

## Faut-il vacciner contre la variole ?

COMPTE-RENDU PAR A.M. GILLET

Le samedi 6 septembre 2003, s'est tenu dans l'Amphithéâtre de l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées (IMTSSA) dans le cadre des X<sup>e</sup> Actualités du Pharo et de l'Hôpital d'Instruction des Armées A. Laveran un forum-débat intitulé « Faut-il vacciner contre la variole ? ».

*Modérateur:*

- Médecin en chef Jean-Paul Boutin (chef du Département d'épidémiologie et de santé publique de l'IMTSSA, Marseille ;

*Experts :*

- Médecin en chef Daniel Garin (Maître de recherche, CRSSA, Grenoble) ;

- Dr Robert Drillien, chercheur à l'INSERM, Strasbourg.

- Dr Bernard Meignier, docteur en médecine vétérinaire, responsable du développement des vaccins chez Aventis Pasteur.

Nous présentons la retranscription de ces débats réalisée à partir de leur enregistrement et de notes prises en séance. Celle-ci a été réalisée par Madame Anne-Marie Gillet, responsable de la Cellule communication à l'IMTSSA.

La Rédaction de Médecine Tropicale a jugé que l'actualité et la richesse de l'information justifiait amplement une publication rapide sans que chaque intervenant ait eu connaissance du texte. Elle espère que chacun retrouvera l'esprit sinon la lettre de ses propos. Dans le cas contraire, elle leur présente par avance ses excuses et s'engage à publier les éventuelles mises au point qui lui seront adressées.

LA RÉDACTION

### **Médecin en chef Jean-Paul Boutin, chef du Département d'épidémiologie et de santé publique de l'IMTSSA, Marseille.**

L'intitulé du débat est volontairement provocateur et nous aimerions après deux présentations liminaires ouvrir la discussion sur ce que devrâit être la lutte contre la variole en cas d'une ré-émergence forcément agressive et volontaire du virus. De fait, la plupart d'entre nous n'a jamais eu à traiter la maladie au cours de son exercice professionnel, hormis quelques uns de nos « anciens » qui ont participé à l'éradication de la variole, dont l'OMS s'apprête à fêter le 25<sup>e</sup> anniversaire. Ainsi, le vaccin utilisé jusque dans les années 1970 a été le seul contact que les plus âgés d'entre nous ont eu avec la variole. Or, nous avons la chance, au sein du Service de santé des armées d'avoir un spécialiste qui consacre une grande partie de ses activités depuis quatre ans au problème de la variole. Daniel Garin, maître de recherche au CRSSA de Grenoble va exposer le passé et le présent de la maladie. Il sera suivi de Robert Drillien, chercheur à l'INSERM de Strasbourg qui présentera les perspectives d'un vaccin de troisième génération.

**Médecin en chef D. Garin, Maître de recherche, CRSSA, Grenoble.** La variole a longtemps constitué l'un des pires fléaux infectieux qu'ait connus l'humanité. Il existait deux formes graves, l'une hémorragique, et l'autre confluyente constamment mortelle. Dans la forme courante, les survivants, entre un tiers et deux tiers des malades, présentaient de graves séquelles, entre autre la cécité. Cette maladie, apparue en Europe au Moyen âge avec le développement des premiers moyens de communication entre les continents, va tuer très rapidement jusqu'à 10% de la population européenne. Il faut savoir que les chinois avaient déjà cherché à protéger leurs soldats grâce à des instillations nasales réalisées à partir de croûtes de varioleux. Les survivants étaient déclarés aptes au combat ! Cette technique de variolisation, redécouverte par les turcs, va par la suite être importée en Europe par la femme d'un ambassadeur britannique qui avait elle-même contracté la variole. L'inoculation par scarification cutanée s'est ainsi généralisée mais elle entraînait 1 à 2% de mortalité et générait la transmission de staphylocoques. La lutte contre la variole prend son essor grâce aux travaux de Jenner. Ce dernier remarque que les fermières deviennent réfractaires à la variole lorsqu'elles ont contracté la « variole de la vache » ou cow-pox, maladie des pis de cet animal, transmissible à l'espèce humaine chez qui elle provoque une infection cuta-

née bénigne. En 1796, il démontre la réalité de cette protection, vis à vis du virus de la variole, chez des sujets inoculés par le virus de la vache : c'est la découverte de la vaccination jennérienne par scarification qui va permettre l'éradication de la variole.

En 1980, l'OMS a pu déclarer que la variole était éradiquée : « We declare solemnly that the World and all its peoples have won freedom from smallpox... ».

Cependant, en 1998 l'optimisme de cette déclaration enthousiaste n'est plus de mise, comme le sous-entend une réflexion d'un dirigeant du FBI, R. Campana « ... God help us if it's smallpox ». Ainsi en deux siècles exactement, une maladie à l'origine d'un des plus beaux succès de la médecine moderne est redevenue un cauchemar potentiel du genre humain.

L'origine de ce revirement est la découverte d'un programme secret de développement d'armes biologiques mené en ex-URSS. Parmi la vingtaine de virus militaires, la variole figurait au premier rang avec une souche India sélectionnée pour sa très forte mortalité (plus de 50% dans les populations qu'elle avait touchées historiquement). Ce programme a été réalisé par l'ensemble du complexe militaro-industriel de développement des armes biologiques soviétique « Biopreparat », à l'insu des services de renseignements de l'Ouest, et plus particulièrement par le centre de Vector où plusieurs tonnes de virus ont été produites. Même si des doutes subsistent sur la réalité de ces informations, un fait nouveau est venu renforcer les craintes de l'utilisation d'un pox virus comme arme biologique : la création, par hasard, par une équipe australienne, d'une souche de pox virus génétiquement modifiée particulièrement pathogène. En effet l'introduction d'une IL-4 (interleukine 4) entraîne une « bascule » vers une réponse qui favorise la production d'anticorps Th2 au détriment de la réponse cellulaire (Th1). La souche devient ainsi plus pathogène. [Ceci dit, la pathogénicité de la variole elle-même est suffisante pour que l'on cherche à l'améliorer].

Une des caractéristiques des orthopox virus est qu'ils sont très stables dans l'environnement et il n'est pas nécessaire de lyophiliser le produit. Pour couvrir une surface de 1 km<sup>2</sup> une quantité de variole liquide de 3,5 kg suffit. Les experts qui ont mis en doute les quantités produites par l'ex-URSS étaient des médecins hospitaliers qui n'étaient peut être pas au fait des capacités industrielles du programme. En effet, lors du développement industriel d'armes biologiques, il existe trois phases : la première est une phase de

sélection biologique à la portée de n'importe quel biologiste hospitalier, la deuxième est la phase de développement de production en armes massives qui fait appel à des process industriels, la troisième est la phase de militarisation qui consiste à délivrer l'agent en conservant la pathogénicité, ce qui incombe aux ingénieurs. Les équipements de l'ex-URSS, répartis sur une vingtaine de sites, comportaient d'énormes fûts (600 litres), dans des installations trois à quatre fois plus importantes que celles d'Aventis Pasteur à Lyon. Il est donc concevable de penser que les soviétiques ont produit de très grande quantité de variole. Les laboratoires P4 de Novossibirsk occupaient des surfaces de 1000 m<sup>2</sup> sur six étages, sur deux bâtiments, alors qu'en France nous disposons de 200 m<sup>2</sup> de P4 ! L'entretien de ces lieux n'a pas été fait depuis vingt ans et leur état s'est détérioré. Les scaphandres très anciens, sont bien moins performants et bien moins pratiques que ceux du CRSSA ou du P4 de Lyon.

Dès l'éradication de la variole, s'est posé le problème de la ré-émergence du monkeypox, variole du singe, très proche de la variole mais avec une mortalité inférieure et certaines particularités cliniques comme des adénopathies inguinales et axillaires importantes. La crainte de certains scientifiques que l'éradication de la variole ne laisse une niche écologique dans laquelle se précipiterait le monkeypox ne s'est pas vraiment réalisée. Il existe des épidémies régulières au Congo et l'on a eu la surprise de voir cette maladie émerger cette année aux Etats-Unis. En effet, les agriculteurs, gênés par les chiens de prairie qui font des trous dans les pâturages occasionnant des fractures chez les bovins et les chevaux, se débarrassent de ces rongeurs à l'aide « d'aspirateurs ». Ces animaux ont été commercialisés comme animaux de compagnie mis en contact avec des animaux importés d'Afrique : les Cricétomes (rats de compagnie intelligents, joueurs et affectueux). Ces animaux étaient porteurs du monkeypox, Et les chiens de prairie, contaminés à leur contact ont eux-mêmes contaminé les familles dans lesquelles ils étaient accueillis. Un seul animal a même contaminé, à lui tout seul, 18 personnes « *high spreading dog* ». Les chiens de prairie se sont révélés de bons vecteurs d'une épidémie qui a touché 41 personnes.

Les autorités françaises, conscientes du risque posé par la variole, ont fait un point de situation en 2001 : pas de vaccins, pas de kits diagnostics, pas de possibilités thérapeutiques. Toutefois, des stocks historiques (vaccin Pourquier) étaient conservés par l'AFSSAPS et par les armées, ce qui représentaient 5,5 millions de doses. Aventis, interrogé, a mentionné l'existence d'un « vrac » qui pouvait être reconditionné pour produire cinq millions de doses. Un certain nombre de problèmes se posaient : la non conservation de l'AMM, le déficit en solvants (pour la formulation lyophilisée détenue par le ministère de la santé), la disparition des vaccinostyles. Une solution existait : augmenter le nombre de doses de façon artificielle en diminuant la quantité utilisée. Plusieurs options ont été prises, la dilution et l'utilisation d'une aiguille bifurquée qui permet de multiplier le nombre de doses par 10 (1 seul microlitre est nécessaire au lieu de 10). Pour obtenir l'AMM, il a fallu faire la preuve de l'efficacité de cette nouvelle technique d'inoculation et de ce changement de la quantité de virus. Celle-ci a été réalisée à l'aide du modèle cynomolgus polyvacciné développé par le CRSSA (comparaison de l'efficacité des souches sur la réalisation de la prise vaccinale qui historiquement est la seule qui compte). Chaque singe a été inoculé 32 fois de façon aléatoire en changeant la technique d'inoculation par des manipulateurs différents. Nous avons pu conclure qu'il y avait une équivalence des deux vaccins (Pourquier et Aventis) et des deux modes d'injection. L'utilisation de l'aiguille bifurquée permettait un gain de temps (1/3 à la réalisation) et ne présentait pas l'effet « manipulateur » observé avec la scarification. Dès lors la mise en place d'un programme national de vaccination de masse était possible. Tout ceci a eu pour conséquences l'achat des

vaccins d'Aventis, la généralisation de l'aiguille bifurquée et une augmentation (théorique) du nombre de vaccins détenus désormais par la France de 5 millions de doses en 2001 à 95 millions en 2002.

Le plan français est une réponse graduée en cinq phases :

- **Niveau 0** (actuel) : vaccination de l'équipe dédiée vaccinale (150 personnes vaccinées).
- **Niveau 1** (menace confirmée) : vaccination des équipes zonales (500 à 1000 personnes vaccinées).
- **Niveau 2** (un cas extérieur) : vaccination des intervenants (4 millions de personnes).
- **Niveau 3** (un cas en France) : vaccination en anneau autour du malade isolé.
- **Niveau 4** (nombreux foyers) : vaccination générale de la population.

En France, la vaccination avait été interrompue pour les primo vaccinés en 1979 et pour les rappels en 1984. Toutefois un texte (Art L 3111-8 du CSP) prévoyait qu'en cas de menace d'épidémie, la vaccination obligatoire pouvait être rétablie et que les dommages imputables à la vaccination étant pris en charge par l'État (Art L 3111-9 du CSP). Une fois l'ATU de cohorte établie, une liste de personnes a été vaccinée après l'avis favorable de la commission d'AMM (06/02/03).

La question a été ensuite de savoir s'il existait une immunité persistante contre la variole et s'il n'était pas préférable pour la vaccination de sélectionner des personnes présentant une immunité résiduelle afin de limiter la réplication du virus et les complications induites par la vaccination. Chez 45 % de la population une immunité humorale persiste (mais la méconnaissance du taux protecteur empêche une bonne interprétation de ce chiffre), l'immunité cellulaire immédiate (ELISPOT) est de 20 % et l'immunité cellulaire retardée (lymphoprolifération) est de 70 %. Le nombre de rappels n'influe pas sur l'immunité, en revanche l'immunité résiduelle chute chez les plus de 50 ans.

Le plan français a été mis en œuvre et 132 personnes ont été vaccinées en quatre séances. On peut noter l'absence de complications, excepté pour une jeune femme qui a fait une réaction inflammatoire très importante avec une lésion de 20 mm (ce qui a fait craindre pendant quelques jours l'apparition d'un vaccinia necrosum).

Afin de traiter ces complications vaccinales, il est nécessaire de disposer d'immunoglobulines spécifiques. Or les stocks historiques n'existaient plus, ni à l'OMS, ni en France, ils avaient été détruits car ils étaient contaminés par le virus de l'hépatite B. Tous les sujets vaccinés ont fait l'objet de plasmaphérèse, nous disposons d'immunoglobulines utilisables par voie intraveineuse.

Les vaccins de première génération ont été produits dans des conditions qui ne correspondent pas aux normes actuelles. C'est la raison pour laquelle des vaccins dits de deuxième génération sont produits en culture cellulaire par des producteurs comme Acambis Baxter, Aventis et Bavarian Nordic. La production a été réalisée avec deux souches, la souche Lister européenne et la souche New York City Board of Health américaine. Les trois types de cellules utilisées (Vero, MRC5 et CEF) sont compatibles avec la production d'un vaccin. Toutefois, même si ce vaccin de deuxième génération présente des avantages au niveau de la qualité de la production et de la rigueur des contrôles, il n'en reste pas moins dangereux. Voici un aperçu de la liste des complications :

- les atteintes du système nerveux central avec des encéphalites présumées différentes entre les enfants de moins et de plus de deux ans ; en fait au regard des descriptions cliniques, il est impossible de faire la différence. Lorsqu'une primo immunité existe, le risque de virémie est moindre et les complications moins importantes ;

- la complication la plus fréquente était l'autoinoculation par grattage, particulièrement dangereuse pour l'œil pour lequel il n'existe pas de disposition thérapeutique validée. Toutefois un collyre a été développé avec le cidofovir, antiviral efficace sur les orthopox *in vitro* sur le modèle souris ;

- dans la vaccine généralisée, la virémie provoque un deuxième rash cutané limité au stade de la papule, relativement peu dangereux. Les enfants avaient une petite fièvre et guérissaient rapidement. Néanmoins, une deuxième forme plus grave provoquait l'apparition de phlyctènes et de pustules traitées alors par des immunoglobulines. Cette complication avait peu d'incidence sur la mortalité ;

- l'eczéma vaccinatum induisait quant à lui la mortalité la plus importante (10 à 40%). Lorsqu'un enfant déclenchait un eczéma, le virus profitait de cette absence d'intégrité cutanée pour se répliquer sur de très grandes surfaces ;

- le vaccinia necrosum apparaissait chez des patients qui présentaient une immunodépression de type cellulaire (essentiellement). Dans ces cas, le virus continue à se répliquer sans être arrêté jusqu'au décès du patient ;

- enfin, la vaccine du fœtus est une complication rare avec très peu de cas cliniques décrits. La grossesse est une contre-indication à la vaccination dans le cadre de la prévention mais pas dans le cadre d'un contact avec la variole, le coût risque/bénéfice restant favorable à la vaccination.

Certains experts s'étaient déclarés favorables à la vaccination de l'ensemble de la population. Dans un tel schéma, le nombre de complications et le taux de décès feraient lui-même le succès d'une attaque bioterroriste ! Il est donc inutile de vacciner l'ensemble de la population. Mieux vaut concentrer nos efforts sur le développement d'un vaccin de troisième génération. Je laisse pour cela la parole à Robert Drillien.

**Dr R. Drillien, chercheur à l'INSERM, Strasbourg.** La question que je souhaite adresser est de savoir si l'on peut remplacer un vaccin de deuxième génération, qui sera bientôt disponible mais sera vraisemblablement imparfait, par un nouveau vaccin dit de troisième génération.

Dans un premier temps, je présenterai les cibles visées par les systèmes immunitaires à savoir les particules virales et les cellules infectées. Puis j'évoquerai les mécanismes immunitaires de la protection du moins ce que l'on en sait à l'heure actuelle. Enfin, nous envisagerons les vaccins alternatifs.

Tout d'abord, permettez-moi de faire quelques rappels. La famille des poxvirus comprend plusieurs genres dont le plus important pour l'homme est le genre orthopoxvirus. On retrouve chez les orthopoxvirus :

- le virus de la variole ;
- le virus de la vaccine, agent actif du vaccin antivariolique (virus vivant atténué pour l'homme pour lequel aucun hôte naturel n'est connu) ;
- le monkeypox ;
- le cow-pox ;
- le rabbitpox, souche de vaccine assez pathogène chez le lapin ;
- le camelpox, cousin le plus rapproché du virus de la variole au vu de ses séquences nucléotidiques ;
- le poxvirus de la souris (ectromélie).

Tous ces virus partagent des séquences nucléotidiques très voisines. Il existe entre 95 à 98% d'homologie en acides aminés pour les 2/3 des protéines codées par les différents orthopoxvirus. Ceci explique qu'avec le virus de la vaccine, il est possible de protéger contre la variole, le monkeypox, le cow-pox, le poxvirus du chameau et de la souris. Si bien que nous disposons de nombreux modèles expérimentaux animaux pour évaluer un vaccin anti-variologique.

Quelques mots sur l'évolution des orthopoxvirus. Le génome du cow-pox est certainement le plus grand parmi les orthopoxvirus et il est probable qu'un ancêtre du cow-pox ait été l'an-

cêtre des virus de ce genre. Par ailleurs, tous les orthopoxvirus partagent des propriétés communes au niveau de la morphologie, de la stratégie de réplication et de l'assemblage. Ces virus ont une structure parallélépipédique et se présentent sous deux formes : une forme non enveloppée et une forme enveloppée d'une membrane supplémentaire. Ainsi les antigènes qui sont exposés à la surface du virus non enveloppé ne sont pas les mêmes que ceux du virus enveloppé. Il existe donc deux cibles différentes de l'immunité vis-à-vis des particules virales. Les génomes sont constitués d'un ADN double brin qui fait environ 190 kbp pour l'ensemble des orthopoxvirus. Ils codent jusqu'à 200 protéines différentes, si bien que les antigènes potentiels et les cibles potentielles de l'immunité dirigée contre les cellules infectées sont très nombreux. Le virus se multiplie dans le cytoplasme et s'adapte parfaitement à son hôte.

Quelques mots sur le mode de formation des virus enveloppés et non enveloppés. C'est à l'intérieur de sites cytoplasmiques, appelés viroplasmes qu'a lieu l'assemblage des particules sphériques non infectieuses qui vont, par une maturation de la partie interne du virus, donner les formes parallélépipédiques intracellulaires qui sont les formes infectieuses du virus. Cette forme non-enveloppée est le mode de transmission d'hôte à hôte. Le mode de transmission à l'intérieur de l'organisme est, quant à lui, la forme enveloppée (l'enveloppe additionnelle est double et provient de la fusion de l'appareil de Golgi autour de la particule). La forme doublement enveloppée migre vers la membrane cellulaire où l'une des deux enveloppes fusionne avec la membrane plasmique pour donner un virus extracellulaire qui ne possède plus qu'une enveloppe supplémentaire.

Les orthopoxvirus codent des protéines qui ont pour effet d'inhiber l'immunité innée et l'immunité acquise de l'hôte. Même si peu d'études ont été réalisées pour caractériser ces fonctions chez le virus de la variole, une analyse des séquences permet de distinguer des protéines homologues des protéines connues chez d'autres orthopoxvirus qui fixent le TNF, des protéines solubles qui neutralisent l'IL18, l'IL-1, l'IFN- $\gamma$  ou l'IFN- $\beta$  ou l'activité du complément de l'hôte. Ainsi le virus de la variole code pour des protéines qui interfèrent avec l'activité des anticorps, avec l'activité des cellules cytotoxiques, avec l'activité inflammatoire.

La protéine anti-complémentaire du virus de la variole empêche l'hémolyse des globules rouges par le complément humain de façon spécifique. Cette spécificité d'espèce vis-à-vis de l'homme, démontrée *in vitro*, pourrait expliquer en partie pourquoi le virus de la variole est un agent pathogène naturel pour l'homme alors que le virus de la vaccine ne l'est pas.

D'autres expériences effectuées chez l'animal donnent une idée des éléments importants pour développer une immunité contre les orthopoxvirus. Dans les années 70, il a été montré que les anticorps dirigés contre le virus enveloppé sont protecteurs contre l'infection par le rabbitpox (assimilé au virus de la vaccine) tandis que les anticorps dirigés contre les virus non enveloppés ne le sont pas. Ceci explique pourquoi on a accordé pendant longtemps une importance à l'enveloppe supplémentaire.

L'expérience humaine de la variole est insuffisante pour bien cerner les paramètres importants de l'immunité car à l'époque où la variole prévalait, les connaissances sur le système immunitaire n'étaient pas suffisamment développées. Toutefois, quelques études rétrospectives dont les résultats sont à prendre avec prudence ont montré qu'une association d'anticorps antivaccine lors de la vaccination protégerait mieux de la transmission de la variole que la vaccination seule. D'autres études ont montré que la présence d'anticorps neutralisants chez les sujets vaccinés est corrélée avec la protection contre la variole. Enfin, des expériences chez la souris suggèrent qu'un transfert passif d'anticorps anti-vaccine est susceptible de protéger les animaux contre une épreuve avec une souche virulente du virus de la vaccine mais que l'immunité de type cellulaire doit se mettre en place pour permettre une survie lors d'infections sublétales et en absence de vaccination préalable.

Ces informations amènent à penser que l'immunité humorale est importante pour développer une immunité contre la variole, tandis que l'immunité cellulaire est vraisemblablement importante pour développer une immunité naturelle en l'absence de vaccination contre la variole. Un vaccin de troisième génération devrait induire ces deux éléments, à savoir des anticorps et une immunité de type cellulaire.

À l'heure actuelle, des chercheurs essaient de développer des vaccins sous-unitaires à partir de gènes codant pour des protéines du virus. Mais ces vaccins présentent des inconvénients ; la protection nécessite de nombreux rappels, et l'immunité est surtout humorale. Une autre stratégie consiste à développer des vaccins ADN capables d'induire une immunité humorale et une immunité cellulaire. Des expériences menées chez l'animal montrent que l'ADN nu injecté par voie intramusculaire (*gene gun*) peut le protéger d'une épreuve avec le virus de la vaccine. Les gènes protecteurs sont semblables à ceux évoqués jusqu'ici. Il s'agit de gènes qui codent des protéines d'enveloppe des virus ou bien qui codent des protéines de la surface des virus non enveloppés. En associant quatre de ces gènes dans des modèles expérimentaux chez la souris, la protection obtenue est meilleure qu'avec le virus de la vaccine. La question qui reste posée est de savoir si les vaccins ADN vont pouvoir être utilisés chez l'homme.

Un dernier type de vaccin ferait appel à un virus de la vaccine atténué d'avant age, soit pour avoir une réplication plus limitée, soit pour ne plus avoir de réplication du tout. Des études ont été réalisées dans de nombreux laboratoires pour obtenir des souches utilisables pour de nouveaux vaccins antivarioliques. À Strasbourg, nous avons isolé un mutant du virus de la vaccine, dérivé de la souche Copenhague. Ce virus avait perdu 18 000 paires de bases sur les 190 000 paires de bases du génome. Et nous avons observé que sur ces 18 000 paires de bases, l'absence de deux gènes, C7L et K1L, rend le virus incapable de se multiplier en cellules humaines.

D'autres chercheurs ont isolé des souches semblables. Une équipe de recherche en Allemagne a isolé une souche appelée MVA, dérivée du virus de la vaccine, et qui est modifiée dans une cinquantaine de gènes (par délétions ou mutations ponctuelles). Cette souche a été utilisée pendant une dizaine d'années en Allemagne mais les sujets inoculés avec ce vaccin n'ont pas été exposés à la variole. Une autre souche a été développée par la société Virogenetics en association avec Aventis Pasteur (souche NYVAC). Cette souche possède une délétion de douze gènes qui comprend les deux gènes de spectres d'hôtes décrits précédemment qui sont importants pour la multiplication chez l'homme et d'autres gènes ont été délétés de façon très ciblée. Elle ne donne pas de réplication aux sites d'inoculation. Une autre souche développée par Baxter en Autriche est délétée d'un seul gène et se multiplie uniquement sur les cellules de complément qui codent pour ce gène (uracile DNA glucosylase). Toutes les souches évoquées sont intéressantes dans la mesure où elles protègent la souris contre des inoculations d'épreuve avec le virus de la vaccine virulent. Il n'existe pas pour l'instant d'études avec le monkeypox et le virus de la variole. En général, il y a absence de multiplication significative de ces souches chez les sujets vaccinés et surtout, on peut s'attendre à ce qu'il y ait une absence de dissémination accidentelle comme c'est le cas pour le vaccin actuel. La souche MVA est non pathogène chez les animaux immunodéprimés, si bien que l'on peut envisager une vaccination chez des sujets avec une immunodépression.

Voyons à présent quelles sont les difficultés que l'on peut envisager pour l'utilisation de ces souches atténuées ou défectives. Il faut utiliser des doses vaccinales plus importantes puisque les souches sont non répliquatives. De façon générale des doses plus importantes sont inoculées pour essayer d'atteindre la dose critique d'antigènes nécessaires pour immuniser. Chez l'animal, on peut utiliser une seule dose pour obtenir une protection contre une inoculation d'épreuve sur des durées relativement limitées (un mois après la vaccination). La question se pose de savoir si des doses uniques

suffiront chez l'homme, ou s'il faudra un rappel. Je pense personnellement qu'il faudra un rappel ou deux. Si l'on désire aller plus avant avec ces souches ou avec les vaccins sous-unitaires, il faudra investir dans un travail important de recherche fondamentale, sachant que ces recherches devront être poursuivies par un travail de développement vaccinal qui peut être relativement long et coûteux.

**Pr J.P. Boutin.** La vaccination contre la variole est d'actualité et plusieurs états (Union Européenne, G8, Mexique) se sont dotés de plans d'intervention, avec ou sans recours à la vaccination, au cas où, ce qui n'est à l'heure actuelle qu'un risque, ne se transforme en menace. Au-delà de la variole, l'épidémie de monkeypox qui vient d'avoir lieu aux États-Unis s'est traduite par une utilisation prophylactique de la vaccine pour limiter l'extension autour des malades (vaccination en anneau). Les États-Unis ont par ailleurs décidé de vacciner contre la variole les forces armées et un certain nombre de personnels civils de première ligne. À l'heure actuelle, très peu de pays disposent de vaccins de première ou deuxième génération et la question qui se pose est de savoir s'il est opportun de se lancer dans la fabrication de vaccins de troisième génération. Si des vaccins hyper atténués présentent un intérêt pour le futur en matière de sécurité sanitaire, la dose injectable sera augmentée et des rappels de vaccination seront nécessaires. Quelles en seront les conséquences d'un point de vue pratique, logistique et industriel ?

**Dr B. Meignier, docteur en médecine vétérinaire, responsable du développement des vaccins chez Aventis Pasteur.**

Le succès de la vaccination antivariolique telle qu'elle a été pratiquée reposait sur le fait que la dose vaccinale était très réduite. Il fallait 100 000 particules infectieuses pour vacciner une personne. Aujourd'hui, la dose vaccinale devrait être de l'ordre de 10 à 100 millions de particules infectieuses. Se pose dès lors un problème d'ordre pratique. Ces vaccins (issus des virus de la vaccine modifiés ou pas) sont réalisés dans des cultures de cellules et le nombre de particules faites par une cellule donnée ou par une culture cellulaire d'un volume donné, est sensiblement le même. Le problème auquel on serait confronté, en l'état actuel des données, est qu'il faudrait, pour faire des vaccins de troisième génération, des installations 100 à 1 000 fois plus grandes que celles utilisées pour la fabrication des vaccins de deuxième génération. Cet obstacle à la fabrication de vaccins de troisième génération peut n'être que relatif si l'on admet que ces vaccins ne sont pas destinés à une vaccination à vocation universelle. Si la taille du marché est réduite, l'industrie peut satisfaire la demande. D'autres pistes existent, par exemple la réduction de la dose par vaccin, laquelle entraîne une réduction de la charge qui repose sur les fabricants pour satisfaire un marché. Qui plus est, les travaux des chercheurs montreront peut-être que l'on peut, avec les constructions génétiques, améliorer le pouvoir immunogène et réduire encore les doses. Le problème n'est donc pas absolu mais relatif, mais il faut garder à l'esprit que les vaccins de troisième génération ne seront disponibles que demain, voire après demain.

**Pr J.P. Boutin.** Peut-on améliorer le pouvoir immunogène de ces vaccins par des adjuvants ?

**Dr B. Meignier.** Les vaccins vivants ne peuvent pas bénéficier d'adjuvants par les méthodes classiques. En revanche, il est possible de doper les vaccins issus de constructions génétiques, par ajout de lymphokines que l'on fait exprimer en même temps que la vaccination. En ce qui concerne le champ des vaccins sous-unitaires, la production industrielle reste conditionnée par la découverte des antigènes et par leur nombre qui multipliera les coûts de fabrication (par exemple, un vaccin avec quatre antigènes = quatre productions).

**Pr J.P. Boutin.** C'est d'ailleurs le cas du vaccin contre la poliomyélite qui nécessite en réalité trois vaccins. Une campagne de vaccination a débuté il y a huit mois aux États-Unis et une vaccination en anneau a été effectuée lors de l'épidémie de monkeypox, y a-t-il des données sur la tolérance ?

**Dr D. Garin.** En ce qui concerne l'épidémie de monkey-pox, trente vaccinations en anneau ont été réalisées sans complications notoires. Les deux cas qui ont posé problème étaient liés à l'apparition d'encéphalites chez des enfants entre deux et trois ans. Les données sur la vaccination générale des civils sont relativement fiables : 1 cas d'encéphalite et 30 à 40 réactions importantes sur 40 000 vaccinés volontaires. Les données sur la vaccination des militaires ne sont pas mises à jour sur Internet, mais on sait que 700 personnes ont été hospitalisées sur les 500 000 vaccinés. Il faut savoir que des complications cardiaques existent et qu'elles se sont avérées être les plus fréquentes. Il faut distinguer deux tableaux. D'une part, la vaccination du civil, volontaire, obèse, hypertendu, la soixantaine, sans activité physique qui fait un infarctus dans les deux semaines qui suivent la vaccination. Or, les premières études ont montré que statistiquement, le risque de faire un infarctus, avec ou sans vaccination, dans ce type de population n'est pas modifié. Il y a très probablement un effet d'observation. D'autre part, ont été observées des myopéricardites chez des sujets jeunes primovaccinés. Il s'agit alors d'un problème immunologique initial. Après ponction, aucun génome viral n'a été retrouvé. Chez ces personnes, essentiellement des militaires, une guérison complète avec reprise des activités physiques a pu être observée mais se pose le problème du suivi. Dans la bibliographie, des myocardites chez les sujets jeunes étaient relatées mais personne n'y avait prêté attention en raison des moyens d'investigation. Chez les israéliens, suite à une campagne de vaccination, des cas de vaccinia necrosum ont été observés dus à des contacts indirects.

**Y. Buisson.** Dans les cas de complications oculaires, a-t-on utilisé du collyre cidofovir ?

**D. Garin.** Nous n'avons pas d'élément de réponse car officiellement le collyre n'existe pas, il s'agit d'une fabrication artisanale en cours d'évaluation chez l'animal.

**Dr Debrassine, maladies infectieuses, CHU Lyon.** Dans les réactions d'intolérance, a-t-on fait usage des immunoglobulines éventuellement disponibles aux Etats-Unis ?

**D. Garin.** Nous ne possédons pas d'informations pour les militaires. En ce qui concerne les civils, une attribution d'immunoglobulines a été effectuée sans précision d'indication. C'est donc relativement rare.

**P. Paris, chercheur en virologie, IMTSSA.** La vaccination contre la variole dans le cas d'un acte de bioterrorisme n'est pas une vaccination classique pour laquelle on veut obtenir une immunité de longue durée. Par conséquent, sachant que la mise en place de la réponse anticorps prend quelques jours, ne faut-il pas envisager des vaccins axés sur une réponse immunitaire très rapide ? Et dans le cas d'un acte de bioterrorisme où il faudrait une protection des personnes quasi immédiate, ne serait-il pas opportun, dans le cadre des futurs vaccins, de cibler des cellules de l'immunité dite innée dont on connaît la participation effective à l'immunité antivirale afin d'induire une réponse rapide contre la réplication virale ?

**Pr J.P. Boutin.** Se pose également la question de l'exploitation de l'immunothérapie.

**D. Garin.** On peut envisager d'avoir une préimmunité existante chez les personnels de santé avec un vaccin de troisième génération qu'il est, en cas de contact, à généraliser une vaccination avec des vaccins de première ou deuxième génération, ce qui permettrait d'obtenir une immunité avec une sécurité supérieure. Ainsi, plusieurs milliers de personnes pourraient avoir une préimmunité.

Au-delà de cette vaccination séquentielle, intéressons-nous au cas de la personne exposée. On sait que lorsqu'une personne a été en contact avec un malade atteint de variole, on a la possibilité de faire une vaccination post-exposition pendant quatre jours avec une efficacité de 95 %. Et si ce délai est dépassé, deux solutions existent ; le recours à des antiviraux (comme la ribavirine et surtout cidofovir) qui retardent l'apparition de la variole et le recours aux immunoglobulines.

En cas d'agression, les personnes soumises à l'aérosol inhalent des quantités de virus énormes et le délai d'incubation de 12 jours sera vraisemblablement réduit, sauf si l'on réalise des injections de cidofovir.

**Dr R. Drillien.** A l'heure actuelle, aucune donnée ne permet de dire que l'immunité humorale (des anticorps) peut protéger contre la variole. Et, en ce qui concerne l'immunité innée, aucun protocole (chez l'animal) ne permet de la stimuler de façon transitoire pour contrecarrer une infection virulente.

**Dr Peaudevigne, médecin du travail, Eurocopter.** On a constaté en France le développement d'une réticence de plus en plus importante aux vaccinations (voir la polémique déclenchée pour l'hépatite virale B). Quelles seraient les réactions de la population française en cas de vaccination de masse et a-t-on conservé un savoir-faire suffisant pour ce type de vaccination ?

**Pr J.P. Boutin.** La question s'est déjà posée lors de la vaccination de l'équipe dédiée (150 personnes). Cela a donné lieu à un débat assez vif entre les personnels de la profession alors que nous sommes au niveau zéro de la menace. Le niveau d'acceptabilité de la population cible est très lié à la perception qu'elle a du risque. Aujourd'hui, il n'est relativement pas aisé de mobiliser des professionnels de la santé et des forces de l'ordre car le risque est à son plus bas niveau. Mais on peut envisager que le degré d'acceptation de la vaccination sera plus fort si des cas de variole survenaient dans la population.

**Dr M. Merlin, directeur du SSA en Région Terre Sud Est.** L'expérience que j'ai acquise en intervenant dans des pays étrangers touchés par des épidémies sévères (qui n'étaient pas de variole), me permet de souligner que le risque, en cas de menace de variole, résiderait dans l'afflux de demandes de personnes paniquées qui exigeraient la vaccination (y compris par la force physique). Ce qui induirait rapidement une perte opérationnelle des équipes de vaccination. Cette panique pourrait bien être amplifiée par les médias, notamment la télévision et il faudrait alors que les forces de l'ordre assurent une protection des équipes de vaccination ! Cette donnée est prise en compte par les autorités lors de l'élaboration des plans d'urgence. Il faut garder à l'esprit que lorsque la menace se concrétise, les personnes exigent le soin. C'est d'ailleurs le cas des personnes atteintes du sida qui, bien souvent, n'hésitent pas à se porter candidates lors des essais de nouveaux produits dans l'espoir de voir leur état de santé s'améliorer.

**Pr J.P. Boutin.** A ce propos, les trois dernières campagnes contre la méningite menées par le ministère de la Santé ont été couronnées de succès grâce à l'adhésion remarquable de la population.

**Médecin en chef Hugues Tolou, Maître de recherche, chercheur en virologie, IMTSSA.** Lors de l'élaboration d'un nouveau vaccin, le problème va se poser d'établir l'efficacité vis à vis de la variole et chez l'homme. Comment envisage-t-on de prendre en compte ce problème ? Les recherches seront-elles financées ?

**Dr R. Drillien.** Nous espérons tous que la menace n'est pas véritable mais qu'en sera-t-il pour les générations futures ? Nous n'avons pas les moyens de savoir si le virus de la variole a été complètement détruit. Si bien qu'il est important de développer un vaccin de troisième génération pour vacciner les équipes dédiées qui seraient amenées dans le futur à vacciner les populations. Le vaccin d'urgence traditionnel pose un problème politique car les stocks disponibles ne permettraient pas de vacciner les pays amis ou dans notre sphère d'influence pour leur apporter un soutien immédiat.

En ce qui concerne les modèles à notre disposition, les Etats Unis poursuivent un effort de modèle sur les primates qui reste insatisfaisant pour le moment car l'étape de pathogénicité est établie après la première virémie et l'infection ne peut être provoquée qu'avec des doses très importantes. Il n'y a pas eu de tentative de vaccination avec ces animaux. Mais si des essais à venir de vacci-

nation s'avéraient protecteurs, ce serait très prometteur. Le modèle idéal est le primate avec une épreuve de variole suivie d'une vaccination.

Le monkeypox est un modèle très intéressant qui présente l'intérêt d'être plus naturel car l'infection peut être provoquée avec des doses relativement faibles.

**B. Meignier.** Le développement jusqu'à la mise sur le marché représente dix ans de travail soutenu et des moyens financiers. La question qui se pose est de savoir si la volonté politique existe de soutenir ce travail de développement soutenu qui ne débouche sur aucun marché ?

**Médecin en chef C. Rogier, chercheur paludisme, IMTSSA.** Un des facteurs qui ont permis l'éradication de la variole est la grande stabilité du virus qui dépend très probablement de son génome et de la nature de ses interactions avec son hôte unique, l'homme, et de son système immunitaire. Les virus de la vaccine, modifiés dans leur interaction avec l'homme grâce à leur combinaison, ne peuvent-ils pas, en cas d'épidémie de variole, aboutir à l'évolution de virus vers des formes qui auraient un génie épidémique bien différent ?

**D. Garin.** C'est l'angoisse qu'a suscité Ken Alibek lorsqu'il a parlé des premières mutations génétiques. Le virus de la variole étant excessivement mortel chez l'homme avec un pouvoir épidémique très important, il constitue en cela une arme redoutable presque parfaite. La crainte est la mise à disposition d'un monkeypox qui, par mutation génétique, pourrait se rapprocher du virus de la variole. Mais à ce moment-là, il n'y aurait pas de différence dans le pouvoir épidémique constaté.

**Dr R. Drillien.** Une évolution du virus supposerait une propagation de celui-ci en quantité très importante. Cela dit, les orthopoxvirus peuvent donner lieu, à partir du réservoir animal, à un nouvel orthopoxvirus adapté à l'homme. Il n'est pas exclu, qu'en l'absence d'une immunité dans la population, il n'y ait pas une évolution du virus.

**Pr M. Rey, médecine des voyages.** Un antiviral, utilisé pendant la campagne d'éradication semble avoir été supprimé, pourquoi ?

**D. Garin.** Il s'agit du Marboran. Des stocks anciens ont été testés en culture de cellules. Son pouvoir d'inhibition de la répllication cellulaire est très faible et le procédé industriel de sa fabrication a été perdu par la société qui le produisait. Mais étant donné que nous disposons du cidofovir et de ses futurs dérivés, le marboran est définitivement abandonné.

**Pr M. Rey.** Le gouvernement a-t-il apporté une garantie pour couvrir juridiquement et financièrement les accidents ?

**D. Garin.** Cela a été l'objet de l'ATU, le but étant d'avoir une protection des volontaires telle qu'elle existait à l'époque de la loi sur la vaccination contre la variole. Tous les accidents sont couverts par l'Etat.

**Pr M. Rey, médecine des voyages.** Je souhaiterais faire une remarque. La suppression de l'obligation de primo vaccination remonte à l'année 1979 et, à cette époque, elle n'était plus couverte qu'à 50%. Ainsi c'est pratiquement 25 millions de français qui n'ont jamais été vaccinés contre la variole, ce qui constitue un risque aggravant en cas de primo vaccination.

**Dr R. Charrel, chercheur à l'unité des virus émergents, Marseille.** L'utilisation de molécules antivirales ne serait-elle pas une alternative intéressante à la vaccination contre la variole ?

**D. Garin.** Le cidofovir, outre sa toxicité relative, est très onéreux (une ampoule coûte 700 euros). L'injection (intraveineuse) se fait à l'hôpital et nécessite une préparation rénale à l'aide d'un produit qui n'est plus officiellement disponible sur le marché car il fait partie des substances prohibées (dopage des sportifs). Une formulation orale est en cours de réalisation aux Etats Unis. Ce pourra être alors une solution préconisée en complément de la vaccination.

**MCSH F. Mérouze.** Lors de l'épidémie de monkeypox, les médecins américains, qui reçoivent par ailleurs un enseignement

spécifique au cours de leur cursus, ont eu un retard au diagnostic. Cela pose le problème du diagnostic précoce qui est très important en cas d'épidémie.

**Dr P. Fomenty, docteur en médecine vétérinaire, OMS.** Ce problème est en effet très important tant en France qu'au niveau mondial. Nous pensons effectivement que les Etats Unis étaient le pays le mieux placé pour une réaction rapide. Or il y a eu un retard de diagnostic d'environ trois semaines pour la déclaration de ces cas au CDC. Les services de surveillance et d'épidémiologie doivent être mieux alertés. Chaque année dix rumeurs de cas de variole sont investiguées dans le monde. Ce sont en général des cas de varicelle grave, de monkeypox ou de camelpox. La confirmation de diagnostic des cas d'orthopox se fait dans des laboratoires européens mais aussi africains. La confirmation des cas de smallpox se fait quant à elle dans deux laboratoires, Vector et les CDC. Le problème du diagnostic des premiers cas de variole se fera grâce aux analyses en laboratoires, aux examens cliniques et aux alertes des centres de surveillance épidémiologiques. En cas de réintroduction de la variole, ce n'est pas le cas initial qui sera détecté mais un groupe de personnes victimes d'une première épidémie. Ceci dit, le retard de diagnostic du monkeypox peut s'expliquer par le fait que le virus n'est pas aussi contagieux que celui de la variole.

**Comité de rédaction de Médecine Tropicale.** Plus d'une dizaine de participants se sont ensuite exprimés au cours de ce forum. En particulier les Docteurs et Professeurs BUISSON, OUALI, ZERATH, GRAS, TOLOU, DANE et GOUJON. Un malencontreux incident technique ne nous permet pas de retranscrire la teneur exacte de leurs contributions et des réponses apportées par les experts.

**Pr J.P. Boutin.** Le débat s'est terminé par un vif échange entre les participants sur les risques liés aux programmes actuels d'éradication. A titre d'exemple le débat a porté sur l'éradication en cours de la poliomyélite au seul moyen de la vaccination. A la lumière des événements récents, cette éradication prochaine ne risque-t-elle pas de nous exposer ultérieurement à la menace d'un emploi agressif des virus poliomyélitiques (au nombre de 3, transmissibles par l'eau et présents dans un grand nombre de laboratoires de par le monde) ? En réponse le Docteur Pierre Fomenty a su défendre la stratégie mondiale d'éradication dont l'objectif est bien de soulager l'humanité d'un fléau réel, naturel, actuel et vulnérable. Néanmoins lorsque l'objectif final sera atteint, il conviendra certainement de mener une profonde réflexion avant de décider de l'arrêt de la vaccination en population générale car les enseignements actuels montrent que le confinement des souches dans des laboratoires en nombre limité, et identifiés n'est pas une totale garantie de sécurité.

En conclusion, il est clairement apparu au cours de ce débat que toute décision de relance d'une stratégie vaccinale anti-variolique ne pouvait être envisagée au seul moyen des vaccins de première génération qui ne sont plus disponibles que dans quelques rares pays du Nord et dont les procédés de fabrication ne correspondent plus aux standards de qualité actuels. La production de vaccin passe donc aujourd'hui obligatoirement par la recherche. Mais cette recherche exige un soutien clairement affiché au niveau politique car le seul secteur industriel privé ne pourra assumer des coûts, de recherche et production, qui ne soient pas sous-tendus par un réel marché. Parallèlement la recherche d'antiviraux actifs sur les poxvirus doit être encouragée afin de disposer d'une deuxième ligne de défense en cas de réémergence de la variole mais aussi pour faire face au risque de développement d'autres poxvirus comme vient de le rappeler l'épidémie de Monkeypox survenue aux Etats-Unis. Mais il apparaît évident au terme de ce débat que toute décision de reprise de la prévention contre la variole nécessitera d'abord et avant tout un énorme programme d'information et d'éducation sanitaire (coûteux et forcément assez long) de l'ensemble des populations concernées lesquelles ne pourront adhérer que si le rapport bénéfice sur risque leur paraît au final acceptable ■