

47

134

M. BALTAZARD, B. SEYDIAN et M. CHAMSA

avec la collaboration technique de A. G. Bagheri, présenté par R. Pourouki
Institut Pasteur de l'Iran, Teheran

**Préparation, standardisation et contrôle du
vaccin antivariolique desseché pour appli-
cation en "campagne de masse", en Iran**

PRÉPARATION, STANDARDISATION ET CONTROLE DU VACCIN ANTIVARIOLIQUE DESSECHÉ POUR APPLICATION EN « CAMPAGNE DE MASSE » EN IRAN

De 1946 à 1954, l'Institut Pasteur de l'Iran a produit en moyenne cinq millions de doses de vaccin antivariolique « frais » par an pour une population estimée à un peu plus de quinze millions d'habitants. En 1954 cependant, l'écllosion d'épidémies graves en plusieurs points du pays montrait que la situation de la variole restait extrêmement grave: cette situation pouvait être définie de la façon suivante.

En Iran, une loi, inspirée de la loi française, rend la vaccination antivariolique obligatoire pour tous les nouveau-nés; les enfants ne peuvent être admis à l'école sans un certificat de revaccination; enfin ceux des citoyens qui ont à accomplir le service militaire sont revaccinés à l'incorporation. Cette loi relativement bien appliquée dans les villes et les grosses agglomérations, rencontrait de grandes difficultés d'exécution dans les campagnes, les villages de montagne et les tribus nomades. 473 vaccinateurs itinérants, basés dans les centres d'hygiène urbains ou les chefs lieux de canton, parcouraient à longueur d'année les quelques 42.000 villages sans médecin ou agent sanitaire du désert et de la montagne et les 300.000 tentes des tribus transhumantes. Malgré l'effort consenti dans ce domaine par le Ministère de l'Hygiène, tant au point de vue financier qu'au point de vue organisation et surveillance, ces vaccinateurs restaient trop peu nombreux, étant donné d'une part les distances considérables qu'ils avaient à couvrir de village à village dans ce pays où plus de 15 millions d'habitants sont répartis sur 1.644.000 kilomètres carrés de territoire, étant donné aussi le condition climatiques: la neige rendant une partie du pays inaccessible pendant la moitié de l'année, la chaleur interdisant pratiquement la vaccination dans tout le sud du pays pendant l'autre moitié. Ces conditions aboutissaient en fin de compte à des passages beaucoup trop rares des vaccinateurs et même dans certains cas, à l'abandon plus ou moins prolongé de zones entières.

Cependant la difficulté la plus grave que rencontrait l'application

de la vaccination antivariolique en Iran était l'indifférence profonde, tant du personnel sanitaire que de la population, non à l'égard de la vaccination elle-même, mais à celui des revaccinations. Sans que le vaccinateur lui-même ou les chefs de village possédassent l'autorité suffisante pour l'application obligatoire de la vaccination, les mères amenaient spontanément leurs nouveau-nés et tous les enfants nés depuis le dernier passage du vaccinateur, mais pratiquement jamais aucun enfant ou adolescent et à plus forte raison aucun adulte ne se présentait au vaccinateur pour revaccination.

Les conditions locales favorisant la conservation du virus, l'infection restait endémique dans tout l'Iran et le nombre trop faible d'immunisés ne pouvait empêcher l'éclosion périodique de bouffées épidémiques à partir des cas endémiques. Dans toutes ces épidémies, le grand nombre d'enfants au dessus de 7 ans, d'adolescents et d'adultes de tous âges touchés par l'infection, démontrait d'éclatante manière l'insuffisance des revaccinations. Malgré campagnes de presse, de radio, circulaires aux médecins, aux vaccinateurs, aucune amélioration de cette situation ne pouvait être obtenue.

Cependant, à l'occasion des bouffées épidémiques, la vaccination était aussitôt intensifiée dans la région contaminée, les enfants d'âge scolaire, les adolescents et même les adultes se présentaient spontanément à la revaccination, l'épidémie était rapidement jugulée et pratiquement la variole disparaissait pour quelques années de cette région.

En somme, la vaccination antivariolique telle qu'elle était pratiquée en Iran, restait avant tout une arme antiépidémique, toujours rapidement victorieuse, mais ne pouvait en aucune façon prétendre à l'éradication de l'infection.

* * *

Pour désastreuse qu'elle paraisse, cette situation était celle même de tous les pays où la variole persiste à l'état endémique, cette persistance ne pouvant exister qu'à cause d'une immunisation insuffisante de la population. Elle n'était pas, à tout prendre, tellement différente de celle des pays où l'éradication de l'infection a été obtenue depuis longtemps, mais qu'un relâchement (voire un abandon total) de l'immunisation depuis de longues années, rendent actuellement vulnérables à l'introduction du virus, devenue chaque jour plus probable par suite de la rapidité nouvelle des communications et de la constante multiplication des échanges internationaux.

Si le virus n'existe plus dans ces pays, il peut y être importé à tout moment et dans les dernières années de cruelles expériences ont montré que la réceptivité de la population y était largement suffisante pour permettre l'épidémisation de la maladie. Là aussi ce sont surtout les adultes qui ont été atteints; là aussi la vaccination a été utilisée comme arme antiépidémique, appliquée obligatoirement à toute la population de la zone contaminée, réclamée d'ailleurs par elle, et les volontaires ont afflué aux centres de vaccination même en région non directement menacée; là aussi, finie l'alerte, la routine, légale d'ailleurs, a repris son cours et chacun de ces pays risque fort dans quelques années, passé le bénéfice de la vaccination « en masse » du temps d'épidémie, de se retrouver à nouveau vulnérable.

Sans que le danger d'épidémie soit certes aussi grand dans les contrées où l'infection n'existe plus à l'état endémique que dans celles où se maintient le virus, la question de la variole se pose à nouveau pour des pays qui l'avaient oubliée, au point que les médecins n'y savaient plus reconnaître la maladie, quand elle y faisait exceptionnellement incursion. Indiscutablement la vaccination « de routine » ne suffit pas à barrer la route à la variole.

Aussi bien, que peuvent faire ces pays pour assurer leur défense? Faut-il renforcer des mesures quaranténaires de plus en plus illusoires, ou aggraver l'obligation d'une immunisation qui n'aura malgré tout à jouer que dans des cas exceptionnels et qui comporte assez de risques pour que précisément elle ait pu être légalement abandonnée, là par exemple où se produisait un grave pourcentage d'encéphalites vaccinales?

Il semble que la seule défense sûre qui puisse être opposée au retour offensif de la variole doive s'organiser sur le plan mondial et que la lutte doive être entreprise avec de moyens renforcés dans les pays où le climat, les conditions de vie ou de civilisation permettent encore la présence de l'infection.

* * *

En 1954 donc, au moment où se posait le problème de la réorganisation de la lutte contre la variole en Iran, ce problème nous apparaissait d'intérêt non seulement national, mais international.

Comment cette lutte devait-elle être entreprise? La situation que nous venons d'exposer montrait clairement qu'il ne peut être question de venir à bout de la variole par un travail de routine, si bien qu'il

soit fait, si sévères que soient les dispositions légales qui pourraient l'appuyer et que personne d'ailleurs n'est disposé à prendre.

Seul, le système de la « campagne de masse », par des équipes spécialisées réalisant en un temps court la vaccination et revaccination systématiques des sujets de tous âges nous semblait pouvoir donner l'espoir d'obtenir à coup sûr non seulement le « barrage antiépidémique », mais du même coup l'éradication de l'endémie. Ces « campagnes de masse », dans tous les pays et quelle que soit la prophylaxie qu'elles poursuivent, réussissent en effet toujours, à cause des moyens mis en oeuvre, de la propagande faite, de l'effet de curiosité qu'elles produisent, à rassembler la quasi-totalité de la population des agglomérations visitées, sans qu'aucune coercition soit nécessaire.

La solidité et la longue durée de l'immunité vaccinale devaient permettre, après l'effet « d'écrasement » de l'infection par la campagne de masse, d'entretenir ultérieurement cet effet par la visite périodique d'équipes dont le nombre pourrait être réduit puisqu'elles auraient en principe cinq années devant elles pour visiter l'ensemble du pays avant d'avoir à repasser par les mêmes lieux.

Les premiers essais d'application de la vaccination antivariolique en « campagne de masse », c'est à dire en campagne rapide, motorisée, touchant le maximum de villages et dans chaque village, le maximum de population, sans distinction d'âge, étaient entrepris en 1955 par des équipes du Ministère de l'Hygiène et du PHCO (*) dans la province nord-ouest d'Azerbaïdjan, puis dans la province centrale d'Ispahan: le compte rendu de ces opérations et les premiers résultats obtenus ont été publiés par les organisateurs eux-mêmes (1, 2).

* * *

Dès 1954, en prévision de ces essais de campagne de masse, nous avions préparé et mis en réserve une certaine quantité de vaccin sec, destiné à être utilisé par les équipes lorsqu'elles se trouvaient éloignées de leurs bases et empêchées de se ravitailler en vaccin frais ou de conserver et transporter ce vaccin sous réfrigération, spécialement en saison chaude. De cette réserve de vaccin sec, 315.000 doses étaient délivrées pour l'essai de « campagne de masse » en Azerbaïdjan et 305.000 doses pour celui de la province d'Ispahan.

Les résultats épidémiologiques très brillants de ces essais de

(*) Public Health Cooperative Organization: Aide américaine.

vaccination en masse, mis en lumière en particulier par l'immunité de la province d'Ispahan l'année suivante au cours d'une recrudescence très forte de l'endémie dans les provinces limitrophes, incitaient le Comité consultatif de la Lutte antivariolique à recommander pour 1956 l'extension à tout le pays de la « campagne de masse », extension aussitôt acceptée par le Gouvernement et poussée actuellement à fond par le Ministère de l'Hygiène. Les résultats comparatifs obtenus dans les conditions des essais de « campagne de masse » entre vaccin frais et vaccin sec se montrant nettement à l'avantage de ce dernier, le Gouvernement accordait à l'Institut Pasteur une subvention spéciale pour la production massive du vaccin sec nécessaire à l'extension prévue de la campagne et au cours de l'hiver 1955-56, plus de cinq millions de doses étaient produites.

* * *

Les principes qui nous ont guidés dans le choix de nos techniques de production et de conditionnement étaient avant tout d'ordre utilitaire. Le premier était l'amélioration du stade dit de « reconstitution » du vaccin sec: il semblait en effet impossible, étant donné l'éducation moyenne des vaccinateurs, d'admettre la technique ordinairement acceptée, telle qu'elle a été décrite par W. A. Collier (3) pour l'application du vaccin sec la plus large qui ait jamais été faite, celle d'Indonésie: « Au lieu même où le produit sera utilisé et immédiatement avant l'emploi, l'ampoule est ouverte au moyen d'une lime; son contenu est versé dans un petit mortier ou dans un bloc de verre concave. On commence par broyer la poudre avec un pilon ou une grosse baguette de verre, en ajoutant très lentement la glycérine (dont un flacon est délivré avec chaque ampoule) goutte à goutte; après trituration ininterrompue pendant cinq minutes au moins on obtient une suspension homogène et très fine ». W. A. Collier considère que: « Il est évident que le succès de la vaccination dépend, en grande partie, du soin avec lequel la suspension aura été préparée ».

L'expérimentation, sur le lapin puis sur enfants primovaccinés, devait nous montrer que la trituration du vaccin sec dans son excipient pouvait être supprimée, à condition que la poudre soit réduite en « grains » extrêmement fins et que l'excipient soit suffisamment « mouillant », ce qui n'est pas le cas de la glycérine, employée en particulier par les chercheurs de l'Institut Pasteur de Bandoeng.

Pratiquement, le broyage en particules très fines ne peut être

obtenu au mortier, même mécanique, ni au broyeur à boulets ou à billes d'acier, qui obligent à une série de tamisages avec reprises répétées du dessus de tamis, opérations longues et dangereuses à la fois pour le personnel et la conservation du virus. Il est nécessaire de recourir aux broyeurs de laboratoire à moteur électrique à grande vitesse, donnant 12.000 tours-minute minimum au rotor du broyeur: le type de broyeur choisi doit être parfaitement étanche, pouvoir travailler en enceinte fermée (vide ou air sec), être réfrigéré au niveau des disques, couronnes ou rotor et être équipé de tamis calibrés (ouverture des mailles: 0,050 mm maximum) assurant à la sortie de la poudre le degré de finesse désirable: particules de 50 microns maximum. La vérification du calibre des particules est pratiquement inutile si les soies à bluter de tamisage sont en bon état; elle peut être faite avec les appareils spéciaux, comme les balances à décantation (à torsion), utilisées par l'industrie et les laboratoires de contrôle des farines, ciments, etc.

Le vaccin ainsi réduit en poudre fine peut être simplement mélangé à l'excipient dans lequel il restera en suspension, sans qu'il soit nécessaire de recourir à des agitations fréquentes. Cet excipient, comme nous l'avons dit, devra contenir au moins 40% d'eau permettant la réhydratation et le gonflement rapide des particules: pour raison de commodité nous utilisons l'excipient habituel du vaccin antivariolique: eau distillée 2 parties; glycérine neutre, 3 parties, dont la viscosité est convenable pour l'utilisation sur la peau des vaccinés.

La suppression de la trituration nous a permis de conditionner notre vaccin sec de la façon suivante. Le virus en poudre est réparti dans de petits flacons en verre neutre (type pénicilline): un bouchon de caoutchouc perforable (type pénicilline également) dont la face de contact avec le goulot du flacon est enduite d'une « colle » à séchage rapide (type des « dissolutions », « colles au caoutchouc » à froid pour chambres à air et pneumatiques). Le vide est fait dans le flacon par une aiguille très fine piquée au travers du bouchon et reliée à une petite pompe rotative à palettes capable de pousser la dépression au 1/100ème de mm en moins de trois minutes sur deux flacons à la fois. L'écrasement par le vide du bouchon de caoutchouc sur le goulot du flacon réalise un collage hermétique et la qualité du caoutchouc donne lors du retrait de l'aiguille une obturation parfaite, complétée par le dépôt d'une goutte de colle sur la trace du trou de l'aiguille. Les flacons reçoivent ensuite la capsule de métal léger du type ordinaire. Cette fermeture assure le maintien du vide pour une durée supérieure au délai d'utili-

isation. Le liquide de suspension est de son côté présenté dans les mêmes flacons capsulés, stérilisés à l'autoclave.

Les vaccineurs sont munis de « mélangeurs compte-gouttes » formés de deux aiguilles de fort calibre (1,5 mm) de 5 cm de long, à deux extrémités biseautées, accolées l'une à l'autre avec un décalage de 1 cm et montées en leur milieu sur un disque de métal. Ce mélangeur peut être facilement stérilisé par ébullition: tenu par le disque, il est d'abord piqué et enfoncé jusqu'au disque dans le bouchon du flacon d'excipient, puis l'autre extrémité est piquée à son tour jusqu'au disque dans le bouchon du flacon de vaccin sec. Sous l'influence du vide le liquide excipient passe dans le flacon de vaccin et quelques secondes d'agitation suffisent à mettre la poudre en suspension homogène. Le flacon d'excipient est alors retiré et l'extrémité libre d'une des aiguilles va servir de compte-gouttes pendant que l'autre en retrait agira comme prise d'air: le flacon fournira ainsi des gouttes parfaitement égales et la perfection de la suspension sera assurée par les gestes mêmes du vaccineur posant et reprenant le flacon au cours de l'utilisation.

Ce sont également des considérations d'ordre pratique qui nous ont amenés à apporter certaines modifications aux techniques classiques de dessiccation de la pulpe vaccinale. S'il est légitime de produire un virus sec résistant même à des températures élevées pendant un temps prolongé, il ne paraît pas indispensable pour l'application en « campagne de masse », motorisée, rapide et bien organisée, de rechercher la résistance à des températures de l'ordre de 55°C longuement prolongées, ni d'atteindre des durées de conservation de l'ordre d'une ou même plusieurs années. On peut considérer que des tests de résistance à l'étuve à 37°C (que possèdent tous les laboratoires), prolongés pendant deux mois, assurent des possibilités d'utilisation très largement suffisantes.

En fait, la résistance du virus sec, étudiée dans ces conditions, est liée à la rapidité de dessiccation et à elle seule: c'est à dire à la réduction au minimum du temps écoulé entre le prélèvement de la pulpe sur la gémisse et le moment où le virus peut être considéré comme soustrait à tout échange symbiotique ou plus exactement parasitaire. Il apparaît que le facteur capital est « d'isoler » le virus de la cellule avant la mort de celle-ci, que rendent très rapide les techniques de prélèvement et de broyage généralement employées. Pratiquement,

de la peau de lapin. Beaucoup plus fidèle en tous cas avec le vaccin sec finement pulvérisé comme nous le préparons qu'avec le vaccin frais, toujours assez grossièrement broyé et avec lequel, aux taux élevés de dilution, les causes d'erreur dues à la présence de débris cellulaires de grande taille sont importantes (*). Avec le vaccin sec à grains très petits et calibrés, les dilutions à taux élevé où les particules peuvent être comptées au microscope montrent un rapport mathématique d'une exactitude relative très grande entre les dilutions échelonnées. Ainsi les titrages peuvent ils être exprimés en poids de poudre et non en volume d'excipient. La question évidemment la plus importante pour ce titrage sur la peau, assez curieusement omise par tous les manuels, est celle de la proportion de virus par rapport à la surface de peau inoculée. Pour notre part, nous traçons pour chaque dilution, sur la peau épilée du lapin, sept traits de scarification parallèles de 5 cm de longueur, très légers, distants l'un de l'autre de 2 mm; sur toute la surface scarifiée sont étendues 3 gouttes de la dilution à étudier. Chaque lapin porte quatre dilutions sur chaque flanc et chaque essai comprendra au moins quatre lapins inoculés le même jour avec les mêmes taux de dilution préparés séparément à partir de la poudre du même lot; le titrage d'un lot, pour être terminé, devra comprendre au moins trois essais, soit au total douze lapins représentant vingt quatre titrages différents.

Ce nombre élevé de titrages sur le lapin nous apparait comme indispensable pour diminuer les causes d'erreur: la répétition de la préparation de dilutions identiques fait tomber celles dues à une inégalité dans la répartition des particules virulentes, le nombre élevé des lapins permet de faire une moyenne entre des réactions souvent différentes selon les animaux.

Les essais comparés sur lapins, enfants primo-vaccinés et adultes non vaccinés ou ayant perdu leur immunité nous ont montré que la quantité de virus ayant donné *en moyenne chez douze lapins*, sur les 6 cm² de peau où elle a été répartie, plus de cinq pustules isolées et moins de cinquante, correspond au dix millième de la dose à utiliser pour la vaccination humaine.

Voici, pour exemple, le protocole d'un essai sur quatre lapins. Vingt cinq milligrammes de poudre sont mis en suspension dans 1 ml d'excipient. Après agitation pendant une minute 1 ml de cette suspen-

(*) Le «pock counting» ou titrage sur l'œuf, technique difficilement utilisable pour la pratique courante, ne nous a pas donné de résultats justifiant les frais et les complications techniques qu'elle entraîne.

sion est dilué dans 9 ml d'excipient: émulsion A = 2,5 mg par ml. De la même manière sont préparées: à partir de l'émulsion A, l'émulsion B = 0,25 mgr par ml et à partir de l'émulsion B, l'émulsion C = 0,025 mg par ml. Puis 5 ml de l'émulsion C sont dilués dans 5 ml d'excipient: émulsion D = 0,0125 mg par ml; enfin 1 ml de l'émulsion C est dilué dans 9 ml d'excipient: émulsion E = 0,0025 mg par ml.

Avec des pipettes calibrées donnant de 34 à 36 gouttes au ml d'émulsion (moyenne = 35 gouttes) on répartit 3 gouttes de chacune des émulsions B, C, D, E sur les quatre plages scarifiées de chacun des deux flancs de quatre lapins adultes blancs, qui reçoivent ainsi: plage B = 0,020 mg environ, plage C = 0,0020 mg environ, plage D = 0,0010 mg environ, plage E = 0,00020 mg environ.

Lecture des réactions:

Lapin 1	Flanc droit:	B, C, D = confluence	E = 3 pustules isolées
	Flanc gauche	B, C, D = confluence	E = 3 pustules isolées
Lapin 2	Flanc droit:	B, C, D = confluence	E = 5 pustules isolées
	Flanc gauche	B, C, D = confluence	E = 2 pustules isolées
Lapin 3	Flanc droit:	B, C, D = confluence	E = 100 pustules (semiconfluence)
	Flanc gauche	B, C, D = confluence	E = 100 pustules (semiconfluence)
Lapin 4	Flanc droit:	B, C, D = confluence	E = 6 pustules isolées
	Flanc gauche	B, C, D = confluence	E = 100 pustules (semiconfluence)

Résultat: la dilution E donnant en moyenne plus de cinq et moins de cinquante pustules, représentant 0,00007 mg par goutte environ, la dose humaine dix mille fois plus forte devra être 0,7 mg par goutte, sous réserve que les autres essais sur huit lapins donnent des résultats identiques.

Ce mode de titrage nous a permis de mettre en évidence deux faits:

1) La dessiccation ultra rapide telle que nous la pratiquons, n'entraîne aucune perte de virulence. En effet, la dose de virus sec pour l'homme oscille selon les lots entre 0,5 et 0,7 mg: avec une perte à la dessiccation de 80% d'eau, cette quantité représente 2,5 à 3,5 mmgrs de pulpe brute fraîche, chiffres qui sont très exactement ceux de nos préparations de vaccin frais, évalués sur de nombreux lots d'années différentes.

2) La réaction du lapin aux taux élevés de dilution où les particules de poudre en suspension sont très peu nombreuses, montre que

pratiquement chaque particule peut donner une pustule, si le virus qu'elle contient trouve un point de pénétration. La numération des particules au microscope, si grossière qu'elle soit, montre que dans une dilution comme la dilution E de l'essai ci-dessus, le nombre des particules oscille entre 5 et 20 par goutte, correspondant approximativement au nombre des pustules obtenues.

Les contrôles d'innocuité sont du type habituel: inoculation de quantités importantes (100 mg) sous la peau et dans le muscle du cobaye pour détecter la présence possible de germes pathogènes, ensemencement sur plaques de gélose et comptage des colonies aérobies, ensemencement en gélose profonde et comptage des colonies anaérobies. Ces contrôles répétés ont mis en évidence l'extrême pauvreté en germes des différents lots de vaccin sec que nous avons préparés. Cette quasi-stérilité microbienne semble être l'un des avantages importants de la méthode de dessiccation ultra-rapide et de pulvérisation fine (*): en effet l'expérimentation montre qu'elle n'est pas atteinte avec la dessiccation lente et la pulvérisation grossière au mortier. De même la lyophilisation a le grave défaut d'assurer la survie de la quasi-totalité des germes contenus dans la pulpe.

Le conditionnement par cent doses a également été décidé pour des raisons pratiques. Les pesées de la poudre (50 à 70 mg par flacon) sont aisées et la quantité de liquide dans le flacon d'excipient (3 cc donnant 100 gouttes au « mélangeur compte-gouttes » des vaccinateurs) facile à mesurer. D'autre part, il est rare qu'en campagne de masse un vaccinateur ait à inoculer moins de cent personnes au même lieu et ainsi la perte de vaccin non utilisé pour chaque flacon est minime. En effet, nous avons, par mesure de prudence, interdit le transport d'un flacon de vaccin préparé d'un village à un autre: la vaccination d'un village ne durant que quatre heures au maximum, nous sommes ainsi assurés que le vaccin préparé sera très rapidement utilisé.

* * *

C'est en effet cette question de la fragilité du vaccin sec, après « reconstitution » dans l'excipient, qui nous est apparue la plus importante de toutes. En fait, la destruction du virus, extrêmement lente

(*) Ce même phénomène avait déjà été observé par l'un de nous avec la poudre fine de déjections de puces utilisée pour la préparation d'un vaccin sec contre le typhus à l'Institut Pasteur du Maroc. Ce matériel virulent, récolté sur les poils du rat, très contaminé par conséquent, pouvait après conservation sous dessiccation être impunément inoculé en quantités massives dans le péritoine du cobaye.

à l'état sec, est très rapide après réhydratation, comme c'est le cas d'ailleurs pour tous les virus desséchés. Avec un excipient aqueux comme celui que nous utilisons, le délai de quarante huit heures à la température ambiante admis par W. A. Collier (3, 4) pour le vaccin repris en glycérine se montre expérimentalement désastreux, même sur le lapin, pourtant très sensible. Quelles que soient les recommandations faites aux vaccinateurs, l'entrée en pratique d'un vaccin réputé de haute résistance, reçu par la poste sans aucune des précautions draconiennes qui régissaient l'envoi du vaccin frais, amène toujours un relâchement des disciplines: il est difficile de faire comprendre qu'un vaccin qui n'a même plus à être conservé en glacière, doive une fois « préparé » être considéré comme d'une extrême fragilité.

En fait, c'est indiscutablement là que se trouve la faiblesse des vaccins secs et non dans la possibilité d'une chute de virulence et d'une destruction à l'état sec qu'expérimentalement, à l'inverse de L. H. Collier (5), nous n'avons jamais observée dans le délai d'utilisation de deux mois à partir de la sortie de glacière que nous nous sommes impartis. Aussi avons nous récemment orienté nos recherches vers la suppression du stade de « reconstitution ». L'expérimentation sur le lapin, puis sur l'enfant primovacciné, nous a montré que l'application directe de la poudre sèche sur les scarifications cutanées donnait des résultats nettement plus favorables que celle des mêmes quantités de virus « reconstitué ». Le difficile problème restait celui de la manipulation de très petites quantités (0,5 à 0,7 mg) d'une poudre extrêmement fine et légère.

Dans un premier stade de ces recherches nous avons tenté d'utiliser comme excipient des huiles parfaitement déshydratées et neutres, siccatives (huile de ricin déshydratée) ou non (huile de vaseline). Dans un deuxième stade nous avons tenté la conservation prolongée de la poudre virulente dans des excipients inertes, n'ayant aucune action physique ou chimique sur le virus sec, dans le but de délivrer un vaccin préparé d'avance sous forme liquide (en flacons) ou pâteuse (en tubes): nous nous sommes adressés aux « hauts polymères synthétiques » (acétate de cellulose secondaire, résines glyptal, chlorure de polyvinyle) dont il existe des préparations liquides ou pâteuses, faisant prise en « vernis » rapidement à l'air. Les résultats obtenus se montraient très favorables au point de vue conservation, le virus restant inaltéré dans ces résines, mais l'utilisation restait difficile à cause de la prise en « vernis » emprisonnant les particules de virus et les empêchant d'entrer en contact avec les scarifications cutanées.

Au stade actuel de nos recherches nous sommes arrivés au résultat désiré en utilisant la bande collante cellulosique (adhesive cellulose tape) du commerce. Sur la face adhésive de la bande lentement déroulée sont réparties en « plages » de 5 mm² espacées de 3 cm les petites quantités de poudre sèche correspondant à une dose humaine; la bande est renroulée au fur et à mesure sous très forte tension de façon que chaque tour colle parfaitement au précédent mettant ainsi le virus à l'abri de l'air et de l'humidité. Les rouleaux de bande cellulosique utilisés ont 65 m de long sur 2 cm de large et peuvent porter environ deux mille doses: ces rouleaux sont conservés dans leur boîte métallique étanche, sur le côté de laquelle est pratiquée une fente très mince par laquelle dépasse l'extrémité de la bande, collée à l'extérieur de la boîte sur la face inclinée d'un « couteau » dentelé, placé à 1 cm de la fente. Une boîte similaire, remise en même temps au vaccinateur, délivre une bande étroite de papier de verre mince à très gros grain.

Une abrasion de 10 mm² au maximum est pratiquée sur la peau par un seul frottement sous forte pression du pouce d'un petit morceau de la bande de papier de verre, qui est ensuite jeté. L'extrémité de la bande plastique collée sur le couteau est tirée et un « timbre » de 3 cm portant en son centre la plage de virus sec est coupé sur le couteau, où reste collé, apparaissant seul à l'extérieur de la fente, le premier centimètre du timbre suivant, dont la plage virulente reste ainsi à l'intérieur de la boîte, la fente étant pratiquement obturée par la bande elle-même.

Le « timbre » est collé sur l'abrasion et laissé en place en principe 24 heures: il est peu important qu'il y reste moins longtemps, la pénétration du virus étant réalisée en moins d'une heure; d'autre part après 24 heures, l'humidité de la peau sous le timbre amène son décollage spontané. C'est la légère sérosité suintant des abrasions qui opère la « reconstitution » in loco du virus sec; les résultats sont remarquables, donnant le pourcentage de « prises » le plus élevé que nous ayons noté jusqu'à présent avec le vaccin sec; la conservation du virus à l'intérieur du rouleau de bande plastique dépasse déjà le délai minimum de deux mois sans aucune altération.

Les essais statistiques sont à l'heure actuelle terminés et après la mise au point des appareils délicats qui doivent être construits pour permettre la répartition automatique de très petites quantités de poudre exactement mesurées sur la bande plastique, l'application en masse du vaccin sec sur timbre cellulosique pourra commencer.

Resumé

L'éradication de la variole en pays de forte endémie ne peut être obtenue par une vaccination de routine, si bien qu'elle soit appliquée. Seul, le système de la « campagne de masse », pratiquant la vaccination et surtout la revaccination systématique des sujets de tous âges, peut permettre d'espérer obtenir cette éradication, d'intérêt international.

Pour une telle campagne, l'utilisation d'un vaccin sec, résistant à la chaleur, facilement transportable et conservable, est nécessaire. L'Institut Pasteur de l'Iran s'est efforcé de supprimer les inconvénients inhérents à ce type de vaccin, en particulier ceux tenant à la « reconstitution » du vaccin sur le lieu d'application. Les dernières recherches montrent la possibilité d'utilisation d'un « timbre cellulosique » qui paraît supprimer tous les inconvénients.

BIBLIOGRAPHIE

1. FREDERIKSEN H. et MOTAMENI F.: *Pub. Health Rep.*, 1956, 71.
2. FREDERIKSEN H. et SHEEHY J.: *Pub. Health Rep.*, 1956, 71.
3. COLLIER W. A.: *Bull. Org. mond. Santé*, 1952, 5, 127.
4. COLLIER W. A.: *Med. Maandbl.*, 1949, 2, 38.
5. COLLIER L. H.: *J. Hyg.*, 1955, 53, 76.