées par l'Organisation Mondiale de la Santé.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ
SÉRIE DE RAPPORTS TECHNIQUES

N° 74

COMITÉ D'EXPERTS
DE LA PESTE

Deuxième rapport

	Pages
1. Election du Président	3
2. Adoption de l'ordre du jour	3
3. Enquêtes sur les rongeurs sauvages	3
4. Méthodes permettant de différencier <i>P. pestis</i> et <i>P. pseudotuberculosis</i> , et possibilité d'uniformiser ces méthodes	5
5. Réactions biochimiques de <i>P. pestis</i>	5
6. Etudes récentes sur l'immunité conférée par les différents vaccins antipesteux	6
7. Traitement et prophylaxie par des produits médicamenteux	6
8. Valeur des rodenticides modernes et en particulier des anticoagulants	8
9. Observations récentes sur la lutte contre la peste au moyen de DDT, d'HCH et de poudre de cyanure de calcium	9
10. Mémoire adressé par le Directeur général aux personnalités inscrites au Tableau d'experts de la Peste, au sujet des dispositions du Règlement sanitaire international relatives à la peste	10
Annexe 1. Méthodes fondamentales à appliquer pour le diagnostic de la peste en laboratoire	11

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

PALAIS DES NATIONS

GENÈVE

OCTOBRE 1953

COMITÉ D'EXPERTS DE LA PESTE

Deuxième session

Bombay, 5-10 décembre 1952

Membres :

- D^r J. M. de la Barrera, Professeur de Bactériologie à l'Université nationale de La Plata, Argentine
- D^r A. Castro, Directeur du Service national de la Peste, Ministère de l'Éducation et de la Santé, Rio-de-Janeiro, Brésil (*Rapporteur*)
- D^r G. Girard, Chef du Service de la Peste, Institut Pasteur, Paris, France (*Vice-Président*)
- D^r K. F. Meyer, Director, G. W. Hooper Foundation, University of California Medical Center, San-Francisco, Calif., Etats-Unis d'Amérique
- Major-General Sir Sahib Singh Sokhey, Member of the Council of States, New-Delhi, Inde (*Président*)
- D^r P. M. Wagle, Director, Haffkine Institute, Bombay, Inde

Membres du personnel de l'O.M.S. :

- Mr. D. H. S. Davis, Conseiller principal, Projet de Lutte contre la Peste (OMS), Deoria, Inde
- D^r C. Mani, Directeur, Bureau régional de l'Asie du Sud-Est, New-Delhi, Inde
- D^r R. Pollitzer, Division des Services des Maladies transmissibles, Genève (*Secrétaire*)
- D^r W. W. Yung, Directeur de la Station d'Informations épidémiologiques de Singapour

Le rapport sur la deuxième session de ce comité a paru primitivement sous forme de document polycopié (WHO/Plague/29), en date du 9 avril 1953.

COMITÉ D'EXPERTS DE LA PESTE

Deuxième rapport ¹

La deuxième session du Comité d'experts de la Peste s'est tenue à l'Institut Haffkine (Bombay) du 5 au 10 décembre 1952.

1. Election du Président

Sir Sahib Singh Sokhey a été élu Président à l'unanimité. Le D^r G. Girard a été élu Vice-Président et le D^r A. Castro Rapporteur.

2. Adoption de l'ordre du jour

L'ordre du jour provisoire a été adopté sans modification.

3. Enquêtes sur les rongeurs sauvages

3.1 Résultats de l'enquête en Afrique

Le comité a examiné un rapport sur la peste des rongeurs sauvages en Afrique.² Ce rapport se fonde sur une analyse des réponses données par les gouvernements de territoires africains, y compris Madagascar, à un questionnaire qui leur avait été adressé à la suite d'une recommandation formulée par le comité lors de la première session, en septembre 1949.³

Au cours de la période 1935-1949, sur laquelle porte l'enquête, le nombre annuel de cas de peste humaine a subi une régression marquée, notamment à partir de 1946. En 1949, il n'a été déclaré que 400 cas contre plus de 6.000 en 1935. Néanmoins, à la fin de 1949, la peste sévissait encore au Congo Belge, au Kenya, à Madagascar, au Tanganyika et en Afrique

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

1. PREND ACTE du deuxième rapport du Comité d'experts de la Peste ;
2. REMERCIE les membres du comité du travail qu'ils ont accompli ; et
3. AUTORISE la publication du rapport.

(Résolution EB12.R12, *Actes off. Org. mond. Santé*, 49, 4)

² Davis, D. H. S. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

³ *Org. mond. Santé Ser. Rapp. techn.* 1950, 11, 7

australe, où les conditions favorisent manifestement la persistance de l'infection.

En Afrique australe, le réservoir permanent est constitué par certains rongeurs sauvages, alors que, sur les hauts plateaux de l'Afrique centrale et à Madagascar, les principaux responsables semblent être les rongeurs domestiques. Certes, on a trouvé en Afrique centrale des rongeurs sauvages infectés, mais on n'a pu déterminer dans quelle mesure ils contribuent à entretenir l'infection. D'autre part, rien ne prouve, jusqu'à présent, qu'à Madagascar les rongeurs sauvages jouent un rôle appréciable dans l'épidémiologie de la peste.

3.2 *Enquêtes dans d'autres territoires*

Le comité a également pris acte d'un document sur l'épidémiologie de la peste en Argentine,⁴ où l'infection ne prévaut actuellement que chez les rongeurs sauvages de l'hinterland et où l'on ne constate que quelques cas sporadiques de peste humaine.

Le comité a été informé que les premiers résultats d'une enquête prolongée n'ont pas révélé de cas de peste chez les rongeurs sauvages du Brésil. Les rongeurs domestiques semblent constituer le seul réservoir de cette infection.

Il a également été fait mention de la découverte récente de foyers de peste dispersés chez les rongeurs sauvages du Kurdistan iranien et de la partie du territoire turc qui est limitrophe de la Syrie ; on a exprimé l'avis que ces foyers s'inscrivent dans une zone beaucoup plus vaste d'enzootie pesteuse.

Le comité a noté que, les foyers de peste des rongeurs sauvages se trouvant en général dans les régions semi-désertiques faiblement peuplées, les puces des rongeurs sauvages n'ont pas normalement la possibilité de piquer l'homme, de sorte que les infections humaines y sont rares. Néanmoins, la situation pourrait devenir dangereuse si les rongeurs sauvages contaminaient les rongeurs domestiques vivant dans les agglomérations humaines ou à proximité. L'apparition inopinée de cas de peste humaine dans des régions insuffisamment étudiées montre la nécessité d'une délimitation exacte de la peste des rongeurs sauvages.

Etant donné que la relation entre la peste des rongeurs sauvages et la peste des rongeurs domestiques n'a pas été pleinement élucidée, le comité a, en outre, recommandé que les pays où la peste est encore endémique entreprennent des études systématiques d'ordre écologique, afin d'établir le rôle respectif des espèces de rongeurs sauvages et domestiques dans le maintien du réservoir de virus, et fassent en particulier des recherches étendues sur les aptitudes vectrices et les possibilités de survie des puces

⁴ Barrera, J. M. de la (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

infectées, dans des conditions de température et d'humidité variables, tant au laboratoire que dans la nature.

4. Méthodes permettant de différencier *P. pestis* et *P. pseudotuberculosis*, et possibilité d'uniformiser ces méthodes

Le comité a pris acte d'un document traitant de la différenciation de *Pasteurella pestis* et de *Pasteurella pseudotuberculosis*.⁵ Cette communication signale que l'on peut aisément, à toutes fins épidémiologiques et cliniques, distinguer ces deux bacilles dans la pratique courante du laboratoire. La mobilité du bacille de la pseudo-tuberculose, son absence de pouvoir pathogène lorsqu'il est inoculé au rat blanc par voie sous-cutanée, la production d'uréase et la fermentation constante du glycérol et du rhamnose suffisent habituellement à le différencier de *P. pestis*.

Les tests sérologiques (agglutination et précipitation) et les tests d'identification par les bactériophages réalisés selon une technique appropriée ont donné des résultats parfaitement sûrs. On devrait donc, dans le cas de souches douteuses, recourir à ces tests pour le diagnostic différentiel, tout en employant concurremment un certain nombre des méthodes plus simples ci-dessus mentionnées.

Le comité a reconnu qu'il est difficile d'assurer l'application universelle de méthodes basées sur l'emploi d'antisérums et de phages spécifiques en vue de différencier les deux germes, mais on pourrait, à son avis, surmonter cette difficulté en confiant à un ou plusieurs laboratoires centraux la préparation et la distribution de sérums et de souches de bactériophages appropriés. On a noté à cet égard que, dans certaines régions, notamment en France, où les infections humaines par le bacille de la pseudo-tuberculose ne sont pas rares, il importe en fait de différencier le bacille pesteux de *P. pseudotuberculosis* mais que, jusqu'à présent, les spécialistes de la peste n'ont pas rencontré ce second bacille en Afrique centrale, en Chine, dans l'Inde, en Indochine et à Madagascar.

5. Réactions biochimiques de *P. pestis*

Lors de l'examen d'un document résumant les connaissances actuelles sur la classification de *P. pestis* par des méthodes biochimiques et exposant les possibilités de nouvelles études sur les réactions biochimiques de *P. pestis*,⁶ le comité a décidé qu'étant donné le rôle important qu'il joue dans l'élucidation des questions d'épidémiologie, il faut considérer le test

⁵ Girard, G. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

⁶ Pollitzer, R. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

de fermentation en milieux glycérolés comme essentiel pour le diagnostic bactériologique de la peste. Pour faciliter ce travail, il y aurait lieu de désigner des laboratoires de base qui procéderaient aux tests en appliquant une méthode standardisée d'un commun accord. La grande constance des réactions négatives produites par un nombre considérable de souches pesteuses en milieux glycérolés semble être significative. Il conviendrait de poursuivre méthodiquement des études dans ce domaine.

Le phénomène du halo qui se produit autour des colonies de *P. pestis* sur gélose au sang mérite, de l'avis du comité, d'être étudié conjointement avec les tests en milieux glycérolés.

A la lumière des connaissances nouvellement acquises, l'épreuve de réduction des nitrates et les tests mettant en évidence la production d'acide nitreux dans les milieux exempts de nitrates prennent une importance particulière, mais il est souhaitable de poursuivre l'étude de ces réactions dans des conditions normalisées avant de pouvoir se prononcer d'une manière définitive sur la constance et la précision avec lesquelles elles permettraient d'identifier les variétés du bacille de la peste.

Le comité a chargé un sous-comité de définir des méthodes uniformes de base à appliquer au diagnostic de la peste en laboratoire (voir annexe 1, page 11).

6. Etudes récentes sur l'immunité conférée par les différents vaccins antipesteux

Il ressort des constatations expérimentales présentées au comité⁷ que tout vaccin antipesteux, vivant ou tué, est apte à modifier la réceptivité du sujet, à condition de renfermer une quantité suffisante de matériel immunisant. Les vaccins tués doivent être injectés en deux fois.

Une injection de rappel annuelle permet d'améliorer progressivement le degré d'immunité de divers groupes de population et de lutter efficacement contre la peste dans les zones d'endémicité.

Avec les vaccins vivants il est essentiel d'obtenir une réaction locale, tandis qu'on peut conférer une protection satisfaisante avec des vaccins tués qui ne donnent lieu à aucune réaction locale ou générale.

7. Traitement et prophylaxie par des produits médicamenteux

7.1 Valeur respective des sulfamides et des antibiotiques

Il ressort d'un document soumis au comité⁸ que les essais récents de traitement de la peste bubonique dans l'Inde ont donné les résultats suivants :

⁷ Meyer, K. F. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

⁸ Sokhey, S. S., Wagle, P. M. & Habbu, M. K. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

Médicament	Totalité des cas			Cas septicémiques au début du traitement		
	Nombre de cas	Nombre de décès	Pourcentage de létalité	Nombre de cas	Nombre de décès	Pourcentage de létalité
Streptomycine	148	6	4,1	37	4	10,8
Sulfadiazine	180	16	8,9	62	13	21,0
Sulfamérazine	113	9	8,0	22	7	31,8

On a donc obtenu des résultats nettement meilleurs avec la streptomycine qu'avec la sulfadiazine et la sulfamérazine.

Le comité a, en outre, été informé que la streptomycine a également donné d'excellents résultats dans le traitement de la peste pneumonique à Madagascar. Fait digne de remarque, on a constaté que, tout en demeurant présents dans les crachats de ces malades, les bacilles de la peste avaient perdu leur virulence 24 heures après le début du traitement.

Comme le montre le tableau reproduit ci-dessus, les sulfamides n'ont permis d'obtenir que des résultats médiocres chez les sujets présentant une septicémie secondaire au début du traitement, mais on a pu constater que ces médicaments étaient plus efficaces si on les employait avant l'apparition de la septicémie. De même, le comité a été informé qu'au Brésil, où sévissait une peste de caractère bénin, on n'a constaté que 6 % de décès chez les 600 sujets atteints de peste bubonique, traités par un mélange de sulfathiazol, de sulfadiazine et de sulfamérazine. Il s'ensuit que, pour être efficace, le traitement par les sulfamides seuls doit être commencé de bonne heure, avant l'installation de la septicémie. Ce point présente une grande importance dans les pays où, pour des raisons financières, les antibiotiques ne peuvent être utilisés largement dans le traitement de la peste.

Examinant le problème de la prophylaxie de la peste par les substances thérapeutiques, le comité a noté que l'immunsérum, qui donnait parfois de bons résultats dans le passé, n'a jamais pu être employé en grand. La chimio-prophylaxie par les sulfamides, qui est susceptible d'application universelle, a donné d'excellents résultats, par exemple à Madagascar où, depuis que l'on recourt à cette méthode, soit depuis douze ans, on n'a constaté aucun cas d'infection manifeste chez les contacts des malades atteints de peste pneumonique.

Il faut employer également les sulfamides dans certaines conditions exceptionnelles chez les sujets exposés à l'infection bubonique, par exemple pour conférer une protection temporaire au personnel obligé de pénétrer dans les localités infectées peu de temps après avoir été vacciné contre la peste.

La sulfamérazine, qui persiste plus longtemps dans le sang que d'autres sulfamides, semble répondre particulièrement bien aux exigences de la chimio-prophylaxie.

7.2 Uniformisation des méthodes de traitement et de chimio-prophylaxie

D'après l'expérience des membres du comité, il convient de traiter la peste pneumonique par la streptomycine administrée à la dose totale de 16 à 20 g, répartie sur 6 à 7 jours. Le même traitement doit être employé dans les cas graves de peste bubonique avec septicémie. On a, en outre, recommandé de compléter ce traitement par une thérapeutique adjuvante appropriée. Dans la peste pneumonique, l'administration de sulfamides ou d'antibiotiques à haute polyvalence peut être nécessaire pour empêcher l'apparition d'infections secondaires ou de leurs séquelles.

Les cas récents de peste bubonique peuvent être efficacement traités par les sulfamides à raison de 10 g environ le premier jour avec des doses décroissantes les jours suivants, de manière à administrer au moins 50 g pendant la première semaine. La première administration de sulfamides, soit 2 g, doit se faire par voie intraveineuse, de préférence en solution glucosée. Afin d'empêcher les rechutes, notamment de peste méningée, le traitement par les sulfamides doit se poursuivre pendant trois jours au moins après retour à la température normale.

Pour protéger les sujets ayant été en contact avec des malades atteints de peste pneumonique, le comité a recommandé l'administration de doses quotidiennes de 3 g d'un sulfamide approprié pendant une période de six jours. Le comité a également reconnu la valeur du vaccin préventif après ce traitement.

8. Valeur des rodenticides modernes et en particulier des anticoagulants

Après avoir examiné en détail les possibilités d'emploi des rodenticides dans la prophylaxie de la peste, le comité est parvenu à la conclusion que, pendant les épidémies, c'est aux insecticides qu'il faut recourir au premier chef. Il importe, d'autre part, de détruire les rats, surtout pendant les périodes interépidémiques, sans interrompre pour autant l'application d'insecticides.

En ce qui concerne les divers rodenticides,⁹ le comité a souligné la valeur des anticoagulants récemment découverts. Ces substances tuent peu à peu les rongeurs sans éveiller leur méfiance vis-à-vis du poison.

Le comité a reconnu que, parmi les toxiques recommandés lors de la première session,¹⁰ le fluoracétate de sodium (1080) est de loin le plus efficace. Néanmoins, bien qu'il soit souhaitable d'utiliser ce produit chaque fois qu'il est possible, on ne doit s'y résoudre que lorsque tout risque d'empoi-

⁹ Link, V. B. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

¹⁰ *Org. mond. Santé Ser. Rapp. techn.* 1950, 11, 13

sonnement accidentel des humains et des animaux domestiques peut être écarté.

L'ANTU (α -naphtyl-thiourée), la scille rouge et le phosphore de zinc, dont les propriétés ont été étudiées lors de la première session du comité, sont considérés comme moins efficaces que le 1080. Toutefois, le comité est d'avis qu'on pourrait les employer, en prenant les précautions nécessaires, si les circonstances le justifiaient. Les experts se sont nettement déclarés opposés à l'emploi de préparations microbiennes comme rodenticides.

9. Observations récentes sur la lutte contre la peste au moyen de DDT, d'HCH et de poudre de cyanure de calcium.

D'après un rapport¹¹ présenté au comité, des études comparatives récentes, entreprises dans l'Inde, sur la valeur en tant que pulicides du DDT, de l'HCH et de la poudre de cyanure de calcium, ont montré qu'on peut ranger ces produits dans l'ordre d'efficacité suivant : DDT, HCH et cyanure de calcium.

D'autre part, il ressort d'expériences effectuées dans les conditions naturelles, au cours de ces études, qu'en procédant à des pulvérisations de DDT à effet rémanent à l'intérieur de toutes les maisons d'un village infecté, et, de préférence, en saupoudrant également de DDT les gîtes de rats, à l'intérieur et à l'extérieur des maisons, on est parvenu, dans la majorité des cas, à arrêter complètement la propagation de l'infection en 8 à 10 jours environ.

Compte tenu de tout un ensemble d'observations et notamment de celles qui viennent d'être signalées, le comité a recommandé comme méthode de choix, pour la lutte contre la peste, l'application de DDT aussi bien dans les maisons que dans les gîtes des rats.

On a toutefois signalé au comité certains essais récents effectués en Equateur,¹² qui soulèvent une question extrêmement importante : il est apparu, en effet, que des applications répétées de DDT peuvent susciter une résistance à cet insecticide chez les puces du rat. Etant donné qu'il y aurait des inconvénients à substituer dans ces conditions l'HCH au DDT, le comité estime indispensable de rechercher de nouveaux pulicides qui soient aussi efficaces que le DDT.

Le comité a exprimé l'opinion qu'il n'y a pas lieu d'encourager l'emploi du cyanure de calcium pour combattre la peste.

¹¹ Wagle, P. M. & Seal, S. C. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

¹² Sáenz Vera, C. (1953) *Bull. Org. mond. Santé*, 9 (sous presse)

Résumant leurs échanges de vues sur la prophylaxie de la peste, les experts ont souligné qu'en raison des différences notables que présentent les diverses zones infectées (nature et intensité des manifestations de la maladie, conditions de vie des populations, crédits et moyens disponibles), il est impossible de dresser un plan uniforme et rigide de lutte contre cette maladie. Dans chaque zone, les programmes doivent être adaptés aux conditions locales. Le comité a souligné, néanmoins, que la méthode prophylactique de choix consiste dans tous les cas à interrompre les contacts entre les rongeurs et l'homme par l'amélioration du logement.

Il faut donc inciter les pouvoirs publics à améliorer à tout prix, avec toute la diligence possible, les conditions de logement des populations dans les zones pesteuses. Les autorités devraient également maintenir un service efficace de lutte antipesteuse, qui aurait essentiellement pour objet de dépister précocement les manifestations de l'infection et d'adopter aussitôt les dispositions nécessaires. Enfin, il conviendrait d'appliquer en tout temps des mesures prophylactiques appropriées.

10. Mémoire adressé par le Directeur général aux personnalités inscrites au Tableau d'experts de la Peste, au sujet des dispositions du Règlement sanitaire international relatives à la peste

Conformément à une résolution adoptée par le Conseil Exécutif lors de sa huitième session,¹³ un mémoire¹⁴ sur les dispositions du Règlement sanitaire international (Règlement N° 2 de l'Organisation Mondiale de la Santé)¹⁵ relatives à la peste a été soumis au comité aux fins d'examen et de recommandations. Ce mémoire soulignait qu'en élaborant le Règlement on a dû, sur certains points, accepter une solution de compromis et que, pour cette raison, le texte ne correspond pas toujours à un idéal de perfection technique. Toute critique technique du Règlement et tout projet d'amendement devaient donc être formulés en pleine connaissance des difficultés qu'il a fallu surmonter pour parvenir à un accord dans certains cas.

Eu égard à ces considérations, le comité s'est abstenu de formuler des recommandations.

¹³ Résolution EB8.R13, *Actes off. Org. mond. Santé*, 36, 4

¹⁴ Document de travail non publié WHO/Plague/18

¹⁵ *Org. mond. Santé Ser. Rapp. techn.* 1951, 41

Annexe 1**MÉTHODES FONDAMENTALES A APPLIQUER
POUR LE DIAGNOSTIC DE LA PESTE EN LABORATOIRE****1. Matériel prélevé sur l'homme****1.1 Sang veineux**

Volume de l'échantillon : 5-10 ml.

1.1.1 Frottis : Une goutte sur lame. Colorer au bleu de méthylène polychrome ou avec un colorant du type Romanowsky.

1.1.2 Hémoculture

1.1.2.1 Deux tubes de gélose inclinée (pH 7,2), à chacun desquels on ajoute 0,25 ml de sang. Passage à l'étuve à 25°-28°C.

1.1.2.2 Eau peptonée (pH 7,2), à laquelle on ajoute 4,5 ml de sang. Passage à l'étuve à 25°-28°C.

1.1.3 Epreuves sur les animaux : Inoculation sous-cutanée directe de 5,0 ml à un cobaye, ou de 0,5 ml à une souris blanche.

1.1.4 Autres opérations**1.1.4.1 Géloses inclinées :**

- 1) Examiner à la loupe après 24 à 48 heures.
- 2) Préparer des frottis à partir de colonies de consistance visqueuse et colorer au gram et au bleu de méthylène avec quelques gouttes de fuchsine phéniquée.
- 3) Faire un repiquage de matériel provenant de colonies visqueuses dans :
 - a) de l'eau peptonée - deux tubes pour le test de l'Indol et le test de présence des nitrites respectivement ;¹
 - b) des tubes de fermentation avec glucose, glycérol, rhamnose et sucrose ;
 - c) une gélose au sang inclinée (pour frottis et test de l'uréase) ;
 - d) une gélose semi-solide (0,4 % - 0,5 %) pour l'épreuve de mobilité.

¹ Il y aurait lieu de rechercher si les milieux à base d'hydrolysate de caséine conviennent aux tests de réduction des nitrates.

1.1.4.2 Eau peptonée :

Si la culture ne donne pas un trouble uniforme après 48 heures, il y a présomption de peste. Procéder à des repiquages sur gélose inclinée et réaliser les tests recommandés dans la section 1.1.2.1.

REMARQUE. Lorsqu'il y a lieu de procéder à des réactions d'agglutination, il faut employer comme antigène une culture en eau peptonée additionnée de 0,2 % de formol.

1.1.4.3 Epreuves sur les animaux

1) Cobaye : Observer le développement du bubon. Le 4^e ou le 5^e jour faire, par ponction cardiaque, un prélèvement de sang que l'on cultivera comme il est indiqué dans la section 1.1.1. Un animal inoculé avec du matériel virulent doit mourir dans les 5 à 6 jours. Si l'animal ne meurt pas, le sacrifier après 15 jours.

A l'autopsie, rechercher des signes macroscopiques de la peste, préparer des frottis et faire des cultures de bubon, de sang cardiaque, de foie, de rate, de poumon et, au besoin, de moelle osseuse.

2) Souris blanche : Un animal inoculé avec du matériel virulent doit mourir dans les 2 à 4 jours. Si l'animal ne meurt pas, le sacrifier après 10 jours.

Procéder à l'autopsie comme il est indiqué dans le cas du cobaye. Si les observations sont douteuses, il est recommandé d'inoculer un cobaye.

REMARQUE. Si la souris présente des signes de décomposition, employer, pour les cultures, de la gélose au violet de gentiane.

1.2 *Matériel provenant des bubons*

Il est recommandé de procéder à une ponction simple, sans rotation, au moyen d'une aiguille fine (taille 20, ou 0,7 mm) et de recueillir le matériel dans du soluté physiologique ou de l'eau peptonée que l'on a déjà aspirée dans la seringue (quelques gouttes).

Faire des frottis et des cultures et les examiner comme il est indiqué dans les sections 1.1.1, 1.1.2 et 1.1.4.

1.3 *Moelle osseuse*

La moelle osseuse doit être prélevée uniquement sur le cadavre par ponction sternale ou par digitomie.

Les cultures et les épreuves sur les animaux doivent être faites comme il est indiqué dans la section 1.1.

REMARQUE. Dans le cas de cadavres en décomposition, il est recommandé de procéder à des réactions de déviation du complément avec de la moelle osseuse ou du matériel prélevé sur la rate selon la méthode décrite par Chen et al.²

1.4 *Crachats*

1.4.1 Préparer et colorer des frottis comme il est indiqué dans la section 1.1.1. Procéder à des examens réitérés à quelques heures d'intervalle si l'on n'obtient pas de prime abord de résultat caractéristique.

1.4.2 Inoculer un cobaye par scarification.

1.4.3 On peut essayer de cultiver sur gélose contenant 500 unités de pénicilline par millilitre.

1.5 *Liquide céphalo-rachidien*

Prélever un échantillon de 5 ml s'il y a présomption de méningite pesteuse. Cultiver comme il est indiqué dans la section 1.1.2.

1.6 *Sérum sanguin*

1.6.1 Agglutination en utilisant des antigènes lavés à plusieurs reprises.

1.6.2 Réactions de déviation du complément selon la méthode de Chen et al.²

2. Matériel prélevé sur des animaux

2.1 *Animaux vivants sacrifiés au laboratoire*

2.1.1 Examen post mortem portant spécialement sur les ganglions lymphatiques, le foie, la rate et les poumons.

2.1.2 Frottis de ces organes comme il est indiqué dans la section 1.1.1.

2.1.3 Inoculation à un animal de matériel provenant de ces organes, comme il est recommandé dans la section 1.1.3.

2.2 *Animaux morts*

Examen post mortem comme il est recommandé dans la section 2.1.1, suivi, si la mort est récente, d'un examen de frottis et d'une inoculation à des animaux d'expérience.

² Chen, T. H., Quan, S. F. & Meyer, K. F. (1952) *J. Immunol.* **68**, 147

Si les organes internes sont décomposés, examiner la moëlle osseuse comme il est indiqué dans la section 1.3.

3. Puces

Inoculation sous-cutanée à un cobaye, après broyage dans une petite quantité de soluté physiologique normal, en employant à cette fin des mélanges provenant de 100 spécimens au maximum (20 à 30 spécimens de préférence).