

99

109

CARACTÈRES BIOCHIMIQUES DES SOUCHES DE PESTE « SAUVAGE » DU KURDISTAN

par M. BALTAZARD et P. ASLANI (*).

(Institut Pasteur de l'Iran, Téhéran.)

Nous avons récemment rapporté les résultats de l'enquête poursuivie pendant quatre années dans le foyer de peste du Kurdistan par l'équipe de recherche de l'Institut Pasteur de l'Iran [1].

Au cours de cette enquête nous avons isolé 73 souches de peste, soit :

- 4 souches isolées de l'homme,
- 3 souches isolées de puces de rongeurs,
- 61 souches isolées de mérions (*Meriones persicus persicus*, *M. libycus erythroua*, *M. shawi tristrami*),
- 3 souches isolées de gerboises (*Allactaga williamsi*),
- 1 souche isolée d'une belette (*Mustela altaica*),
- 1 souche isolée d'un rat-taupe (*Ellobius lutescens*).

L'origine exacte de ces souches a été donnée dans notre précédent travail ; leur point précis d'isolement peut être trouvé sur la carte 3, annexée à ce travail [1].

Nous avons suivi, pour l'identification biochimique de ces souches, les conseils de R. Pollitzer, de la Section de Coordination des Recherches de l'OMS, qui a bien voulu nous remettre une copie de sa note de documentation au Comité d'Experts de la Peste de l'OMS [2].

I. — TECHNIQUES.

La recherche des caractères biochimiques : fermentation de la glycérine, fermentation du rhamnose, production d'acide nitreux, réduction des nitrates en nitrites, a été faite pour les 73 souches après des temps variés d'isolement et de conservation au laboratoire (quatre ans à huit jours). Toutes les souches anciennes, sorties de glacière, ont été, avant examen, passées sur le cobaye pour contrôle et examen de la virulence.

(*) Société française de Microbiologie, séance du 8 mai 1952.

(1) Nous avons utilisé, pour notre part, la peptone Chapoteaut.

La recherche de la fermentation de la glycérine et du rhamnose a été faite selon la technique utilisée par Chen [3] sur les indications de R. Pollitzer et de K. F. Meyer et recommandée par Pollitzer dans sa note [2] comme technique standard. Le milieu est l'eau peptonée (1 p. 100 de peptone (1) en eau distillée) à laquelle on ajoute glycérine ou rhamnose dans la proportion de 1 p. 100. L'indicateur est la fuchsine acide : indicateur d'Andrade (fuchsine acide : 0,20 g, eau distillée : 100 cm³), ajouté au milieu dans la proportion de 1 p. 100. Après stérilisation (une heure, à 105° C seulement pour éviter la caramélisation) le pH de ces milieux est très soigneusement ajusté à 7,40.

Deux tubes au moins de chaque milieu sont ensemencés largement avec le produit de raclage (4 anses) d'une culture de quarante-huit heures sur gélose ordinaire de la souche à examiner et portés à l'étuve à 37° C (2). Les tubes sont agités pour aération tous les jours et suivis pendant vingt et un jours. La pousse du bacille dans le milieu est estimée tous les jours par néphélométrie et notée en même temps que le virage de la couleur du milieu. Des subcultures sont faites chaque semaine pour vérifier la vitalité des germes.

Pour la recherche de la production d'acide nitreux, et de la réduction des nitrates en nitrites, les techniques sont moins bien fixées. Pollitzer [2] recommande, pour la seconde de ces recherches, la technique de Petraguani [4], ce qui est inexact, cet auteur ayant seulement décrit une technique de recherche de la production par le bacille pesteux d'acide nitreux en bouillon de foie ordinaire, non additionné de nitrates. Cette technique de Petraguani étant par ailleurs décrite d'une manière peu précise nous avons, pour notre part, fixé les modes de recherche suivants, d'après les indications de R. Pollitzer.

Le milieu utilisé est le bouillon de foie (foie de veau : 500 g, peptone Chapoteaut : 10 g, NaCl : 5 g), pH ajusté à 7,5, employé tel pour la recherche de la production d'acide nitreux. Pour la recherche de la réduction des nitrates en nitrites, le bouillon de foie est additionné de nitrate de potasse dans la proportion de 1 p. 100. Deux tubes au moins de chaque milieu sont ensemencés largement comme il a été dit précédemment. Après quarante-huit heures, la réaction suivante est pratiquée, après vérification de l'abondance de la pousse.

On ajoute à chaque tube 0,1 cm³ d'une solution d'acide sulfanilique dans l'acide acétique (0,2 g pour 100 cm³ d'acide acétique à 30 p. 100 [5N]. Poids spécifique 1,041). Le mélange est soigneu-

(2) Nous avons respecté cette température pour raisons de standardisation, bien que la pousse du bacille pesteux soit moins rapide et abondante à 37° qu'à 32° C.

ment agité puis on ajoute goutte à goutte une solution d' α -naphthylamine dans l'acide acétique (0,5 g pour 100 cm³ d'acide acétique comme ci-dessus). Si la réaction est positive, une coloration allant du rose franc au rouge clair doit apparaître dans le tube, après adjonction de 5 gouttes au maximum.

Au cours de nos recherches nous avons utilisé constamment, dans chaque expérience, les souches suivantes : comme test de fermentation du rhamnose, une souche de *Past. Pseudotuberculosis* ; comme test de fermentation de la glycérine, une souche de staphylocoque doré et la souche de peste Tjwidedj (Java) ; comme test de non-fermentation de la glycérine et du rhamnose, la souche de peste avirulente E. V. de Girard et Robic et une *Brucella abortus* ; comme test de production d'acide nitreux et de réduction des nitrates en nitrites, la souche de peste E. V. et la souche Tjwidedj ; comme test de non-production d'acide nitreux et de non-réduction des nitrates en nitrites, une souche de *Brucella abortus*.

II. — RÉSULTATS.

Les 73 souches étudiées ont montré des caractères identiques : fermentation de la glycérine, pas de fermentation du rhamnose, pas de production d'acide nitreux, pas de réduction des nitrates en nitrites.

Nous donnons au tableau les résultats de l'étude de la fermentation de l'eau peptonée glycéinée par ces souches, selon les indications de R. Pollitzer et bien qu'il nous semble que la question de la durée de l'apparition et du développement de la réaction n'ait qu'une valeur très relative, restant avant tout facteur de la richesse de l'ensemencement et surtout de la rapidité et de l'intensité de la pousse du microbe.

Cette durée se montre fréquemment différente d'un tube à l'autre dans une même expérience, ou dans deux expériences différentes et les chiffres que nous donnons sont les moyennes de plusieurs tubes et de plusieurs essais pour chaque souche.

III. — DISCUSSION.

Ces 73 souches isolées dans le foyer du Kurdistan montrent donc une remarquable fixité de caractère. Toutes fermentent la glycérine, ne fermentent pas le rhamnose, ne produisent pas d'acide nitreux et ne réduisent pas les nitrates en nitrites.

Or, jusqu'à présent, un tel ensemble de caractères n'a été reconnu qu'en un seul point du monde. C'est à l'Institut d'Etat de Microbiologie et d'Epidémiologie du Sud-Est de l'URSS, à Saratov, que S. Konovalova [5], étudiant les 146 souches de la collection de cet Institut, observait que 118 d'entre elles se mon-

TABLEAU.

SOUCHE	ORIGINE	LOCALITE	FERMENTATION de la glycérine				
			-	+	++	+++	++++
PKR 1.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	1	2	3	2	13
PKR 2.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	5	3	1	3	9
PKR 3.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	5	3	2	7
PKR 4.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	2	4	3	1	8
PKR 5.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	3	1	4	2	9
PKR 6.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	3	2	3	9
PKR 7.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	6	3	3	8
PKR 8.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	2	4	2	9
PKR 9.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	3	2	1	3	10
PKR 13.	Méridon.	Djameh Clouran.	3	2	3	2	8
PKR 14.	Belette.	Sameleb.	1	5	2	3	7
PKR 15.	Méridon.	Sameleb.	5	3	3	4	8
PKR 16.	Méridon.	Sameleb.	2	3	4	5	7
PKR 17.	Gerboise.	Mahmoud Gazak.	4	3	4	5	8
PKR 18.	Méridon.	Sameleb.	3	3	2	7	6
PKR 19.	Méridon.	Gala Kan.	1	4	5	4	7
PKR 20.	Gerboise.	Haftachian.	2	2	3	2	12
PKR 21.	Méridon.	Satar.	3	3	4	4	7
PKR 22.	Méridon.	Tchayabad.	4	3	2	2	7
PKR 23.	Méridon.	Tchameh.	4	3	2	5	7
PKR 24.	Méridon.	Tchameh.	3	3	2	5	8
PKR 25.	Puces.	Sanneh.	3	4	2	3	8
PKR 26.	Méridon.	Chater Abad.	4	3	2	2	8
PKR 27.	Méridon.	Mirabad.	5	1	3	3	6
PKR 28.	Méridon.	Natchid.	5	3	3	4	8
PKR 29.	Méridon.	Yekchabé.	3	3	4	3	8
PKR 30.	Méridon.	Yekchabé.	5	3	1	5	7
PKR 31.	Méridon.	Yekchabé.	4	3	5	1	8
PKR 32.	Méridon.	Kariz.	3	3	3	3	9
PKR 33.	Méridon.	Gol.	4	1	3	3	7
PKR 34.	Puces.	Gol.	3	3	3	4	9
PKR 35.	Méridon.	Kaltaké.	2	2	2	2	13
PKR 36.	Méridon.	Natchid.	3	3	5	3	8
PKR 37.	Méridon.	Mohammad Khaladj.	1	1	4	2	12
PKR 38.	Méridon.	Mohammad Khaladj.	3	1	3	7	7
PKR 39.	Méridon.	Kenaderli.	2	2	3	4	10
PKR 40.	Ellobias.	Hay.	2	2	3	6	8
PKR 41.	Méridon.	Bizine.	3	2	5	3	8
PKR 42.	Méridon.	Bizine.	5	2	2	2	10
PKR 43.	Méridon.	Djuchinbad.	5	2	1	4	8
PKR 44.	Méridon.	Assiab Djabarom.	2	3	3	3	8
PKR 45.	Gerboise.	Sou Darassi.	2	3	3	7	7
PKR 46.	Méridon.	Pachtang.	2	3	3	4	10
PKR 47.	Méridon.	Yekka Darassi.	2	3	2	2	13
PKR 48.	Méridon.	Haftachian.	1	3	2	5	11
PKR 49.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	2	2	5	4	8
PKR 50.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	1	3	3	2	13
PKR 51.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	3	5	4	3	6
PKR 52.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	2	4	4	4	8
PKR 53.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	2	3	3	3	8

N. B. — Les signes -, +, ++, +++, +++++, indiquent les degrés de fermentation et de virage de l'indicateur; les chiffres dans les colonnes donnent la durée, en jours, de chaque phase de la fermentation.

SOUCHE	ORIGINE	LOCALITE	FERMENTATION de la glycérine				
			-	+	++	+++	++++
PKR 54.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	1	1	3	13	
PKR 55.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	2	4	5	3	6
PKR 56.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	3	2	2	3	11
PKR 58.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	6	3	1	2	9
PKR 59.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	6	4	3	2	6
PKR 60.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	2	1	1	13
PKR 61.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	7	3	1	2	8
PKR 62.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	5	2	1	3	10
PKR 63.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	6	4	2	1	8
PKR 65.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	2	3	3	2	11
PKR 65.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	7	1	1	2	9
PKR 66.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	6	1	1	2	9
PKR 67.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	3	2	2	3	11
PKR 68.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	1	1	3	12
PKR 69.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	3	3	1	11
PKR 70.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	4	3	1	2	11
PKR 71.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	6	2	2	2	8
PKR 72.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	1	2	1	2	6
PKR 74.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	6	2	1	1	11
PKR 75.	Méridon.	Aghbolagh Morched.	6	3	1	2	8
PKR 1.	Homme.	Ser Baghaleh.	3	3	2	2	11
PKR 2.	Homme.	Aghbolagh Morched.	2	2	2	6	9
PKR 3.	Homme.	Aghbolagh Morched.	3	3	3	7	6
PKR 4.	Homme.	Mazisabad.	3	4	2	5	8

traient incapables de produire de l'acide nitreux et de transformer les nitrates en nitrites. Ces 118 souches provenaient toutes de la zone placée sous le contrôle épidémiologique de l'Institut de Saratov, c'est-à-dire la zone comprise entre la basse Volga et le fleuve Oural (Kazakhstan de l'Ouest). Toutes avaient été isolées par les chercheurs de l'Institut de Saratov (certaines depuis 1907), de rongeurs ou de puces, de l'homme ou même du chameau, dans cette zone; la plupart étaient des souches de spermophiles. En opposition, les autres souches de la collection fermentant ou ne fermentant pas la glycérine (souches de Mongolie, de Transbaïkalie, de l'Inde, d'Italie et par exception deux souches du Kazakhstan), montraient dans le même temps et avec les mêmes techniques, la pouvoir de produire de l'acide nitreux, ou de réduire les nitrates en nitrites. Kononova qui, avec l'équipe de la Section de la Peste de l'Institut de Saratov, était surtout orientée vers la différenciation du bacille pesteux et de *Past. Pseudotuberculosis* ne semble pas avoir tiré de conclusions particulières de ce comportement spécial des souches du Sud-Est de l'URSS.

C'est R. Devignat qui, dans son effort de reclassement des souches de bacilles pesteux d'après leurs caractères biochimiques, a attiré l'attention sur le travail de Konovalova. Dans un article récent : « Variétés de l'espèce *Pasteurella pestis*. Nouvelle hypothèse » [6], cet auteur, tenant compte de la rigueur des observations de Konovalova, sépare les souches du Sud-Est de l'URSS sous le nom de Variété III : *Pasteurella* (ou *Yersinia*) *pestis* var. *medievalis*. C'est en effet à cette variété que l'auteur attribue, d'après les données historiques, les grandes invasions de la peste noire au Moyen Age.

Sans que nous ayons à prendre parti pour ou contre l'hypothèse, basée sur une solide étude historique, de Devignat, il faut reconnaître que les faits que nous apportons justifient au moins deux des vues de cet auteur. La première est l'ancienneté de cette variété : nous avons dit dans notre précédent travail [4] combien les conditions anciennes semblaient être restées intactes au Kurdistan, gardant à la peste sa figure originelle. La seconde est sa distribution géographique : Devignat écrit, à propos de sa variété III : « Peut-être s'étendrait-elle au pourtour de la mer Caspienne et même à l'Asie mineure » ; nous avons montré que ce foyer s'étendait de façon certaine à l'Irak et, selon toute vraisemblance, au Sud de la Turquie.

Mais les deux faits d'importance sur lesquels nous voudrions attirer l'attention sont les suivants. Le premier est que le foyer du Kurdistan et celui du Sud-Est de l'URSS, malgré la parenté biochimique de leurs souches, apparaissent géographiquement distincts. L'historique de la peste dans ces régions et nos propres recherches semblent pouvoir nous permettre d'affirmer que la peste enzootique n'existe pas en Azerbaïdjan. Le deuxième est que dans ces deux foyers, voisins mais distincts, les conditions de conservation de la peste paraissent identiques. Nous avons, pour notre part, montré que le foyer du Kurdistan est un foyer de peste pure du mérion (*Meriones persicus persicus*, *M. shawi tristrami*, *M. libycus erythraea*). Discutant le travail de Tikhomirova [7], nous avons par ailleurs montré combien les conclusions de cet auteur semblaient difficilement récusables : le foyer de peste du Sud-Est de l'URSS, d'où ont été isolées les 118 souches étudiées par Konovalova, semble bien, comme celui du Kurdistan, être un foyer de peste du mérion (*M. meridianus*, *M. lanaricus*) ou tout au moins un foyer où le mérion est le conservateur et l'origine permanente de la peste des rongeurs.

Cette similitude des souches dans les deux seuls foyers de mérions actuellement connus dans le monde est-elle due simplement au voisinage géographique de ces foyers et à une origine peut-être commune ou à quelque autre facteur, tel que la résistance particulière de ce genre de rongeurs à la peste ? Il nous

semble de grand intérêt d'identifier les autres foyers de mérions qui peuvent exister dans le monde, et très probablement, par exemple, en Afrique du Nord, et d'étudier les caractères biochimiques des souches isolées des foyers invétérés de l'intérieur, tels ceux de Cyrénaïque, de Tunisie ou du Maroc par exemple.

RÉSUMÉ.

73 souches de peste, humaines ou animales, isolées dans le foyer du Kurdistan montrent toutes les mêmes caractères biochimiques : fermentation de la glycérine, pas de fermentation du rhamnose, pas de production d'acide nitreux, pas de réduction des nitrates en nitrites.

Ces caractères sont identiques à ceux des souches du foyer russe du Nord de la Caspienne, qui est également un foyer de peste « sauvage » du mérion. Ces deux foyers sont les seuls foyers de peste du mérion actuellement connus dans le monde, les seuls également où les souches isolées présentent ces caractères biochimiques particuliers.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. BALTARARD, M. BARMANYAR, Ch. MOFIDI et B. SEYDIAN. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 1952, 5, 441.
- [2] R. POLLYZER. *Note de documentation pour le Comité d'Experts de la Peste de l'OMS*, 1950.
- [3] R. H. CHEN. *J. Infect. Dis.*, 1949, 35, 97.
- [4] G. PETTAIGNANI. *Bull. Office internat. Hyg. publ.*, 1937, 29, 2522.
- [5] S. KONOVALOVA. *Rev. Microbiol., Epidémiol. et Parasitol.*, Saratov, 1930, 9, 513.
- [6] R. DEVIGNAT. *Bull. Organisation Mondiale de la Santé*, 1951, 4, 247.
- [7] M. M. TIKHOMIROVA. *Rev. de Microbiol., Epidémiol. et Parasitol.*, Saratov, 1934, 13, 89.