

ETABLISSEMENT DE L'IMMUNITE ET ELABORATION  
DES ANTICORPS NEUTRALISANTS ET AGGLUTINANTS,  
CHEZ LE LAPIN, PAR INJECTION DE VIRUS DE LA  
VACCINE INCORPORE DANS LES VACCINS ASSOCIES.  
ROLE DES INJECTIONS DE RAPPEL.

PAR

H. MIR CHAMSY, V. SOHRAB ET A. KOROUR \*

---

Dans une note antérieure (23) nous avons donné un résumé des recherches réalisées avec le virus de la vaccine associé à un vaccin trivalent antidiphthérique, antitétanique et anticoquelucheux. A la suite d'une série d'injections chez des enfants n'ayant jamais été vaccinés, nous avons tiré la conclusion qu'il est possible de vacciner à la fois contre la variole, la diphthérie, le tétanos et la coqueluche et les avantages incontestables de cette méthode sont brièvement décrits. Dans cet exposé nous allons décrire la méthode de préparation et de purification du virus vaccinal, l'effet de la vaccination antivariolique seule ou associée chez le lapin et le rôle des injections de rappel dans l'entretien de l'immunité.

MATERIEL ET TECHNIQUE

*Préparation et purification du virus.* — L'emploi de la lymphe vaccinale glycinée, type de vaccin de l'Institut Pasteur d'Iran (1) ou du vaccin sec d'Olten (5) ne peut pas être justifié dans ces recherches à cause des impuretés bactériologiques et des protéines naturelles de lymphe. Nous employons la méthode de culture dans l'œuf embryonné de Good-pasture, *Buddingh* et collaborateurs (4, 13, 14, 15); pour la purification du matériel obtenu, on emploie la méthode de Smadel et Wall (28).

---

\* Revue d'Immunologie, 1958, 22, 553-556.

La souche utilisée dans ces recherches expérimentales est isolée d'un lot de vaccin antivariolique lyophilisé du commerce, préparé pour la vaccination jennérienne.

La dilution au 1/10 000 de ce vaccin provoque sur la peau du lapin des pustules confluentes; de même, la dilution au 1/50 000 entraîne la formation de 3 à 10 pustules séparées. La dilution au 1/100 de vaccin liquide dans l'eau physiologique contenant 5 p. 100 de sérum normal chauffé de cheval est inoculée dans la surface ectodermale de la membrane chorioallantoïdienne de 5 œufs embryonnés de 12 jours. Après 48 heures d'incubation à 35-36° C on prélève la membrane du côté de l'injection. Déjà au 1<sup>er</sup> passage on constate, sur la plupart des membranes, des pustules confluentes. Le prélèvement est homogénéisé dans le broyeur de Ten Broeck, ce qui semble donner d'après *Overman* et *Tamm* (18) le meilleur rendement. Après 4 passages successifs on conserve le broyat à -40° C et on l'emploie comme semence. L'inoculation se fait avec 0,1 ml de semence chauffée à 30° C. Le délai entre la perforation des coquilles et l'inoculation du virus ne dépasse pas 2 heures. On prend toutes les précautions nécessaires et les mesures étudiées par plusieurs auteurs, surtout par *Westwood* et collaborateurs (30), pour obtenir le meilleur rendement. Un lot de fabrication du vaccin se compose de 50 à 100 œufs embryonnés. Les membranes ayant des pustules confluentes sont homogénéisées aussitôt que possible après récolte, dans des broyeurs de Ten Broeck.

Le broyat glyciné ou additionné de sorbitol et lyophilisé est employé comme vaccin pour la vaccination jennérienne et a donné des résultats satisfaisants dans plusieurs pays du monde, surtout en Amérique du Nord (29).

Étant impur il ne peut pas être employé dans les vaccins combinés, car il provoque des réactions allergiques dues aux protéines de l'œuf (26). Nous le soumettons donc à la purification par la technique de *Smadel* et collaborateurs. Cette technique consiste dans le lavage des membranes dans la solution de *Lock*, suivi de plusieurs centrifugations, digestion des tissus avec la trypsine purifiée et nouvelles centrifugations.

En poursuivant cette technique, on arrive à obtenir des suspensions pures des corps élémentaires. En traitant 50 à 100 membranes on obtient 20-25 millilitres de suspension dont 0,1 ml de la dilution  $10^{-5}$  à  $10^{-6}$  provoque sur la membrane chorio-allantoïdienne des œufs embryonnés de 12 jours quelques pustules isolées.

*Titration du pouvoir neutralisant des sérums.* — Nous préférons

la méthode de titrage des anticorps neutralisants par l'inoculation du mélange virus + sérum dans l'œuf embryonné de 12 jours. Cette technique nous semble donner des résultats réguliers et sûrs. Parmi plusieurs variantes des techniques de titrage, nous préférons celle de *Gispen* (12) dans laquelle le sérum n'est pas dilué et où on dilue seulement le virus vaccinal.

Notre suspension de virus en eau salée, additionnée de 5 p. 100 de sérum normal chauffé de cheval, conservée à  $-40^{\circ}$  C, provoque 20 à 30 pustules à la dose de 0,1 ml de dilution à  $10^{-5}$ , en mélange avec 0,1 ml de sérum normal chauffé de lapin.

D'après *Gispen*, l'index de neutralisation est le rapport entre la dilution du virus, qui, mélangé avec le sérum, a produit le même nombre de pustules que le titre d'infection du virus. Ainsi, si la dilution au 1/5 000 de notre virus provoque, en présence d'un sérum, 20 à 30 pustules, l'index de neutralisation de ce sérum sera 1/5000 : 1/100 000 soit 20. Les mélanges à parties égales de sérum et des dilutions de virus restent une heure à  $37^{\circ}$  C, puis sont gardés à la température du laboratoire ; le volume de l'injection dans la membrane chorio-allantoïdienne est de 0,2 ml. Ils sont injectés dans les 2 heures qui suivent leur préparation et, pour chaque dilution de virus, on injecte 4 œufs embryonnés.

Nous sommes en plein accord avec *Boulter* (3), qui a démontré que si le sérum est dilué et que le virus reste fixe, le contact de 2 heures, même à  $37^{\circ}$  C, n'est pas suffisant pour neutraliser le virus et les résultats seront erronés.

*Agglutination.* — On pratique l'agglutination en suivant la technique de *Craigie* (7) et celle de *Parker et Rivers* (19). Le sérum est dilué dans une solution fraîche d'eau physiologique tamponnée à PH 7,2 avec 1 p. 100 de tampon phosphate disodique-acide citrique. On dilue la suspension des corps élémentaires de telle sorte que la dilution finale ait le titre de  $1,4 \times 10^6$  ml ; 0,25 ml des différentes dilutions de sérum est mélangé avec 0,25 ml de suspension des corps élémentaires ; le mélange reste une nuit à  $+50^{\circ}$  C, puis on note les résultats.

*Contrôle de l'immunité.* — Les lapins vaccinés sont éprouvés par application de la lymphé vaccinale non diluée sur la peau scarifiée. Alors que la dilution au 1/1 000 de cette lymphé provoque chez les lapins neufs des pustules confluentes, chez les vaccinés la lymphé non diluée ne donne pas de réaction appréciable.

*Adsorption du virus vaccinal sur le gel d'alumine et association des antigènes.* — Les recherches innombrables et variées réalisées dans les vingt dernières années ont montré la nécessité et le rôle des adjuvants dans l'évolution de l'immunité. L'addition de gel d'alumine, surtout, augmente d'une manière surprenante la valeur immunigène des antigènes qui, injectés seuls, passent souvent inaperçus par l'organisme qui les élimine sans avoir l'occasion d'élaborer l'anticorps correspondant.

Les recherches des auteurs danois à ce propos pour le virus aphteux, celles de *G. Ramon* (24, 25) et de l'École anglaise (2) pour les antigènes diphtériques et tétaniques et enfin nos études récentes sur la variole ovine (8,22) illustrent d'une manière incontestable la valeur du gel (phosphate ou hydroxyde d'alumine) dans l'établissement de l'immunité.

Dans le cas où l'antigène vaccinal est monovalent, les corps élémentaires sont dilués au titre arbitraire de 100 000 par millilitre, puis cette suspension est mélangée avec l'hydroxyde d'alumine (1,5 g. d'alumine ayant un pouvoir d'adsorption satisfaisant). Le mélange reste 48 heures à + 20° C, puis on vérifie le degré d'adsorption qui ne doit pas être inférieur à 90 p. 100. A ce propos on centrifuge le composé gel-virus et on cherche le nombre des éléments libres dans le surnageant par inoculation dans la membrane chorio-allantoïdienne. Dans le cas des vaccins associés, les antigènes diphtérique, tétanique ou coquelucheux étant au préalable adsorbés sur le phosphate d'alumine, on y ajoute les corps élémentaires.

L'emploi du virus vaccinal inactivé ou associé à d'autres vaccins n'est pas récent. Citons seulement quelques exemples des travaux relativement récents. *Peltier* et ses collaborateurs en 19:9 (20, 21) ont mélangé le virus de la vaccine avec le virus de la fièvre jaune et emploient le mélange par scarification. Dans le même temps *Yaoi* et ses collaborateurs (32, 33) mélangent le virus vaccinal avec le T. A. B. et injectent le mélange par voie sous-cutanée.

A notre connaissance, on n'a pas étudié jusqu'ici l'effet immunigène du composé gel-vaccine chez l'animal ou chez l'homme; mais l'inactivation du virus par des moyens chimiques ou physiques a été largement étudiée. Nous mentionnons, à titre d'exemple, le travail remarquable et récent de *Collier* et collaborateurs (6) qui ont démontré la possibilité de la vaccination antivariolique avec la lymphé vaccinale ou les corps élémentaires irradiés avec les rayons ultraviolets.

*Étude électrophorétique.* — L'étude électrophorétique du sérum

des petits animaux de laboratoire par électrophorèse libre nécessite presque toujours une saignée totale de ces animaux. Par contre, la micro-électrophorèse sur papier (10, 27) par sa rapidité, la simplicité d'appareillage et la faible quantité de sérum exigé, nous permet de poursuivre avec une précision suffisante la marche de l'élaboration des globulines et le changement de différentes fractions sanguines au cours de l'immunisation.

*Méthode de travail.* — Nous employons l'appareil du genre Grassmann et Hannig, la bande de papier utilisée est Whatman n° 1 avec les dimensions 28,5 × 3,9 cm. On emploie comme tampon le véronal sodique-acétate de soude à pH = 8,6 et force ionique égale à 0,1.

Le procédé dure 16 heures avec un courant continu à 110 volts. Le volume du sérum déposé sur le papier humidifié avec le tampon ne dépasse pas 15 millimètres cubes. On dessèche les bandes à l'étuve à 100° C pendant 30 minutes, puis la coloration s'effectue avec l'amidoschwarz 10 B; on les décolore pendant 5 heures, d'abord par une solution de méthanol-acide acétique et ensuite 30 minutes avec une solution contenant 2 parties d'une solution de méthanol-acide acétique et une partie d'eau contenant 1 p. 100 d'acide chlorhydrique N. Enfin on lave les bandes avec de l'alcool méthylique pur.

On dessèche alors les bandes à l'étuve, puis elles sont huilées avec de la paraffine et du monobromonaphtalène. La photométrie se fait par densitomètre électronique modèle 525 de la «Photovolt Corp.». Les valeurs trouvées selon la densité optique sont portées millimètre par millimètre sur le papier millimétrique. Les calculs et les pourcentages des fractions isolées sont faits à l'aide du planimètre Elphor par rapport aux protéines totales trouvées par la méthode de Kejeldahl.

## EXPERIENCES

*1° Effet de la vaccination avec 4 antigènes.* — Douze lapins sont vaccinés avec 1 vaccin tétravalent contenant dans chaque millilitre 20 Lf de l'antigène diphtérique, 10 Lf de l'antigène tétanique,  $20 \times 10^9$  de bacilles de Bordet-Gengou et 75 000-100 000 corps élémentaires; cet ensemble est adsorbé sur phosphate d'alumine. Les lapins reçoivent 3 injections de 1 millilitre espacées de 20 jours. On saigne les lapins avant l'expérience, et chaque fois avant l'injection de vaccin. On recherche les anticorps neutralisants de la vaccine séparément pour chaque lapin mais la teneur en antitoxine diphtérique est recherchée dans le mélange des sérums. Voici les résultats obtenus:

TABLEAU I

	Avant vaccination	1 <sup>er</sup> Injection	2 <sup>e</sup> Injection	3 <sup>e</sup> Injection
Antitoxine diphtérique . . .	0	0,17 U. A. / ml	0,45 U. A. / ml	7,25 U. A. / ml
Antitoxine tétanique . . .	0	0,015 U. A. / ml	0,25 U. A. / ml	2,46 U. A. / ml

TABLEAU II

*Variations de l'indice de neutralisation au cours de l'immunisation du lapin*

N <sup>o</sup> des lapins	1 <sup>er</sup> Injection	2 <sup>e</sup> Injection	3 <sup>e</sup> Injection
51/36 . . . . .	2	17	100
52/36 . . . . .	5	7	40
62/36 . . . . .	3	10	—
66/36 . . . . .	6	12	66
70/36 . . . . .	—	10	15
75/36 . . . . .	6	10	35
76/36 . . . . .	9	11	90
77/36 . . . . .	4	8	24
79/36 . . . . .	10	13	50

Les variations de l'indice de neutralisation sont figurées dans le tableau II. Il faut se rappeler que cet indice est 0 pour tous les lapins avant la vaccination.

Il est utile de remarquer que le taux d'anticorps neutralisant comme celui de l'antitoxine diphtérique ou tétanique augmente dans la circulation sanguine quand on multiplie le nombre des injections vaccinales.

*2<sup>o</sup> Vaccins associés et variations électrophorétiques.* — Il a été d'abord nécessaire de connaître la teneur en constituants globuliniques chez nos lapins.

Les sérums de 16 lapins normaux servent de base à ce calcul. Voir ces variations en comparaison avec les résultats des autres auteurs dans le tableau III (fig. 1).

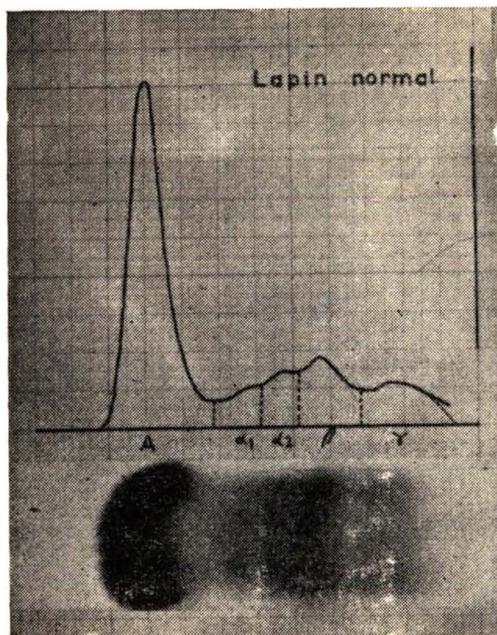


fig. 1

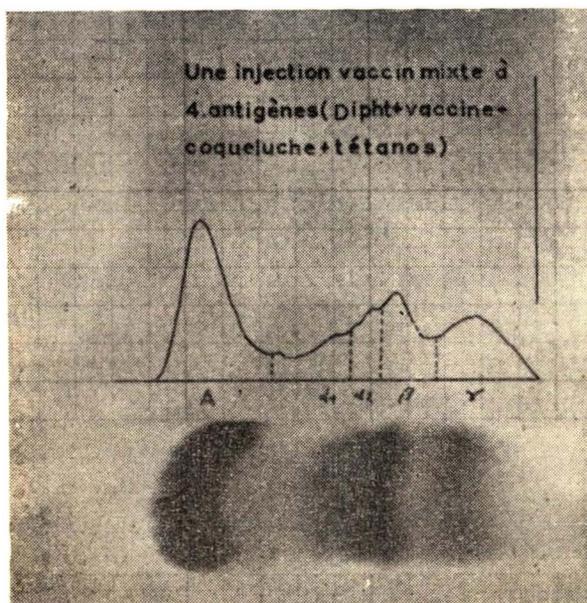


fig. 2

TABLEAU III

*Variation en Albumine et en Globulines chez les lapins normaux*

Référence	Genre d'appareil	Albumine ‰	$\alpha$ 1 Globuline ‰	$\alpha$ 2 Globuline ‰	$\beta$ Globuline ‰	$\gamma$ Globuline ‰
F. Scheiffarth et G. Berg (27) . .	Électroph. sur davier	62,2-72,6	5,8-10,1	2,2-6'0	4,3-10,5	6,1-12,7
J. T. Edsall (9) .	Électroph. libre	59,6	7,05		12,0	21,35
Institut Razi . . .	Électroph. sur papier	55,77-59,74	6,5-8,24	7,3-8,78	13-14,6	11,4-14,96

Nous avons alors préparé 4 groupes de 5 lapins comme suit :

*Groupe I; Vaccin tétravalent* : 3 injections de 1 millilitre espacées de 27 jours avec les 4 antigènes, diphtérie, tétanos, coqueluche et vaccine. Les prises de sang sont faites 25 jours après chaque injection. D'après les courbes électrophorétiques obtenues : dans 20 p. 100 des cas, la teneur en  $\gamma$ -globuline est doublée ; dans 60 p. 100 des cas, cette globuline augmente de 60 à 80 p. 100 et enfin dans 20 p. 100 des cas il y a une augmentation en  $\gamma$ -globuline de l'ordre de 40 p. 100 ; la fraction  $\alpha_2$  globuline est également augmentée mais la fraction  $\alpha_1$  globuline est restée dans la limite physiologique (fig. 2).

*Groupe II; Vaccin trivalent* : 5 lapins sont vaccinés 3 fois avec 1 millilitre du même lot de vaccin que le groupe précédent, sans addition des corps élémentaires ; les autres conditions sont absolument les mêmes.

Pour ce groupe on note, dans 50 p. 100 des cas, une augmentation de 50 p. 100 en  $\gamma$ -globuline, dans 25 p. 100 une augmentation de 67 p. 100 en  $\gamma$ -globuline et pour 25 p. 100 du reste une augmentation en  $\gamma$ -globuline de l'ordre de 32 p. 100 seulement (fig. 3).

*Groupe III; Vaccin monovalent* : 5 lapins sont vaccinés 3 fois dans l'intervalle de 27 jours avec 1 millilitre d'une suspension de gel-corps élémentaires.

L'électrophorèse des sérums de ce groupe nous montre une augmentation de 14 à 85 p. 100 en  $\gamma$ -globuline (fig. 4)

Il faut se rappeler que nos études électrophorétiques ont porté sur les 2 premières saignées de ces 3 groupes de lapin ; ainsi les varia-

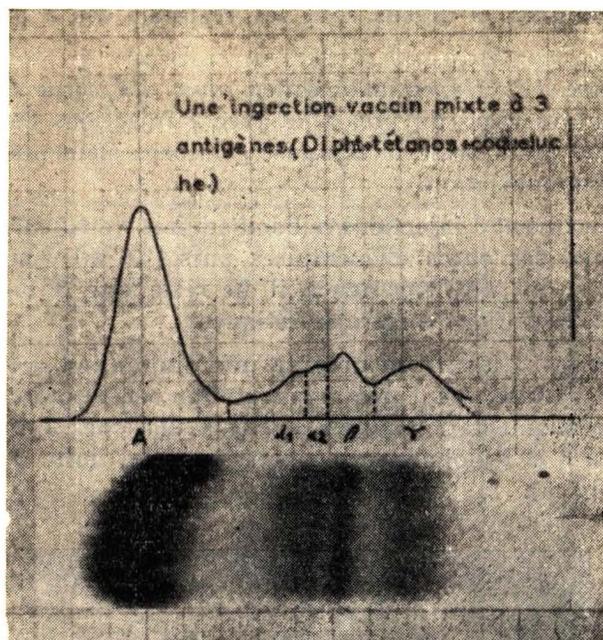


fig. 3

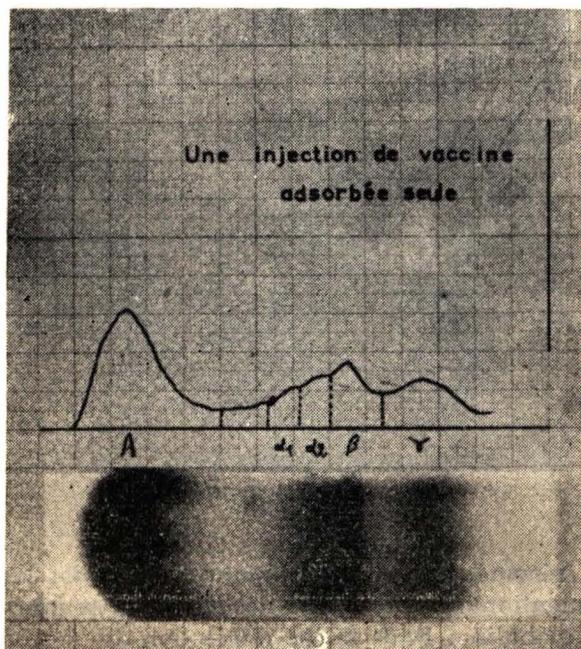


fig. 4

tions globuliniques ci-dessus sont les résultats des 2 premières injections.

*Groupe IV: Hyperimmunisation avec les corps élémentaires:* 5 lapins étant vaccinés au préalable avec 2 injections de 1 millilitre espacées de 20 jours, avec le composé gel-corps élémentaires servent pour l'hyperimmunisation.

Ils reçoivent 3 injections hebdomadaires de 0,5 ml, 1 millilitre et 2 millilitres des corps élémentaires purs ( $10^6$ /ml) par voie intraveineuse. A la fin de l'expérience il ne reste que 3 lapins vivants dont voici les variations électrophorétiques:

Chez les 3 lapins on observe une diminution appréciable en albumine, et parallèlement une augmentation sensationnelle en  $\gamma$ -globuline. Cette augmentation arrive à 130 p. 100 chez 2 lapins sur 3. La teneur en  $\alpha$  et  $\beta$ -globulines est presque à la limite normale physiologique (fig. 5).

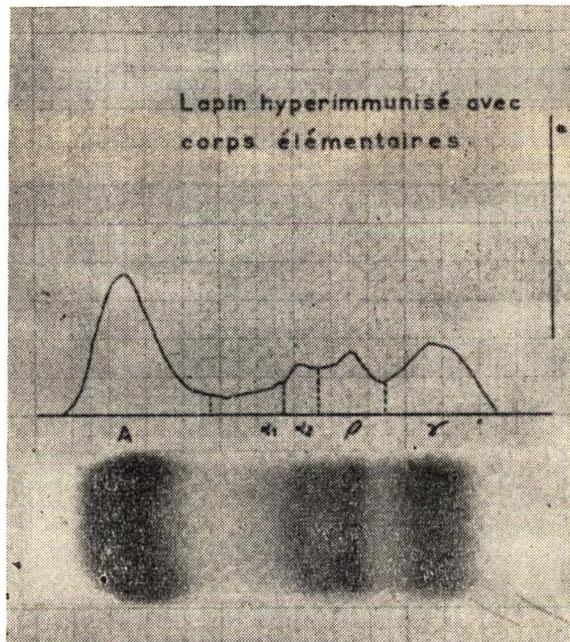


fig. 5

En résumé, au cours de l'immunisation des lapins avec les 4 antigènes mentionnés, on constate dès les premiers jours une augmentation en  $\gamma$ -globuline. Dans le cas d'injection de vaccine-gel seul, la

TABLEAU IV  
*Agglutinines du sérum des lapins vaccinés avec vaccins tétravalent  
 et monovalent*

Groupe des lapins	N° du lapin	1 <sup>re</sup> Injection				2 <sup>e</sup> Injection				3 <sup>e</sup> Injection						
		1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Groupe 1 Vaccin tétravalent	1	+	+	±		++	++	+	±	+++	++	++	+	+		
	2	+	+	±		++	+	+		+++	++	+	+			
	3	+	+	±		+++	+++	+	±	+++	+++	+++	+			
	4	+	±			++	++	+	±							
	5	++	+			++	++	+	±							
Groupe 3 Vaccin monovalent	1	++	+	+	+	+++	++	++	+	+++	+++	++	++	+	+	±
	2	+	+			++	++	±								
	3	++	++	+												
	4	+	±			+++	+++	+	+	+++	+++	++	+	+	±	
	5	+	+	±		++	++	+	±	+++	+++	++	++	+	±	

teneur en  $\gamma$ -globuline augmente de 100 p. 100 tandis que sans addition de la vaccine aux autres antigènes, la teneur en  $\gamma$ -globuline ne dépasse pas 67 p. 100. Chez les lapins hyperimmunisés avec les corps élémentaires, il y a une diminution nette de l'albumine accompagnée d'augmentation importante en  $\gamma$ -globuline (130 %).

*Pouvoir agglutinant des sérums anti-vaccine:* Dans les sérums des groupes 1, 3 et 4 des lapins utilisés pour la recherche électrophorétique on a vérifié également la teneur en agglutinines.

La suspension des corps élémentaires, diluée dans le tampon phosphate-acétique à pH = 7,2, à un titre de  $1,4 \times 10^6$  par millilitre, est la suivante (voir tableau IV).

On peut conclure du tableau IV que la teneur en agglutinines augmente progressivement, de même que l'anticorps neutralisant, au fur et à mesure que l'immunisation s'avance. Dans le cas de sérum antivaccine hyperimmun la teneur en agglutinines augmente considérablement; voir à ce propos le tableau V.

3<sup>e</sup> *Durée de l'immunité et rôle des injections de rappel.* — 3 lapins vaccinés 3 fois avec le virus de la vaccine adsorbé et ayant un indice de neutralisation qui varie de 40 à 100 sont gardés au repos. Après ce temps on les divise en 2 lots de 15 lapins.

TABLEAU V

*Agglutinines dans le sérum hyperimmun antivaccine*

N <sup>o</sup> du lapin	Dilutions de sérum									
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560
1 . . . . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
2 . . . . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
3 . . . . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-
Normal . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Normal . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Lot A.* — Ce lot est éprouvé par l'application de la lymphe vaccinale sur la peau scarifiée en présence de 2 témoins. Les vaccinés ne montrent aucune réaction spécifique après 2 semaines, tandis que les témoins ont déjà, dès le 5<sup>e</sup> jour, une large surface de pustules confluentes.

*Lot B.* — On saigne les 15 lapins de ce groupe, on mélange à parties égales les sérums et on cherche l'indice de neutralisation qui ne dépasse pas 3. Ces lapins reçoivent ensuite, comme injection de rappel, 0,5 ml de vaccine adsorbée, puis après 2 semaines on saigne de nouveau ces lapins, on mélange de la même manière leur sérum. Cette fois l'indice de neutralisation dépasse 20. Cette expérience montre la durée remarquable de l'immunité et le rôle de l'injection de rappel comparable à celle des antigènes diphtérique et tétanique.

*4° Durée de la validité du vaccin :* On vaccine par voie sous-cutanée 20 lapins avec 0,5 ml de vaccin associé diphtérie-vaccine, préparé depuis 9 mois et conservé à + 4° C. On éprouve tous ces lapins ainsi que 2 témoins par application de lymphé vaccinale sur le derme scarifié. Les 2 témoins montrent des pustules confluentes le 5<sup>e</sup> jour alors que, sur 20 lapins vaccinés, on observe seulement quelques pustules isolées sur 2 lapins, les 18 autres sont absolument indemnes. Ce qui prouve l'efficacité du vaccin 9 mois après sa préparation.

## DISCUSSION

Il est bien évident que la variole est à l'heure actuelle encore une menace pour les pays d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine ; le nombre des cas de variole dans le monde entier a été estimé à 400 000 avec une mortalité de 30 à 60 p. 100 (17). On sait que la vaccination en masse est le seul moyen de prévenir la maladie ; les complications dues à cette vaccination collective ont été étudiées en détail dans les 20 dernières années. Notons, en passant, surtout les perturbations oculaires et orales, l'eczéma et la gangrène vaccinale, la vaccine généralisée et enfin les accidents d'encéphalite post-vaccinale survenant à la suite de la vaccination jennérienne. Ces accidents sont rares mais certains d'entre eux peuvent survenir des semaines et même des mois après la vaccination.

Parmi les mesures sanitaires récemment recommandées, l'emploi des  $\gamma$ -globulines spécifiques utilisées par *Kempe* (16) semble être efficace dans le traitement et la prophylaxie de ces complications. Il s'agit probablement des anticorps antivarioliques surajoutés aux  $\gamma$ -globulines naturelles qui jouent un rôle spécifique dans le traitement des complications vaccinales.

Il est donc intéressant de connaître l'évolution des  $\gamma$ -globulines au cours de l'immunisation et de l'hyperimmunisation. Nous

avons étudié ceci avec un résultat intéressant. Le taux des  $\gamma$ -globulines augmente avec l'injection de virus vaccinal adsorbé sur l'hydroxyde ou le phosphate d'alumine, le nombre d'injections influe sur l'élaboration de cette globuline; il n'y a aucun antagonisme dans l'association des antigènes diphtérique, tétanique, coquelucheux et vaccinal. Les injections de rappel, dans le cas du virus vaccinal adsorbé, ont le même effet que dans le cas de diphtérie ou de tétanos, c'est-à-dire l'augmentation appréciable de l'anticorps spécifique. Nous étions en train de rédiger cette note quand nous avons eu connaissance d'un travail de MM. Falchetti et Mérieux (11) sur l'augmentation progressive du taux des anticorps antivaccinaux au cours de l'immunisation des vaches.

Tenant compte des complications dues à la vaccination jennérienne et aux résultats remarquables du vaccin adsorbé sur gel et associé aux autres vaccins utilisés chez les jeunes enfants, nous pensons utile de lancer l'idée de la vaccination associée contre la variole, la diphtérie, le tétanos et la coqueluche. Ce vaccin associé peut être utilisé chez les très jeunes enfants; l'immunité peut être renforcée avec les injections de rappel et surtout à la suite de cette vaccination de base, la vaccination jennérienne peut être effectuée avec le maximum de succès sans aucun danger, grâce à la présence de l'anticorps spécifique dans l'organisme.

### RESUME

La technique de préparation des corps élémentaires et d'adsorption sur l'hydroxyde d'alumine a été décrite. L'étude électrophorétique et immunologique a été faite sur des lots de lapins immunisés avec le virus vaccinal adsorbé sur le gel d'alumine seul ou associé aux antigènes diphtérique, tétanique et coquelucheux. Les anticorps antivarioliques augmentent avec le nombre des injections. Les injections de rappel renforcent l'immunité et l'élaboration des anticorps spécifiques.

Il est recommandé d'introduire le vaccin antivariolique dans l'association des vaccins utilisés chez les très jeunes enfants.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) Baltazard (M.), Seydian (B.) et Chamsa (M.). — *II<sup>e</sup> Congr. Internat. Standard. Immunobiologie*, 1956, 227.
- (2) Barr (M.) et coll. — *Brit. exp. Path.*, 1957, 38, 312.
- (3) Boulter (E. A.). — *J. of Hyg.*, 1957, 55, 502.
- (4) Budding (G. J.) et Randall (C. C.). — 1951, 53, 152.
- (5) *Bull. Org. Mond. Santé*, 1952, 5, 127.
- (6) Collier (L. H.), McClean (R.) et Vallet (L.). — *J. of Hyg.*, 1955, 53, 513.
- (7) Craigie (J.). — *Brit. J. exp. path.*, 1932, 13, 259.
- (8) Delpy (L. P.), Rafyi (A.) et Mir Chamsy (H.). — *Bull. Ac. Vét.*, 1951, 24, 62.
- (9) Edsall (J. T.). — *Advance in Protein Chemistry*, 1947, 3, 383.
- (10) Enselme (J.) et Dreyfus (J. Ch.). — *Sémiologie électrophorétique des protéines du plasma sanguin*, 1955.
- (11) Falchetti (M.) et Mérieux (J.). — *Rev. Path. Comp.*, 1958, 696, 399.
- (12) Gispén (R.). — *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1953, 19, 157.
- (13) Goodpasture (E. W.) et Buddingh (G. J.). — *Science*, 1933, 78, 371.
- (14) Goodpasture (E. W.), Woodruff (A. M.) et Buddingh (G. J.). — *Amer. J. Path.*, 1952, 8, 271.
- (15) Goodpasture (E. W.) et Buddingh (G. J.). — *Amer. J. Hyg.*, 1935, 21, 319.
- (16) Kempe (C. H.) et Benenson (A. S.). — *Pediat clin. North America*, 1955, 2, 19.
- (17) Lundström (R.). — *J. of Pediat.*, 1956, 49, 129.
- (18) Overman et Tamm. — *Virology*, 1957, 3, 173.
- (19) Parker (R. F.) et Rivers (T. M.). — *J. exp. Med.*, 1935, 62, 65.
- (20) Peltier (M.), Durieux (C.), Jonchère (H.) et Arquie (E.). — *Bull. Ac. Méd. Paris*, 1939, 121, 657.
- (21) Peltier (M.) et Durieux (C.). — *Ann. Inst. Past.*, 1940, 65, 146.
- (22) Rafyi (A.) et Mir Chamsy (H.). — *Br. Vet. J.* 1956, 112, 541.
- (23) Rafyi (A.) et Mir Chamsy (H.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1957, 244, 2560.
- (24) Ramon (G.), Richou (R.), Thiéry (J. P.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1949, 228, 1678.
- (25) Ramon (G.), Richou (R.), Thiéry (J. P.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1949, 229, 278.
- (26) Ratner (B.) et Untracht (S.). — *Amer. J. Dis. Child.*, 1952, 83, 309.

- (27) Scheiffarth (F.) et Berg (G.). — *J. Exp. Med.*, 1952, 119, 550.  
(28) Smadel (J. E.) et Wall (M. J.). — *J. Exp. Med.*, 1937, 66, 325.  
(29) Weichsel (E. G.), Herra (E. G.) et Sunnyside (L. I.). — *J. of Pediatrics*, 1957, 50, 1.  
(30) Westwood (J. C. N. et coll.). — *J. of Hyg.*, 1957, 55, 123.  
(31) Wunderly (C. H.). — Électrophorèse sur papier, 1956.  
(32) Yaoi (H.). — *Jap. J. Exp. Med.*, 1939, 17, 295.  
(33) Yaoi (H.). — *Paris Méd.*, 1940, 1, 31.