

VACCINS ANTIVARIOLIQUES SECS

PRÉPARATION DU VACCIN D'OTTEN À L'INSTITUT PASTEUR DE BANDOENG, INDONÉSIE*

DR. W. A. COLLIER

*Chef du Laboratoire de Bactériologie du Gouvernement, Paramaribo, Surinam
Ancien Chef du Service de la Variole à l'Institut Pasteur de Bandoeng, Indonésie*

Les expériences faites pendant la guerre et l'augmentation des cas de variole au cours de ces dernières années ont rappelé l'attention des hygiénistes sur l'importance que revêt un vaccin antivariolique dont les propriétés sont indépendantes de la température et qui peut être expédié dans toutes les régions du globe sans perdre de son efficacité.

Seul un bon vaccin sec satisfait à de telles conditions. Pour qu'il soit possible d'en entreprendre la fabrication, il ne suffit pas, bien entendu, que le procédé soit simple; il faut aussi, lorsqu'il s'agit d'une production en grand, que le prix de revient soit modique. Le vaccin sec d'Otten^{40, 41, 42, 43} répond à toutes ces exigences; en Indonésie, son emploi s'est généralisé dans la pratique courante durant ces vingt dernières années, et les résultats ont été remarquables. Pendant la seule année 1949, plus de 26 millions de doses ont été fournies.

Dans les pages qui suivent, nous passerons rapidement en revue diverses méthodes de dessiccation, anciennes et récentes,²⁹ puis nous décrirons en détail, la méthode d'Otten, telle qu'elle est appliquée à l'Institut Pasteur de Bandoeng (Indonésie).

1. APERÇU HISTORIQUE

Dans l'ancienne Chine déjà, on procédait à la variolisation en soufflant dans le nez des croûtes varioliques desséchées et pulvérisées. Dans d'autres pays également, on employa plus tard, pour la vaccination, des croûtes desséchées ou la lymphé des pustules séchée sur de l'étoffe, du verre, du métal, de l'ivoire ou du bois. Jenner lui-même procéda de cette manière lorsqu'il envoya à Ferro,²⁰ à titre d'exemple, du vaccin desséché sur des fils, au moyen duquel son correspondant vaccina ses propres enfants. Le médecin vaccinateur de Carro,¹⁵ à Vienne, reçut, lui aussi, sous la même forme, du vaccin provenant d'Angleterre.

En 1836, en Autriche, un décret de la Chancellerie impériale prescrivit de dessécher le vaccin sur des vaccinostyles d'ivoire. Ces instruments étaient conservés dans des étuis de bois pourvus de bouchons vissés. Conservé selon ce procédé, le vaccin aurait donné des résultats positifs après quatre à six mois encore, voire après un laps de temps plus prolongé. Seaton⁵⁷ a fait l'éloge du vaccin desséché, auquel il n'attribue toutefois qu'une durée de conservation optimum d'une à deux semaines. Cet auteur signale néanmoins que ce vaccin a encore donné des résultats

* D'après le *Bull. Org. mond. Santé*, Vol. 5, No. 2, 1952, p. 127.

positifs après trois à neuf mois de conservation. Des préparations de croûtes desséchées ont également été utilisées avec succès.

De la lymphe desséchée entre des plaques de verre a été, elle aussi, maintes fois utilisée; il y a lieu cependant d'observer qu'il ne s'agissait pas toujours d'une dessiccation complète, car il ressort de nombreux rapports que le produit employé était encore à l'état humide. Une indication donnée par Mueller³⁸ présente un intérêt particulier: il administra, avec d'excellents résultats, de la lymphe desséchée et conservée sous cette forme pendant dix ans. De son côté, Bollinger⁶ estima, d'après les expériences faites par les instituts de vaccinothérapie d'Utrecht et de Hambourg, que de tels vaccins pouvaient se conserver pendant des mois et même des années.

Le vaccin de Reissner⁴⁶ suscita un grand intérêt: l'auteur desséchait, à l'exsiccateur, de la lymphe vaccinale de génisse et la broyait au mortier en une poudre fine qui était ensuite conservée dans des boîtes ou des tubes de petites dimensions. Plus tard seulement, le produit fut additionné d'une poudre inerte. Ce vaccin aurait conservé ses propriétés pendant sept mois. D'après Pfeiffer,⁴⁵ il suffisait de 1 cm³ de poudre pour pratiquer 500 vaccinations. En 1882 et 1883, le vaccin de Reissner fut utilisé avec d'excellents résultats pour toutes les vaccinations effectuées dans le Grand-Duché de Hesse. En outre, Bauer,⁴ Schulz,⁵⁵ Schulz & Weyl,⁵⁶ et en Afrique orientale Schoen,⁵⁴ signalèrent que ce produit donnait de bons résultats. Ces succès furent peut-être à l'origine de l'ordonnance du Ministère autrichien de l'Intérieur, du 3 juin 1893, qui prescrivit l'un des deux procédés suivants pour la conservation du vaccin: *a*) dessiccation rapide à l'exsiccateur, sous forme de poudre fine, ou *b*) broyage avec de la glycérine.²⁶ En Angleterre, Blaxall⁶ desséchait la pulpe à l'exsiccateur, sur l'acide sulfurique, et utilisait encore ce produit avec succès cinq mois après sa préparation.

Carini¹⁴ conservait le vaccin sec, sous forme de poudre, dans des tubes de verre scellés afin de les soustraire à l'action de l'oxygène et de l'humidité. Après 30 à 37 jours de conservation à une température de 37° C, cette préparation, inoculée à la génisse, donnait encore des résultats positifs, alors que la lymphe glycéinée avait déjà perdu son activité au bout de 20 jours. A vrai dire, la poudre desséchée était souvent devenue avirulente après dix jours déjà.

Les expériences de Carini furent reprises plus tard, à Berne, par Tomarkin & Serebrenikoff.⁵⁹ La lymphe desséchée qu'ils avaient préparée se révéla encore active après trois mois, alors que des lymphes provenant de la même pulpe, traitées à la glycérine, à la lanoline ou à la vaseline, étaient, après 14 à 18 jours, soit entièrement inactives, soit considérablement atténuées. Cependant, les résultats demeuraient encore fort inconstants, et ceux que Léger³⁹ obtint avec ce produit ne furent pas satisfaisants.

Achalme & Phisalix² desséchaient la pulpe très rapidement sur l'acide sulfurique et la conservaient en partie dans le vide et en partie sans élimination de l'air. La pulvérisation se révéla moins favorable que la conservation sous forme de petits fragments. Après une année, leur produit, conservé à une température de 37,5 à 38° C, se montrait encore actif sur la génisse. Une température de 41 à 42° C n'exerçait aucune influence sur l'activité du produit, une température de 45° C l'affaiblissait très légèrement et une température de 57° C un peu plus. Achalme¹ se déclara fort satisfait de ce vaccin sec. Au cours de ses recherches en Afrique-Orientale britannique, Ross⁵⁰ vaccina 109 prisonniers et obtint un résultat positif chez 98 d'entre eux. Il se déclara, d'une manière générale, très satisfait du produit desséché. Il constata, à Nairobi, 18 réactions positives sur 25 vaccinations effectuées avec un vaccin conservé pendant 14 mois, alors que dans une expérience parallèle, il n'observait que 12 réactions positives sur 21 sujets inoculés avec le vaccin sec anglais. Lors des expériences qu'il effectua ultérieurement à Fort Hale, Ross⁵¹ utilisa du vaccin sec conservé à Nairobi pendant un à trois ans. Un vaccin âgé d'une année donna 17 résultats positifs sur 21 vaccinations (81%), un vaccin âgé de deux ans 14 résultats positifs sur 17 vaccinations (82%), et un vaccin âgé de trois ans, 14 résultats positifs sur 20 vaccinations (70%). Martin³⁵ réussit 85,8% des vaccinations avec du vaccin sec d'Achalme & Phisalix conservé pendant quatre mois au Cameroun, où l'on observa des températures allant jusqu'à 50° C. Sans doute, en regard de ces bons résultats, faut-il en inscrire de moins favorables. C'est ainsi que Léger³² fut moins heureux en Indochine où, sur 32 prisonniers vaccinés, il n'enregistra que quatre réactions positives. De même, Gauducheau²³ ne constata aucune réaction chez 45 des 50 enfants qui avaient été vaccinés. Deux des enfants seulement présentèrent une réaction primaire et trois une vaccine généralisée. Sur la base de ces observations, cet auteur met nettement en garde contre l'emploi du vaccin sec.

Le vaccin sec de l'Académie de Médecine de Paris, préparé par Camus,¹² suscita beaucoup d'intérêt; il était obtenu par mélange d'une partie de pulpe et de trois parties de solution de gomme arabique à 10%, ce mélange étant ensuite soumis à dessiccation. Les résultats furent favorables. Joyeux²⁵ utilisa ce vaccin en Guinée Française, pour la vaccination de génisses. Ultérieurement, Camus augmenta la proportion de gomme arabique: en outre, il souligna que la dessiccation était très rapide et que le produit devait être conservé dans le vide. D'autre part, on substitua à la gomme arabique la gomme du Sénégal, qui, d'après Bourquelot,⁹ permettait d'obtenir des suspensions plus stables. Selon Voigt,⁶⁰ il a été possible d'obtenir en Afrique, avec un vaccin sec préparé suivant les prescriptions de Camus et conservé pendant cinq mois, "un résultat individuel de 85% et un résultat moyen de

56%". Quelques années plus tard, Wurtz⁶¹ proposa une modification mise au point avec Camus et qui comportait la congélation de la pulpe avant dessiccation. Ce produit se conservait plusieurs semaines à 37° C; il était toutefois recommandé, par mesure de prudence, d'utiliser une armoire frigorifique pour le transport sous les tropiques. On peut ajouter que Camus¹³ a décrit en détail un appareil conçu pour la manipulation du vaccin sec dans le vide.

Sous les tropiques, le vaccin sec donne parfois des résultats remarquables. Il est utilisé dans de nombreuses colonies françaises—par exemple par Boyé^{10, 11} en Afrique-Equatoriale Française et par Lasnet³¹ en Afrique-Occidentale Française—, et l'Institut de vaccinotherapie de l'Etat, à Hambourg, l'a expédié durant des années dans les colonies allemandes.

Si les expériences de dessiccation de Manteufel³⁴ donnèrent des résultats moins favorables, son vaccin sec fut cependant nettement supérieur aux vaccins glycélinés. Avec un vaccin conservé pendant six mois, il obtint 60% de résultats positifs sur 20 vaccinations. Degive¹⁸ opérait la dessiccation au moyen d'un courant d'air et ne conservait pas le produit dans le vide. Avec un tel vaccin âgé de cinq mois et qui avait été conservé pendant quatre mois au Congo Belge, Ringenbach⁴⁷ obtint 32% de résultats positifs sur 480 vaccinations. Kersten³⁰ expérimenta en Nouvelle-Guinée le vaccin sec de Pondorf: cette préparation, qui était encore virulente après quatre mois, ne l'était plus après six mois. Une autre expérience ne donna, en revanche, que 60% de résultats positifs après deux mois et demi de conservation. Selon Gaide & Bodet,²² du vaccin sec destiné à trente ou quarante mille personnes est préparé chaque année en Indochine, pour le Cambodge et le Laos; en outre, le Laos reçoit encore du vaccin sec expédié directement de France.

L'utilisation de vaccin sec aux Philippines, en 1905-1906, n'a donné que des résultats fort médiocres.³³ En 1913, Ruediger⁵² reprit ces expériences dans ce pays; la préparation qu'il utilisa donna des résultats positifs dans 58,33% des primo-vaccinations. En 1914, le vaccin sec de Mulford fut utilisé, apparemment avec succès, mais son emploi se révéla trop coûteux. Puis Schöbl⁵³ prépara, aux Philippines, un vaccin sec qu'il conservait dans l'exsiccateur et qui, dans des expériences sur les singes, se révéla encore utilisable après quatre mois. Au moyen de cette préparation, del Rosario & Lopez Rizal⁴⁹ obtinrent 66% de réussites lors de primo-vaccinations. Cependant, les frais de préparation du vaccin sec aux Philippines étaient très élevés et représentaient environ le quadruple du prix de fabrication de la lympe glycélinée.

Peu après, Otten^{40, 41, 42, 43} mettait au point, en Indonésie, le vaccin sec dont nous parlons en détail plus loin. Mentionnons simplement que la lympe de deux jours desséchée par la méthode de Paschen a donné encore des résultats positifs après neuf ans.²⁹

Ces dernières années, à la suite surtout des travaux fondamentaux de Flosdorf & Mudd,² on a eu recours de plus en plus à la méthode par congélation et dessiccation pour la conservation des cultures de bactéries, des virus, des produits biologiques et des substances analogues. Cependant, on sait relativement peu de choses sur l'application de ce procédé à la préparation du vaccin antivariolique. Rivers & Ward⁴⁸ ont appliqué à la dessiccation de leur lymphé de culture le procédé de Flosdorf et Mudd, sous une forme modifiée, en utilisant de la gomme d'acacia. Gallardo a préparé d'une manière analogue son vaccin à l'Institut national d'Hygiène, de Madrid; d'après les vérifications effectuées par Kaiser,²⁶ des échantillons vieux de plusieurs mois ont donné des résultats remarquables, mais le vaccin avait perdu sa virulence après une année. Ce vaccin était destiné à la vaccination par voie sous-cutanée.

A partir de 1927, l'Institut fédéral autrichien pour la Production de Vaccins a préparé un vaccin sec d'un haut degré de pureté; il s'est efforcé d'en répandre l'emploi par l'intermédiaire de la Société autrichienne de Sérologie. Comme il ressort d'une étude de Kaiser,²⁷ il semble que cette préparation ait perdu peu à peu de sa virulence, et cet auteur élaborait une méthode permettant de préparer des vaccins secs complètement stériles par traitement au Zéphirool;^a il s'agissait essentiellement d'un perfectionnement de la méthode de Flosdorf et Mudd. Ultérieurement, Kaiser²⁸ fit savoir que ses vaccins avaient conservé toutes leurs propriétés après 15 et 18 mois. Quelques années plus tard, Kaiser²⁹ a donné une nouvelle description complète de cette méthode. Megay & Rotter³⁶ ont préparé un vaccin sec purifié au moyen de tyrothricine.

2. LE VACCIN SEC D'OTTEN ET SA PRÉPARATION

2.1 Qualités du vaccin

Le vaccin sec d'Otten ne représente, en principe, rien de nouveau. Le grand mérite d'Otten est d'avoir procédé pendant des années à l'étude minutieuse de chacun des éléments qui présentent de l'importance pour la fabrication du vaccin, de sorte que nous sommes aujourd'hui en mesure de préparer des vaccins secs en quantités pratiquement illimitées et d'une manière extrêmement économique. Il est devenu de plus en plus manifeste que le vaccin sec préparé suivant le procédé d'Otten est le seul qui permette d'immuniser systématiquement l'ensemble de la population d'un pays tropical, jusque dans les districts les plus reculés, malgré des conditions de transport et de climat singulièrement défavorables. L'efficacité du vaccin d'Otten persiste non seulement des mois, mais des années durant. Ce vaccin peut donc non seulement être envoyé partout, mais encore être préparé en quantités importantes,

^a Nom déposé du chlorure de benzalkonium, préparation antiseptique composée d'un mélange de chlorures de lauryl-, cétyl- (et autres alkyles supérieurs) benzyl-diméthylammonium.

dont il est loisible de constituer des réserves. En cas de nécessité, il est possible de stocker le vaccin pendant plusieurs années, dans n'importe quelle région et à n'importe quelle température.

Morosov, Korolkova, Kasatkevitch & Dolinov³⁷ ont, eux aussi, prôné les mérites du vaccin sec d'Otten, qu'ils préparent sous une forme modifiée et dont la virulence est demeurée intacte après un an et demi. Toutefois, ces auteurs trouvent la méthode d'Otten trop compliquée.

En réponse à cette critique, nous tenons à affirmer que la préparation du vaccin sec d'Otten, exécutée par un personnel qualifié, est extrêmement simple, qu'elle ne comporte aucune difficulté quant à son application générale dans les pays tropicaux encore peu développés — nous pensons avant tout à l'Afrique. Les pays dont les grandes villes sont dotées d'excellents instituts vaccinothérapeutiques, mais dont les districts éloignés ne peuvent que difficilement recevoir des vaccins, offrent un vaste champ pour l'utilisation des vaccins d'Otten. L'emploi de ces vaccins secs peut présenter également de grands avantages dans les pays non tropicaux, du fait qu'il n'est pas nécessaire — comme c'est le cas pour les vaccins glycérolisés — de remplacer constamment les lots de vaccins devenus inefficaces par de nouvelles préparations. Point n'est besoin d'insister particulièrement sur l'importance que peut présenter le fait de disposer immédiatement du vaccin nécessaire, lorsque la population entière doit être vaccinée, en cas d'épidémie soudaine ou de guerre.

Il resterait à décrire les nombreux détails des travaux d'Otten.^{41, 42, 43} Nous consacrerons plutôt les pages suivantes à un bref exposé de la technique adoptée actuellement à l'Institut Pasteur de Bandoeng pour la préparation en grand du vaccin sec d'Otten, grâce auquel il a été possible de combattre sans aucune aide extérieure la grave épidémie de variole qui s'est déclarée en Indonésie à la fin de 1948.

2.2 Technique de préparation du vaccin

2.2.1 La souche vaccinale et son entretien

La souche variolo-vaccinale qui est utilisée à Bandoeng pour la préparation du vaccin fut à l'origine (au siècle dernier encore) adaptée de l'homme au bœuf et au buffle. On est fondé à dire que cette souche présente une haute virulence, car la pulpe fraîchement récoltée peut donner une réaction nettement positive par injection intradermique au lapin, à une dilution allant jusqu'à 1/1.000.000.

Avant la guerre, la souche fut régulièrement cultivée suivant le cycle: buffle-lapin-génisse européenne-buffle; cette succession fut encore maintenue au début de l'après-guerre. Cependant, l'épidémie de variole exigea l'emploi, en Indonésie, de quantités toujours plus importantes de vaccin; on se vit alors obligé de renoncer à ce cycle de culture, car il était impossible, à cette époque, de se procurer des génisses de races européennes en nombre suffisant. D'autre part, la quantité de pulpe vac-

cinale que fournissaient, à Java, les génisses de race indienne, se révéla si peu satisfaisante que l'on ne réussit pas à préparer, de cette manière, la quantité de pulpe brute nécessaire à la vaccination d'un aussi grand nombre de buffles.

On fut donc amené à renoncer, tout d'abord à titre d'essai, à la séquence habituelle des animaux de culture. La pulpe brute recueillie sur le buffle fut broyée immédiatement après raclage et conservée sous cet état, à la température de -17°C . Cette pulpe, après avoir été mise en suspension dans de la glycérine diluée, fut utilisée pour l'inoculation de nouveaux buffles. Par la suite, plusieurs séries de passages furent pratiqués exclusivement sur le buffle; on exécuta notamment plus de 35 passages consécutifs.

Le résultat fut remarquable. On n'observa jamais la moindre diminution de la quantité de pulpe vaccinale produite, ni d'atténuation de la virulence. Cette constatation est en contradiction complète avec les expériences précédemment faites par de nombreux instituts de vaccinothérapie, qui avaient observé un abaissement rapide de la qualité de la substance vaccinale brute quand on ne pratiquait pas régulièrement des passages alternés sur différentes espèces animales. La cause de ce phénomène reste à déterminer. Est-il dû au fait qu'à Bandoeng la pulpe est toujours récoltée après 72 heures,—c'est-à-dire très tôt—ou qu'elle est constamment conservée à la température très basse de -17°C , ou encore à l'utilisation constante du buffle pour la production du vaccin? Peut-être ces trois facteurs interviennent-ils concurremment. De toute façon, il est intéressant, au point de vue théorique, de noter que la diminution de virulence du virus vaccinal à la suite de passages répétés sur la même espèce animale, signalée par de nombreux auteurs, ne s'observe pas dans tous les cas.

2.2.2 Inoculation du buffle

Pour la production du vaccin, on utilise exclusivement le buffle (Karabau ou "Karbouw"). Il est indéniable que cette espèce se prête mieux que le bœuf à la production de vaccin. La peau du buffle est bien plus mince et plus sensible au virus vaccinal que celle de tout autre animal. Il s'ensuit que, de toute manière, la substance vaccinale est notablement plus abondante que dans le cas d'autres espèces. En règle générale, un buffle donne de 400 à 600 g de pulpe brute, parfois même davantage. On peut admettre, approximativement, qu'un seul buffle fournit la même quantité de pulpe brute que 8 à 12 génisses. Un autre avantage tient enfin à ce qu'un buffle est beaucoup plus facile à manier qu'un bœuf du même poids.

En principe, on utilise des animaux n'ayant pas atteint tout à fait l'âge adulte. Il est bon de laisser quelques jours en quarantaine les animaux provenant de l'extérieur, afin d'éviter des pertes dues aux pasteurelloses.

Avant l'inoculation, les animaux sont tout d'abord liés sur une table basculante transportable, puis ils sont soigneusement nettoyés dans un premier local. Après un savonnage abondant, on rase la surface à inoculer, à savoir le ventre tout entier et le flanc libre de l'animal jusqu'à l'échine. Cette opération effectuée, la surface à inoculer est, une fois encore, bien savonnée, lavée avec une solution de lysol, puis rincée plusieurs fois de suite à l'eau stérilisée, afin d'enlever les traces de lysol; après quoi, elle est séchée avec des linges stériles.

On applique alors sur la peau, en plusieurs fois, au moyen d'une spatule, la pulpe diluée dans la proportion de 1/3 à 1/10 avec une solution de glycérine à 50%. La partie de la peau ainsi humidifiée est ensuite scarifiée avec un vaccinostyle ou avec un "inoculateur japonais." On a observé que la scarification en grille ne présentait aucun inconvénient. La scarification effectuée, on frictionne encore convenablement la peau avec la spatule pour y faire pénétrer la substance vaccinale. Il est à peine besoin de mentionner que les incisions doivent être tout à fait superficielles et qu'il faut absolument éviter le moindre saignement. Cependant, si des gouttelettes de sang apparaissent ici ou là, on frotera de nouveau ces emplacements avec un peu de substance glycinée fraîche un moment après la fin du saignement.

Toute la surface rasée ayant été inoculée, on fixe sur le ventre et le dos de l'animal un linge blanc stérile, afin de préserver autant que possible la peau de toute souillure et du contact des mouches. Si le linge vient à être souillé, il est remplacé.

On détache le buffle de la table basculante et on le mène dans une stalle formée de deux hautes parois revêtues de carreaux de faïence. Aux quatre pattes sont fixées de solides cordes rembourrées, de façon telle que l'animal puisse se tenir debout avec une certaine liberté, mais qu'il lui soit impossible de se coucher. S'il y a des mouches, on asperge les parois carrelées ainsi que la surface extérieure du linge de pansement avec une solution de DDT.

Les animaux inoculés doivent être constamment surveillés, bien nourris et bien soignés.

Dès 48 heures après l'opération, on discerne nettement sur la peau du buffle inoculé l'apparition de l'infection vaccinale.

2.2.3 Récolte de la pulpe

Après 72 heures, on récolte la couche formée par les pustules. Otten estime, lui aussi, que ce délai est le meilleur. Sans doute a-t-on constaté qu'il est déjà possible de recueillir une quantité appréciable de produit vaccinal 48 heures après l'inoculation, mais cette quantité est encore insuffisante pour la préparation en grand du vaccin et, d'après les recherches d'Otten, le produit n'est pas assez actif. Après 96 heures, la quantité de pulpe formée est vraisemblablement plus considérable

qu'après 72 heures, mais, selon Otten, la substance recueillie dans ces conditions est alors moins active; en outre, cette pulpe est naturellement plus riche en bactéries, et du pus peut déjà s'être formé ici et là. On doit déconseiller l'utilisation d'une telle pulpe. Le point optimum se présente certainement après 72 heures.

Le buffle est de nouveau lié sur la table basculante et saigné par une entaille au cou. Le raclage des surfaces inoculées sur l'animal encore vivant est une torture inutile qui ne saurait se justifier. Une fois l'animal sacrifié, la surface inoculée est dégagée du bandage et nettoyée à fond, mais avec précaution, au moyen d'une solution de lysol. Elle est ensuite lavée à plusieurs reprises à l'eau stérilisée et séchée avec des linges stériles.

Le raclage de la pulpe s'effectue alors au moyen d'une cuiller à bords tranchants, en exerçant une pression forte, mais non exagérée. La substance est recueillie dans un récipient de verre.

Immédiatement après avoir raclé la pulpe, on transporte le buffle à l'abattoir où l'on contrôle soigneusement son état de santé. En Indonésie, la tuberculose du buffle est extrêmement rare et n'a jamais été observée chez nos propres animaux. Si, lors de la dissection, on constate des lésions récentes dues à la fièvre aphteuse, qui avaient échappé lors de l'examen de l'animal vivant, la pulpe est détruite. S'il s'agit d'anciennes lésions guéries, il n'existe aucune raison de ne pas utiliser la pulpe.

La substance qui vient d'être recueillie est broyée le jour même.

2.2.4 Dessiccation

Il suffit de passer une fois dans le broyeur de Chalybäus la pulpe brute destinée à la préparation du vaccin sec. La masse épaisse obtenue est étendue en couche très mince sur des plaques de verre ou des demi-boîtes de Petri. La dessiccation s'opère dans le vide, sur l'acide sulfurique, à la température du laboratoire, soit environ 21 à 22°C. Après 24 heures, la substance est complètement sèche et peut alors être raclée sur le verre. La substance sèche raclée est ensuite finement pulvérisée au mortier. Pour 100 g de pulpe brute, on obtient après dessiccation environ 20 g de poudre sèche.

La poudre est alors introduite dans des ampoules du meilleur verre au plomb. A l'Institut Pasteur, ces ampoules sont de forme sphérique et terminées par un col long d'environ 15 cm. Le remplissage s'effectue au moyen d'un petit entonnoir dont l'extrémité s'adapte exactement au col de l'ampoule. Le vaccin sec est mesuré au moyen de petites cuillères de verre, qui contiennent assez exactement 100 mg ou 200 mg de poudre. De cette manière, le remplissage des ampoules s'effectue extrêmement vite.

Les ampoules remplies sont immédiatement reliées à un appareil à faire le vide. Cet appareil se compose d'une grande pièce tubulaire en

verre épais, ayant la forme d'un rectangle ou d'un ovale allongé; placée au-dessus d'une table, elle est pourvue d'une tuyauterie reliée à la pompe à vide et au réservoir de mercure. Le long de cette pièce sont scellées 25 à 30 dériviatives, formées de petits tubes de verre ayant exactement la même épaisseur—qui est aussi celle du col des ampoules. Les ampoules remplies sont fixées à ces dériviatives, après graissage préalable, par de petits raccords de caoutchouc à l'épreuve du vide.

Au début, on fixait tout d'abord aux ampoules, à la flamme, des obturateurs qui étaient ensuite ajustés très exactement dans les dériviatives de l'appareil à vide. Cependant, comme il n'était pas possible de fabriquer ces pièces en nombre suffisant, on a finalement adopté la liaison par tuyaux de caoutchouc à l'épreuve du vide. Ce genre de connexion s'est révélé à peu près équivalent à la liaison par tubes de verre ajustés.

Lorsque toutes les dériviatives de l'appareil sont reliées aux ampoules contenant la poudre, on commence à faire le vide. En général, la pression désirée, soit environ 0,001 mm de mercure, est indiquée par le manomètre après une demi-heure; il est exceptionnel que l'opération dure plus longtemps.

On peut alors commencer à faire fondre le col des ampoules. Pendant cette opération, la pompe continue à fonctionner. La fusion exige une minutie particulière de la part du souffleur de verre car le vide ne doit cesser en aucun cas. Si le verre est tant soit peu endommagé lors de la fusion, il faut recommencer toute l'opération d'évacuation de l'air.

Après que le verre est encore chaud, l'extrémité fondue de l'ampoule est immédiatement recouverte d'une capsule de laque qui protège la pointe des heurts, au cours du transport. Si ces opérations sont effectuées consciencieusement, il n'est pas nécessaire de contrôler le vide existant dans les ampoules terminées.

Après avoir été étiquetées, les ampoules sont conservées dans des emballages de carton, à la température du laboratoire. La détermination de la virulence peut avoir lieu à n'importe quel moment après la fabrication.

2.2.5 Contrôle du vaccin

Le contrôle du vaccin doit porter sur son innocuité et sur ses qualités vaccinales. L'innocuité est établie par la recherche de la teneur en germes et par l'épreuve sur l'animal; les qualités vaccinales sont contrôlées par la détermination de la virulence et, le cas échéant, du pouvoir antigénique.

2.2.5.1 Epreuves d'innocuité

L'absence de germes adventices dans le vaccin prêt à l'expédition est vérifiée par ensemencement sur plaque. La technique appliquée diffère d'un institut à l'autre. Dans plusieurs pays, on a établi des prescriptions sur la teneur maximum en bactéries qui est autorisée, limite qui ne doit être dépassée en aucun cas. Personnellement, nous estimons que le

nombre absolu de micro-organismes saprophytes est indifférent; c'est l'absence de germes pathogènes ou suspects qui est essentielle. Il importe surtout que le vaccin ne contienne ni streptocoques hémolytiques ni spores tétaniques.

Une épreuve d'innocuité complémentaire peut être effectuée par inoculation au cobaye. En règle générale, un cobaye sain supporte sans présenter de symptômes anormaux une injection intramusculaire de 0,5 ml d'une suspension de 0,1 g de vaccin sec dans 5,0 ml de solution physiologique. Cette épreuve permet également de s'assurer de l'absence de spores tétaniques.

2.2.5.2. Détermination de la virulence

A l'Institut Pasteur de Bandoeng, on détermine la virulence des vaccins par la méthode de Gins pratiquée sur la cornée du cobaye et qu'il n'y a pas lieu de développer ici. Comparée à la méthode intradermique, la méthode de Gins n'est pas rigoureusement quantitative; elle fournit seulement des valeurs minimums. Cependant, ces valeurs sont tout à fait suffisantes, car pour la délivrance des vaccins il suffit de déterminer leur virulence minimum. A Bandoeng, on n'attribue pas de limite supérieure à la virulence: en effet, on n'a jamais observé de réactions très violentes, même en utilisant des spécimens de vaccin particulièrement virulents. Rappelons brièvement qu'en Indonésie on n'a encore jamais constaté, jusqu'ici, d'encéphalite postvaccinale.

2.2.5.3 Détermination du pouvoir antigénique

C'est l'Institut Pasteur de Bandoeng qui, le premier, a entrepris de déterminer de temps à autre le pouvoir antigénique d'échantillons du vaccin qu'il prépare. A cette fin, on traite une série de cobayes en leur injectant en une fois, par voie intrapéritonéale, des dilutions déterminées de vaccin sec. Après 12, 20 et 30 jours, on prélève le sang des animaux. On mesure le titre des antihémagglutinines par l'épreuve d'inhibition de l'agglutination, en utilisant la pulpe de buffle comme antigène, suivant les indications de Collier^{16, 17}. D'après les expériences de Fenner & Fenner,¹⁹ sur l'ectromélie infectieuse de la souris, les antihémagglutinines permettent de mesurer d'une manière remarquable le degré d'immunité contre l'infection. Il n'existe pas de parallélisme manifeste entre la virulence du vaccin et le titre en antihémagglutinines obtenu, et il n'est pas non plus certain que la détermination du pouvoir immunisant présente une grande importance. Les vaccins avirulents et les vaccins tués, administrés par voie intrapéritonéale, produisent également des antihémagglutinines, bien que d'une manière nettement plus faible que les vaccins vivants et très virulents.

Le fabricant a toutefois un sentiment de sécurité lorsqu'il peut apporter la preuve que les vaccins, fournis par lui à des fins d'immunisation, possèdent réellement un fort pouvoir immunisant.

2.2.6 Durée de conservation des vaccins secs d'Otten

Nous avons insisté à plusieurs reprises sur la grande supériorité des vaccins secs d'Otten par rapport aux vaccins glycéринés. Cette supériorité ne ressort pas uniquement des nombreuses expériences antérieures d'Otten,^{41, 42, 43} mais, avant tout, des résultats obtenus dans la pratique, car à partir de 1931, les vaccins secs ont été utilisés en quantités sans cesse croissantes.

TABLEAU I.—*Pouvoir d'hémagglutination, virulence et pouvoir antigénique du vaccin antivaricelleux sec préparé sur le buffle et âgé de 4 à 6 mois*

| Numéro du lot de vaccin | Hémagglutination | Virulence déterminée sur la cornée du cobaye avec une dilution du vaccin de | | | | Antihémagglutination constatée après | | |
|-------------------------|---------------------------|---|--------|----------|-----------|--------------------------------------|----------|----------|
| | | 1/100 | 1/1000 | 1/10.000 | 1/100.000 | 12 jours | 20 jours | 30 jours |
| | Dilution maximum du virus | | | | | Dilution maximum du sérum de cobaye | | |
| 563 | 1600 | + | + | + | 0 | 96 | 420 | 68 |
| 573 | 3200 | + | + | + | + | 140 | 820 | 62 |
| 576 | 1600 | + | + | + | 0 | 38 | 220 | 55 |
| 580 | 1600 | + | + | + | 0 | 84 | 480 | 80 |
| 583 | 3200 | + | + | + | + | 172 | 660 | 110 |
| 603 | 3200 | + | + | 0 | 0 | 180 | 880 | 120 |
| 606 | 1600 | + | + | + | + | 168 | 500 | 133 |
| 607 | 1600 | + | + | + | 0 | 52 | 460 | 87 |
| 608 | 1600 | + | + | + | 0 | 256 | 1024 | 110 |
| 609 | 1600 | + | + | + | 0 | 150 | 853 | 93 |
| 616 | 3200 | + | + | + | + | 240 | 1088 | 200 |
| 617 | 1600 | + | + | + | + | 280 | 840 | 133 |
| 618 | 3200 | + | + | + | + | 180 | 580 | 80 |
| 619 | 1600 | + | + | + | 0 | 260 | 1280 | 173 |
| 620 | 1600 | + | + | + | 0 | 264 | 880 | 80 |
| 621 | 3200 | + | + | + | 0 | 148 | 580 | 205 |
| 625 | 1600 | + | + | + | + | 285 | 740 | 102 |
| 626 | 1600 | + | + | + | 0 | 120 | 453 | 93 |
| 627 | 3200 | + | + | 0 | 0 | 52 | 800 | 110 |
| 629 | 1600 | + | + | + | 0 | 50 | 700 | 75 |
| 630 | 1600 | + | + | + | + | 38 | 480 | 185 |
| 631 | 1600 | + | + | + | 0 | 45 | 410 | 80 |
| 632 | 1600 | + | + | + | + | 116 | 960 | 110 |
| 635 | 800 | + | + | + | 0 | 64 | 800 | 120 |
| 636 | 200 | + | + | + | 0 | 38 | 172 | 60 |
| 639 | 1600 | + | + | + | 0 | 80 | 480 | 40 |
| 640 | 800 | + | + | + | 0 | 110 | 592 | 120 |
| 642 | 1600 | + | + | + | + | 176 | 544 | 65 |
| 645 | 800 | + | + | + | 0 | 60 | 296 | 82 |
| 646 | 800 | + | + | + | 0 | 92 | 420 | 85 |

On trouvera ci-après des indications sur quelques recherches récentes.

Des vaccins prêts à l'emploi, conservés dans des ampoules à une température ambiante de 21 à 22°C, ont été essayés quatre à six mois plus

tard. On a déterminé le pouvoir d'hémagglutination, la virulence sur la cornée du cobaye et la propriété de former des antihémagglutinines, cette dernière épreuve étant effectuée sur cinq cobayes. Répétons encore qu'à notre avis les antihémagglutinines jouent un rôle important dans l'évaluation de l'immunité antivariolique et, par conséquent, dans l'estimation du pouvoir immunisant d'un vaccin antivariolique. Le sérum des animaux a été examiné après 12, 20 et 30 jours pour déterminer la présence d'antihémagglutinines.

Le tableau I présente les résultats de trente expériences de ce genre. Dans deux cas la virulence s'est manifestée jusqu'à une dilution de 1/1.000 seulement, dans 18 cas jusqu'à 1/10.000 et dans 10 cas jusqu'à 1/100.000. Les essais n'ont pas porté sur des dilutions intermédiaires. Rappelons que le titrage de la virulence sur la cornée du cobaye ne donne que des valeurs minimums, alors que l'épreuve intradermique sur le lapin fournit assez souvent des valeurs de beaucoup supérieures. On voit donc que la virulence du vaccin sec conservé pendant quatre à six mois à la température du laboratoire peut être qualifiée de très satisfaisante et que, dans de nombreux cas, elle peut même être considérée comme excellente. On peut dire de même que le pouvoir de produire des antihémagglutinines est satisfaisant.

Il est intéressant de comparer ces résultats à ceux d'expériences analogues pratiquées avec des échantillons de vaccins secs notablement plus âgés. On trouvera au tableau II une série de données relatives à de telles expériences. Les ampoules ont été préparées sous la surveillance personnelle d'Otten jusqu'en 1938 encore, et sous la surveillance des autorités d'occupation en 1943-1944. En 1946-1947, elles ont été de nouveau préparées dans des conditions normales, bien qu'il n'ait pas toujours été possible d'utiliser un verre au plomb absolument irréprochable.

Abstraction faite de la première expérience mentionnée dans le tableau II, qui porte sur une ampoule remontant à 1926, pour laquelle l'épreuve sur la cornée du cobaye a donné des résultats nuls, on voit que le contenu de toutes les autres ampoules a donné un résultat positif lors du contrôle de la virulence, tout au moins à la dilution de 1/100. Le contenu de 9 des 14 ampoules datant de 1927 et de 1928, et celui de 11 des 13 ampoules remontant à 1930, s'est encore révélé virulent à la dilution de 1/1.000 lors de l'épreuve sur le cobaye. Le pouvoir de stimuler la production d'antihémagglutinines n'est pas aussi fort que celui des vaccins secs plus récents; néanmoins, dans la plupart des cas, les valeurs déterminées sont satisfaisantes, et seules quelques ampoules anciennes ont donné des valeurs très faibles.

Bien entendu, dans la pratique, on n'utilise jamais de vaccins secs aussi vieux, et ces expériences ne présentent qu'un intérêt théorique. Elles montrent toutefois assez clairement que, si l'activité des vaccins

TABLEAU II.—*Pouvoir d'hémagglutination, virulence et pouvoir antigénique du vaccin antivariolique sec préparé sur le buffle et âgé de plusieurs années*

| Numéro du lot de vaccin | Date de préparation du vaccin | Hémagglutination | Virulence déterminée sur la corneée du cobaye avec une dilution du vaccin de | | | | Antihémagglutination constatée après | | |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|--|--------|----------|-----------|--------------------------------------|----------|----------|
| | | | 1/100 | 1/1000 | 1/10.000 | 1/100.000 | 12 jours | 20 jours | 30 jours |
| | | Dilution maximum du virus | | | | | Dilution maximum du sérum de cobaye | | |
| 23 | 5.1926 | 3200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22 | 45 | 25 |
| 31 | 8.1927 | 1280 | + | 0 | 0 | 0 | 13 | 22 | 80 |
| 31 | 8.1927 | 1280 | + | 0 | 0 | 0 | 76 | 152 | 410 |
| 31 | 8.1927 | 1600 | + | + | + | 0 | 106 | 120 | 36 |
| 31 | 8.1927 | 1600 | + | + | + | 0 | 368 | 368 | 104 |
| 25 | 1928 | 640 | + | 0 | 0 | 0 | 20 | 26 | 16 |
| 26 | 6.1928 | 1600 | + | + | + | 0 | 18 | 26 | 20 |
| 27 | 6.1928 | 1600 | + | + | 0 | 0 | 28 | 32 | 18 |
| 29 | 7.1928 | 0 | + | + | + | 0 | 130 | 164 | 74 |
| 29 | 7.1928 | 0 | + | + | 0 | 0 | 418 | 800 | 260 |
| 31 | 4.1928 | 1600 | + | 0 | 0 | 0 | 2 | 18 | 25 |
| 33 | 8.1928 | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 16 | 16 | 13 |
| 33 | 8.1928 | 800 | + | + | 0 | 0 | 80 | 127 | 87 |
| 33 | 8.1928 | 800 | + | + | 0 | 0 | 36 | 144 | 50 |
| C.4 | 12.1928 | 0 | + | + | 0 | 0 | 6 | 4 | 5 |
| 9 | 1930 | 800 | + | + | 0 | 0 | 64 | 112 | 38 |
| 9 | 1930 | | + | + | 0 | 0 | | | |
| 10 | 1930 | 1600 | + | + | 0 | 0 | 28 | 32 | 10 |
| 10 | 1930 | | + | + | 0 | 0 | | | |
| 11 | 1930 | 1600 | + | + | + | 0 | 18 | 72 | 25 |
| 11 | 1930 | | + | + | 0 | 0 | | | |
| 11 | 1930 | | + | + | 0 | 0 | | | |
| 12 | 1930 | 1600 | + | + | 0 | 0 | 14 | 22 | 5 |
| 12 | 1930 | | + | + | 0 | 0 | | | |
| 12 | 1930 | | + | 0 | 0 | 0 | | | |
| 13 | 1930 | 1600 | + | + | 0 | 0 | 10 | 28 | 15 |
| 13 | 1930 | | + | + | 0 | 0 | | | |
| 13 | 1930 | | + | 0 | 0 | 0 | | | |
| 44 | 1938 | 1600 | + | + | 0 | 0 | 6 | 12 | 3 |
| 44 | 1943 | 2560 | + | 0 | 0 | 0 | 120 | 240 | 493 |
| 21 | 1944 | 3200 | + | + | 0 | 0 | 76 | 112 | 400 |
| 21 | 1944 | 3200 | + | + | + | 0 | 68 | 110 | 220 |
| 8 | 1946 | 3200 | + | + | + | 0 | 163 | 167 | 267 |
| 2 | 1947 | 640 | + | + | 0 | 0 | 46 | 84 | 18 |
| 2 | 1947 | 640 | + | + | 0 | 0 | 15 | 40 | 507 |
| 16 | 1947 | 1600 | + | + | 0 | 0 | 37 | 120 | 533 |
| 26 | 1947 | 1280 | + | + | + | 0 | 42 | 118 | 42 |
| 26 | 1947 | 1280 | + | + | 0 | 0 | 20 | 36 | 88 |
| 30 | 1947 | 1600 | + | + | 0 | 0 | 94 | 96 | 26 |

secs s'affaiblit avec le temps, elle n'a pas encore complètement disparu après 20 ans.

Le tableau III résume les résultats de quelques expériences analogues faites avec des vaccins glycerinés récemment préparés. La qualité de ces vaccins peut être considérée en soi comme excellente; ils donnent des résultats remarquables dans la partie occidentale de Java, à condition que les localités où ils sont utilisés ne soient pas trop éloignées de celles où ils ont été préparés.

TABLEAU III.—*Pouvoir d'hémagglutination, virulence et pouvoir antigénique du vaccin glyceriné frais préparé sur le buffle*

| Numéro du lot de vaccin | Hémagglutination | Virulence déterminée sur la cornée du cobaye avec une dilution du vaccin de | | | | Antihémagglutination constatée après | | |
|-------------------------|---------------------------|---|--------|----------|-----------|--------------------------------------|----------|----------|
| | | 1/100 | 1/1000 | 1/10.000 | 1/100.000 | 12 jours | 20 jours | 30 jours |
| | Dilution maximum du virus | | | | | Dilution maximum du sérum de cobaye | | |
| 749 | 800 | + | + | + | + | 232 | 836 | 160 |
| 750 | 800 | + | + | + | 0 | 248 | 912 | 198 |
| 751 | 1600 | + | + | + | + | 72 | 608 | 160 |
| 752 | 800 | + | + | + | + | 128 | 320 | 110 |
| 772 | 1600 | + | + | + | + | 136 | 760 | 240 |
| 773 | 1600 | + | + | + | + | 220 | 760 | 250 |
| 774 | 1600 | + | + | + | + | 208 | 960 | 280 |
| 775 | 400 | + | + | + | 0 | 160 | 704 | 272 |

Certaines expériences faites sur de très vieux vaccins secs, utilisés pour la vaccination de quelques bébés à Bandoeng, en 1948, présentent un intérêt plus grand encore. On se servit de vaccins préparés par Otten en 1930. Ces produits, qu'il utilisa lui-même en 1936, étaient encore actifs à cette date, bien que la proportion des vaccinations réussies atteignît à peine 80%. En 1941, Otten⁴⁴ opéra de nouveau avec le même vaccin afin de déterminer la possibilité de l'utiliser pour la primo-vaccination des nourrissons. Sur 55 enfants vaccinés, on enregistra 39 réussites, soit une proportion de 71%. En 1948 de nouveau, 159 nourrissons furent vaccinés avec le même produit: 89, soit 56%, présentèrent des réactions positives. Les diverses ampoules, comparées les unes aux autres, ne donnèrent pas toujours le même pourcentage de résultats positifs. Les données relatives aux expériences de 1948 ont été groupées dans le tableau IV, et l'on peut constater que les réactions positives oscillent entre 30% et 84,6%. Ainsi donc, après 18 ans, le vaccin sec d'Otten ne s'est jamais révélé complètement inactif lors de primo-vaccinations; bien plus, toutes les ampoules soumises à l'expérience ont permis d'obtenir des résultats positifs plus ou moins nombreux. Sur les 10 spécimens soumis à l'épreuve, 4 ont donné des réactions vaccinales primaires chez plus de 70% des enfants vaccinés.

Il va sans dire, répétons-le, que des vaccins desséchés aussi âgés ne sont jamais utilisés en pratique. L'expérience démontre toutefois d'une manière irréfutable le haut pouvoir de conservation des vaccins secs d'Otten.

TABLEAU IV.—*Résultats de primo-vaccinations effectuées avec un vaccin sec âgé de 18 ans*

| Numéro du lot de vaccin | Nombre d'enfants vaccinés | Résultats positifs | |
|-------------------------|---------------------------|--------------------|-------------|
| | | Nombre | Pourcentage |
| 9/1930 | 13 | 11 | 84,6 |
| 9/1930 | 15 | 7 | 46,7 |
| 10/1930 | 23 | 18 | 78,3 |
| 10/1930 | 15 | 12 | 80 |
| 11/1930 | 25 | 13 | 52 |
| 11/1930 | 20 | 7 | 35 |
| 12/1930 | 13 | 5 | 38,5 |
| 12/1930 | 10 | 3 | 30 |
| 13/1930 | 17 | 7 | 41,2 |
| 13/1930 | 8 | 6 | 75 |

TABLEAU V.—*Nombre des districts ayant utilisé le vaccin sec et nombre de doses de vaccins délivrées de 1931 à 1941*

| Année | Nombre de districts de vaccination | Doses de vaccin délivrées |
|-------|------------------------------------|---------------------------|
| 1931 | 13 | 147.000 |
| 1932 | 16 | 149.775 |
| 1933 | 32 | 356.800 |
| 1934 | 37 | 452.800 |
| 1935 | 44 | 420.900 |
| 1936 | 47 | 539.600 |
| 1937 | 52 | 587.000 |
| 1938 | | 966.200 |
| 1939 | | 656.200 |
| 1940 | 69 | 705.500 |
| 1941 | 71 | 801.700 |

2.2.7 Fabrication en grand

En Indonésie, l'emploi des vaccins secs d'Otten s'est très rapidement introduit dans la pratique, avec une ampleur sans cesse croissante, à la suite des expériences extrêmement satisfaisantes réalisées dans les îles les plus lointaines de l'archipel. Le tableau V montre le nombre croissant des doses individuelles de cette préparation qui ont été livrées par l'Institut Pasteur de Bandoeng depuis l'introduction du vaccin sec, en 1931, jusqu'au début de la guerre, dans les districts de plus en plus nombreux où la vaccination est pratiquée.

En raison de la grande épidémie de variole qui sévit en Indonésie, il fallut augmenter beaucoup non seulement la production de vaccins dans l'ensemble, mais encore et surtout la fabrication du vaccin sec. Le tableau VI montre dans quelle mesure les livraisons mensuelles de l'Institut Pasteur se sont développées depuis la fin de la guerre. Bien entendu, les chiffres très élevés qui y figurent doivent être imputés à l'épidémie, car, en temps normal, l'Indonésie consomme, en moyenne, environ 10 millions de doses annuellement.

TABLEAU VI.—Répartition mensuelle des doses de vaccins délivrées de 1946 à 1950

| Année et mois | Doses de vaccin délivrées | | |
|-----------------|---------------------------|------------------|------------|
| | Vaccin sec | Vaccin glycérimé | Total |
| 1946: | | | |
| Juin-Déc | 819.425 | 860.000 | 1.679.425 |
| 1947: | | | |
| Janvier | 232.800 | 122.200 | 355.000 |
| Février | 186.600 | 9.000 | 195.600 |
| Mars | 195.600 | 45.000 | 240.600 |
| Avril | 177.750 | 23.500 | 201.250 |
| Mai | 284.850 | 6.800 | 291.650 |
| Juin | 210.300 | 7.200 | 217.500 |
| Juillet | 171.450 | 6.900 | 178.350 |
| Août | 256.200 | 59.300 | 315.500 |
| Septembre | 248.550 | 31.700 | 280.250 |
| Octobre | 242.700 | 36.400 | 279.100 |
| Novembre | 402.750 | 72.000 | 474.750 |
| Décembre | 397.650 | 132.100 | 529.750 |
| Total | 3.007.200 | 552.100 | 3.559.300 |
| 1948: | | | |
| Janvier | 261.150 | 144.600 | 405.750 |
| Février | 532.950 | 115.300 | 648.250 |
| Mars | 272.550 | 264.500 | 537.050 |
| Avril | 574.500 | 223.400 | 797.900 |
| Mai | 627.150 | 214.000 | 841.150 |
| Juin | 768.300 | 344.800 | 1.113.100 |
| Juillet | 587.700 | 262.900 | 850.600 |
| Août | 804.450 | 1.523.900 | 2.328.350 |
| Septembre | 1.067.650 | 893.900 | 1.961.550 |
| Octobre | 2.041.150 | 589.700 | 2.630.850 |
| Novembre | 1.708.650 | 636.600 | 2.345.250 |
| Décembre | 863.350 | 555.600 | 1.418.950 |
| Total | 10.109.550 | 5.769.200 | 15.878.750 |

TABLEAU VI.—*Concl.*

| Année et mois | Doses de vaccin délivrées | | |
|-------------------|---------------------------|------------------|------------|
| | Vaccin sec | Vaccin glycérimé | Total |
| 1949: | | | |
| Janvier | 498.900 | 947.400 | 1.446.300 |
| Février | 1.540.250 | 1.435.400 | 2.975.650 |
| Mars | 1.731.850 | 2.381.600 | 4.113.450 |
| Avril | 2.262.900 | 2.549.400 | 4.812.300 |
| Mai | 3.095.100 | 1.476.600 | 4.571.700 |
| Juin | 903.600 | 1.371.100 | 2.274.700 |
| Juillet | 1.375.800 | 874.750 | 2.250.550 |
| Août | 3.392.230 | 2.859.300 | 6.251.530 |
| Septembre | 3.551.680 | 2.861.400 | 6.413.080 |
| Octobre | 2.980.250 | 2.352.200 | 5.332.450 |
| Novembre | 3.107.300 | 1.795.400 | 4.902.700 |
| Décembre. | 1.797.970 | 1.671.400 | 3.469.370 |
| Total. | 26.237.830 | 22.575.950 | 48.813.780 |
| 1950: | | | |
| Janvier | 1.681.480 | 1.174.500 | 2.855.980 |
| Février | 1.445.400 | 1.166.700 | 2.612.100 |
| Mars | 2.463.590 | 1.553.200 | 4.016.790 |
| Avril | 5.508.400 | 1.120.100 | 6.628.500 |
| Mai | 2.253.960 | 1.383.600 | 3.637.560 |

Cependant, il ressort clairement de ces chiffres qu'il est possible, sans difficultés particulières, de préparer de très grandes quantités de vaccin sec. La fabrication de ce dernier n'est pas plus coûteuse que celle du vaccin glycérimé. Il n'est naturellement pas possible de calculer exactement son prix de revient, car, suivant les pays, le prix du verre et d'autres matières premières, le prix d'achat des animaux et surtout les salaires du personnel diffèrent beaucoup. En tout cas, il est possible de fabriquer le vaccin sec d'Otten dans des conditions extrêmement économiques. L'appareillage utilisé pour la dessiccation et pour faire le vide n'est pas, en soi, très coûteux; quant aux frais généraux, ils dépendent naturellement de la quantité de vaccin sec produite.

2.2.8 Technique d'application

L'utilisation rationnelle et adéquate du vaccin sec présente, elle aussi, une importance capitale. Mis entre les mains d'un vaccinateur dont la formation est insuffisante ou qui ne travaille pas consciencieusement, le meilleur vaccin peut donner des résultats entièrement négatifs. Comme le vaccin glycérimé, le vaccin sec doit également, pour l'emploi, être préparé sur place par le vaccinateur.

On doit, en premier lieu, préparer une suspension du vaccin sec. A cette fin, un flacon de glycérine est délivré avec chaque ampoule. 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, goutte à goutte; après trituration ininterrompue pendant cinq minutes au moins, on obtient une suspension homogène et très fine. Il est évident que le succès de la vaccination dépend, en grande partie, du soin avec lequel la suspension aura été préparée.

Enfin, il est très important de savoir pendant combien de temps le vaccin ainsi préparé demeure utilisable. Pour des raisons de sécurité, Otten avait conseillé, dans sa première publication, d'utiliser la suspension de vaccin sec dans les 24 heures qui suivent la préparation de la dilution. Ultérieurement, il a toutefois indiqué que les suspensions peuvent être utilisées pendant deux jours.

A la suite des recherches postérieures de Collier,^{16, 17} l'Institut Pasteur de Bandoeng préconise l'emploi dans les deux jours des suspensions de vaccin sec, conservées à la température ambiante, et l'emploi dans les sept jours des suspensions conservées dans le bac de congélation d'un frigorifique. Le vaccin prêt à l'usage doit être conservé dans un petit tube fermé, afin de le préserver autant que possible de l'action de l'oxygène atmosphérique.

DRY SMALLPOX VACCINES (*Summary*)

A dried smallpox vaccine has the advantages that it can be prepared on a large scale, kept, and transported to all parts of the world without losing its potency. The dried vaccine made by Otten's method at the Pasteur Institute, Bandoeng, has been used in Indonesia since 1931 for vaccinating the local population. The number of doses of vaccine supplied rose from 147,000 in 1931 to 801,700 in 1941 and to more than 26 million in 1949.

After an historical survey dealing with the various empirical or scientific methods of vaccination by means of dried vaccine, the author describes in detail the manufacture of vaccine at the Pasteur Institute, Bandoeng.

The human variolo-vaccinal strain has been adapted to the ox and the buffalo. Before the second World War it was cultured by successive passages through the following animals: buffalo, rabbit, European heifer, buffalo. Because of unfavorable economic circumstances the use of European heifers had to be given up and the strain was maintained exclusively in the buffalo.

Contrary to previous observations by other workers, culture in one species of animal involves neither falling off in the amount of vaccinal pulp produced nor loss of virulence.

According to the technique employed at the Pasteur Institute, Bandoeng,

the pulp collected from the buffalo is ground, dried in vacuo at laboratory temperature, pulverized in a mortar, and then filled into ampoules, which are sealed after evacuation of air. About 20 g of dried powder are obtained from 100 g of crude pulp. Various tests are applied to the vaccine: the absence of bacteria contaminant is checked by plate culture or by inoculation into guinea-pigs. Vaccinal qualities are judged according to virulence—which is determined on the guinea-pig cornea—and according to antigenic potency as expressed by the anti-haemagglutination titre of the serum from immunized guinea-pigs.

Experiments have shown that after 18 years' storage the dried vaccine, prepared according to Otten's method, still gives an appreciable percentage of positive results.

Thanks to the success of the vaccinations carried out using Otten's dried vaccine, the use of the latter rapidly became general throughout Indonesia, even in the most distant islands of the archipelago. During the 1948-50 epidemic, the vaccine was of great service. Its production is not more expensive than that of glycerinated vaccine.

BIBLIOGRAPHIE

1. Achalme, P.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 4:345, 1911.
2. Achalme, P. & Phisalix, M.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 2:431, 1909.
3. Arsonval, M. d' & Bordas, F.: *Bull. Acad. Méd.*, Paris, 82:225, 1919.
4. Bauer, M.: "Die Schutzpockenimpfung und ihre Technik mit besonderer Berücksichtigung der Impfschäden, ihre Verhütung und Behandlung," Stuttgart, 1890.
5. Blaxall, F. R.: *Rep. med. Offr. loc. Govt. Bd.*, 1900-1901, 58:1902.
6. Bollinger, O.: "Über animale Vaccination," Leipzig, 1879.
7. Boulnois: *Rev. Méd. Hyg. Trop.*, 28:185, 1936.
8. Boulnois: *Ann. Méd. Pharm. colon.*, 35:1081, 1937.
9. Bourquelot, E.: *Jour. Pharm. Chim.*, Paris, 24:169, 1906.
10. Boyé: *Bull. Off. int. Hyg. publ.*, 21:1528, 1929.
11. Boyé: *Bull. Off. int. Hyg. publ.*, 24:1421, 1932.
12. Camus, L.: *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 67:626, 1909.
13. Camus, L.: *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 76:847, 1914.
14. Carini, A.: *Zbl. Bakt.* (1. Abt., Orig.), 41:32, 1906.
15. Carro, J. de: "Beobachtungen und Erfahrungen über die Impfung der Kuhpocke," Wien, 1801.
16. Collier, W. A.: *Antonie v. Leeuwenhoek*, 15:54, 178, 1949.
17. Collier, W. A.: *Med. Maandbl.*, 2:38, 40, 1949.
18. Degive, A.: *Rev. int. Vacc.*, 4:160, 1913.
19. Fenner, F. & Fenner, E. M. B.: *Aust. Jour. Exp. Biol. Med. Sc.*, 27:19, 1949.
20. Ferro, P. J.: "Medizinisches Archiv von Wien und Österreich," 1799.
21. Flosdorf, E. W. & Mudd, S.: *Jour. Immunol.*, 34:469, 1938.
22. Gaide & Bodet., Dans: "Far Eastern Association of Tropical Medicine: Transactions of the Eighth Congress, Siam, 1930," Bangkok, Vol. I, p. 377, 1931.
23. Gauducheau, A.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 10:260, 1917.
24. Jojot, Ch.: *Rev. int. Vacc.*, 10:321, 1920.
25. Joyeux, C.: *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 67:624, 1909.
26. Kaiser, M.: *Wien. Klin. Wschr.*, 50:441, 1937.
27. Kaiser, M.: *Zbl. Bakt.* (1. Abt. Orig.), 139:405, 1937.
28. Kaiser, M.: *Zbl. Bakt.* (1. Abt. Orig.), 142:359, 487, 1938.
29. Kaiser, M.: *Arch. ges. Virusforsch.*, 2:279, 426, 1942.

30. Kersten, H. E.: *Arch. Schiffs- und Tropenhyg.*, 18:564, 1914.
31. Lasnet: *Bull. Off. int. Hyg. publ.*, 21:260, 1929.
32. Léger, M.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 4:285, 1911.
33. López-Rizal, L. Dans: "Far Eastern Association of Tropical Medicine: Transactions of the Fifth Biennial Congress, Singapore, 1923," London, p. 538, 1924.
34. Manteufel, P.: *Arch. Schiffs- und Tropenhyg.*, 16:370, 1912.
35. Martin, G.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 11:593, 1918.
36. Megay, K. & Rotter, K.: *Arch. ges. Virusforsch.*, 4:159, 1949.
37. Morosov, M. A., Korolkova, M. I., Kasatkevitch, S. S. & Dolinov, K. E.: *Jour. Microbiol.*, Moscou, No. 6, p. 76. Résumé dans *Bol. Hyg.* 1944, 19:505, 1943.
38. Mueller, E. H.: *Vjschr. gerichtl. Med.*, 11:116, 1869.
39. Nagano, Y.: *Jap. Jour. Exp. Med.*, 20:37, 1949.
40. Otten, L.: *Geneesk. Tijdschr. Ned.-Ind.*, 66:642, 1926.
41. Otten, L.: *Z. Hyg. Infekt Kr.*, 107:677, 1927.
42. Otten, L.: *Meded. Dienst Volksgezondh. Ned.-Ind.*, 21:196, 1932.
43. Otten, L.: *Z. Hyg. Infekt Kr.*, 114:705, 1933.
44. Otten, L.: *Geneesk. Tijdschr. Ned.-Ind.*, 82:196, 1942.
45. Pfeiffer, L.: "Die Vaccination, ihre experimentellen und erfahrungsgemässen Grundlagen und ihre Technik mit besonderer Berücksichtigung der animalen Vaccination," Tübingen, 1884.
46. Reissner: *Dtsch. med. Wschr.*, 7:409, 647, 1881.
47. Ringenbach, J.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 7:17, 1914.
48. Rivers, T. M. & Ward, S. M.: *Jour. Exp. Med.*, 62:549, 1935.
49. Rosario, S. V. del & Lopez-Rizal, L. Dans: "Far Eastern Association of Tropical Medicine: Transactions of the Fourth Congress, 1921," Weltevreden, Vol. I, p. 525, 1922.
50. Ross, P. H.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 4:283, 1911.
51. Ross, P. H.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, 6:144, 1913.
52. Ruediger: Cité par Rosario S. V. del & Lopez-Rizal, L. (1922) dans "Far Eastern Association of Tropical Medicine: Transactions of the Fourth Congress, 1921," Weltevreden, Vol. I, p. 531, 1913.
53. Schöbl, O.: *Philipp. Jour. Sc.*, 17:55, 1920.
54. Schoen, E.: *Zbl. Bakt.*, 20:641, 1896.
55. Schulz, M.: "Impfung, Impfgeschäft und Impftechnik," Berlin, 1888.
56. Schulz, M. & Weyl, T.: *Z. Hyg. Infekt Kr.*, 10:523, 1891.
57. Seaton, E. C.: "A handbook of vaccination," London, 1868.
58. Société des Nations, Organisation d'Hygiène, "Commission de la variole et de la vaccination. Rapport sur la session tenue à Genève, 22-25 août 1928," Genève (Document C. H. 739) 1928.
59. Tomarkin, E. & Serebrenikoff, N.: *Arch. Schiffs- und Tropenhyg.*, 14:429, 1910.
60. Voigt, L.: *Arch. Schiffs- und Tropenhyg.*, 15, Beiheft 10, p. 497, 1911.
61. Wurtz, R.: *Bull. Acad. Méd.*, Paris, 81:12, 1919.