

## PREMIER ESSAI DU VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE SUR LE TERRAIN

Pastoret P.P.\*, Brochier B.\*, Thomas I.\*, Paquot A.\*, Costy F.\*\*,  
Kieny M.P.\*\*\*, Lecocq J.P.\*\*\*, Languet B.\*\*\*\*, Desmettre P.\*\*\*\*,  
Antoine H.\*\*\*\*\*, De Bruyn J.\*\*\*\*\*.

\* Fo.Re.Ra. Département de Virologie-Immunologie et Pathologie  
des maladies virales, Faculté de Médecine vétérinaire de  
l'Université de Liège, 45, Rue des Vétérinaires, B-1070 Bruxelles

\*\* Fo.Re.Ra. Service de la Rage, Institut Pasteur du Brabant,  
28, Rue du Remorqueur, B-1040 Bruxelles

\*\*\* TRANSGENE 11, Rue de Molsheim F-67000 Strasbourg, France

\*\*\*\* RHONE-MERIEUX Laboratoires IFFA

254, Rue Marcel Mérieux, F-69007 Lyon

\*\*\*\*\* Laboratoire de Virologie, Centre d'Economie rurale,

1, Rue du Carmel, B-5406 Marloie

\*\*\*\*\* Etat-Major Général, Etat-Major du Service médical (MSV)  
Quartier Reine Elisabeth, Rue d'Evere B-1140 Bruxelles, Belgique.

### 1. INTRODUCTION

Dans les pays européens, la rage existe sous une forme sylvatique; l'espèce principalement touchée est le renard et, parmi les espèces domestiques, le bovin (AGUILAR-SETIEN et al., 1985).

La vaccination antirabique des animaux sauvages, dont le renard, a été envisagée depuis plus de vingt ans (BAER, 1975) et a été tentée, sur le terrain, pour la première fois par STECK et collaborateurs en Suisse.

Le premier critère auquel doit répondre tout procédé de vaccination est celui de l'efficacité, ensuite celui de l'innocuité pour les espèces cibles et non-cibles.

Dans le virus rabique, la glycoprotéine joue un rôle déterminant car, étant transmembranaire, elle est la seule capable de susciter chez l'animal la synthèse d'anticorps neutralisants (Kieny et al., 1984). C'est donc elle qui induit, en ordre principal, la formation d'une immunité protectrice. Son rôle-clé est définitivement démontré grâce à l'obtention d'un virus de la vaccine (Poxvirus), recombinant, contenant le gène codant pour la glycoprotéine rabique, car, l'inoculation aux animaux de ce virus recombinant qui ne contient que la seule glycoprotéine du virus de la rage, suffit à les protéger envers une épreuve virulente (WIKTOR et al., 1984).

Ce virus recombinant s'est révélé expérimentalement très efficace pour la vaccination antirabique du renard par voie orale (BLANCOU et al., 1986; PASTORET et BROCHIER, 1987) tout en étant parfaitement inoffensif pour les espèces non-cibles comme le sanglier et le blaireau (BROCHIER et al., 1987). Du fait de son efficacité, de son innocuité et de sa stabilité, le virus recombinant est un excellent candidat pour le remplacement des souches atténuées du virus rabique actuellement utilisées sur le terrain. C'est pourquoi un premier essai de vaccination antirabique du renard sur le terrain a été pratiqué, en Belgique, dans le courant du mois d'octobre 1987. La présente contribution a pour but de décrire les essais pratiqués et de donner les tout premiers résultats.

## 2. DESCRIPTION DE L'ESSAI

### a) Introduction

L'essai mentionné a été réalisé après avoir obtenu l'autorisation du Conseil Supérieur d'Hygiène de Belgique et celle des autorités militaires compétentes. Il a été poursuivi en suivant les recommandations formulées par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.).

### b) Zone d'expérimentation

L'expérience a été pratiquée sur le terrain militaire de Marche situé à cheval sur les provinces de Luxembourg et de Namur; sa superficie totale est de 2700 ha et la superficie vaccinée était de 600 ha (situés en zone découverte).

Le dépôt des appâts (têtes de poulet) a été effectué le 24 octobre 1987. L'espèce cible (renard) ainsi que la plupart des espèces non-cibles consommatrices d'appâts (sanglier, corvidae, mustelidae, muridae,...) sont bien représentées sur cette zone de vaccination.

### c) Vaccin et appâts

La souche vaccinale utilisée était le virus recombinant vaccine-glycoprotéine du virus rabique. Elle était présentée sous forme liquide avec un titre de  $10^8$  DICT 50 dans 1.5 ml, contenus dans une capsule hermétiquement close constituée d'un assemblage d'aluminium et de plastic; la capsule était fournie par le Docteur WANDELER de l'Université de Berne. L'appât, de type suisse, était constitué d'une tête de poulet. La capsule était fixée sous la peau de la nuque et de la tétracycline (150 mg par appât) injectée dans la tête de poulet était utilisée comme marqueur de prise.

### d) Distribution des appâts

Les appâts ont été distribués (250) à raison de 40 à 50 appâts par  $\text{km}^2$  conformément aux recommandations habituelles. L'emplacement de chaque appât a été numéroté et repéré sur carte d'Etat-Major (1/25.000 quadrillée en secteurs de  $1 \text{ km}^2$ ). Un bâton numéroté planté à proximité de chaque appât servait de repère sur le terrain.

## 3. CONTROLES EFFECTUES

### a) Contrôles préliminaires

Une enquête sérologique préliminaire a été pratiquée à partir des sérums prélevés chez les animaux suivants: sangliers (Sus scrofa); blaireaux (Meles meles); hérissons (Erinaceus europaeus); renards (Vulpes vulpes L.); chevreuils (Capreolus capreolus); cerfs (Cervus elaphus).

Les infections par orthopox antigéniquement apparentés au virus de la vaccine ont été recherchées par une technique de séro-neutralisation sur cellules VERO.

### b) Contrôle de stabilité du vaccin

Pour réaliser ce contrôle, six appâts ont été déposés au même jour que les autres, mais en un endroit inaccessible aux animaux (cages grillagées); les variations de température ont été journalièrement enregistrées durant 15 jours. Les contrôles ont été effectués aux jours 4-9-15. Deux échantillons ont été prélevés chaque jour pour être stockés à  $-20^\circ\text{C}$ .

c) Contrôle de la prise d'appât

Le contrôle de la consommation des 250 appâts a été réalisé aux jours 4-9-15 par les distributeurs respectifs (5). Au jour 15, les appâts restés intacts ont été ramassés.

d) Détection de la tétracycline

Des coupes de 300 à 400  $\mu$  ont été effectuées à partir de mâchoires ou de bouts d'os prélevés sur les cadavres provenant de la zone de vaccination. L'examen de ces coupes au microscope à lumière ultraviolette permet de mettre en évidence la tétracycline qui se fixe au niveau de l'os chez les animaux qui ont consommé les appâts vaccinaux.

e) Contrôle d'efficacité chez le renard roux

Durant les mois qui suivent la vaccination, des cadavres de renards seront récoltés dans la zone d'expérimentation et dans les communes avoisinantes afin de réaliser le diagnostic de la rage, un examen sérologique pour la détection des anticorps antirabiques, un examen sérologique pour la détection des anticorps anti-vaccin, la recherche d'éventuelles lésions de type variolique.

f) Contrôle d'innocuité chez les espèces non-cibles

Durant les mois qui ont suivi la distribution des appâts, une surveillance attentive a été exercée pour détecter la présence éventuelle de cadavres ou d'animaux malades sur le terrain d'expérience. Tout cadavre ou animal suspect a été soumis au même protocole d'analyse que celui décrit chez le renard et à une autopsie complète. Vingt-quatre micromammifères ont été capturés avant la distribution des appâts et une centaine d'autres le seront dans les mois qui suivront la distribution des appâts. Leur capture a été effectuée sur 2 km<sup>2</sup> et à proximité immédiate de l'emplacement des appâts; ils ont été soumis à une autopsie et à la recherche de tétracycline.

#### 4. RESULTATS

a) Contrôles préliminaires

Des anticorps anti-vaccin (orthopox) n'ont été retrouvés dans aucun des sérums examinés à ce jour: 13 blaireaux (Meles meles), 18 sangliers (Sus scrofa), 16 renards (Vulpes vulpes L.), 8 hérissons (Erinaceus europaeus), 10 chevreuils (Capreolus capreolus), 10 cerfs (Cervus elaphus).

b) Contrôle de la prise d'appât

Ce contrôle a permis d'estimer le nombre d'appâts consommés, le délai de consommation et, dans certains cas, d'identifier le prédateur. Tous les appâts, déposés dans la zone de vaccination ont été contrôlés. Après 15 jours, 64% des appâts avaient été consommés. Les empreintes retrouvées à proximité des appâts et les types de perforation de la capsule ont démontré que ces appâts avaient été consommés par les espèces suivantes: renards, sangliers, mustelidés, micromammifères, oiseaux, coléoptères.

DEVENIR DE L'APPAT	JOUR 4	JOUR 9	JOUR 15
- appât disparu, capsule non retrouvée	18,26%	34,2%	56,4%
- appât disparu, capsule perforée et vide	1,61%	3,6%	7,2%
- appât disparu, capsule retrouvée intacte	1,61%	4,4%	6,4%
- appât intact	78,5%	57,8%	30%

c) contrôles en cours

Actuellement, les contrôles se poursuivent pour la détection de la tétracycline dans les mâchoires des micromammifères ainsi que dans les os des oiseaux récoltés dans la zone de vaccination. Des dosages d'anticorps antirabiques et antivaccinaux sont également en cours à partir des sérums prélevés chez des animaux provenant de la zone de vaccination.

**REMERCIEMENTS**

Nous tenons à remercier chaleureusement le Professeur WANDELER de l'Université de Berne pour nous avoir fourni les renseignements nécessaires et les capsules qui renfermaient le vaccin.

Nous remercions également les services belges de l'inspection vétérinaire pour leur aide dans la récolte de cadavres et leur acheminement vers l'Institut Pasteur.

Nous remercions également le commandement militaire du terrain de Marche pour sa franche et indispensable coopération.

Nous remercions enfin le Docteur Roland LIBOIS du service d'Ethologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Liège ainsi qu'Olivier ROBOLY de l'entente interdépartementale de lutte contre la rage (France) pour leurs précieux conseils.

Tous les essais mentionnés dans cette contribution n'auraient pas été possibles sans l'aide active et efficace de nombreuses personnes que nous tenons à remercier chaleureusement.

Nos plus profonds remerciements vont à Monsieur le Ministre Daniel DUCARME, à son cabinet et à son administration, qui nous ont toujours soutenu matériellement et moralement.

De même notre plus profonde reconnaissance va à Monsieur le Ministre Pol DE KEERSMAEKER, à son cabinet et à son administration, pour leur soutien moral et matériel.

De la même façon, nous remercions Monsieur le Ministre Michel HANSENNE, son cabinet et son administration, pour l'octroi d'un personnel C.S.T. indispensable à la réalisation des opérations.

Nous ne pouvons oublier dans nos remerciements Monsieur le Ministre-Président Melchior WATHELET, membre du Fo.Re.Ra. qui a manifesté un constant intérêt pour nos réalisations et dont le soutien nous a été précieux.

Nous voudrions également adresser nos plus vifs et sincères remerciements à Jacques PLANCHARD, Gouverneur de la Province de Luxembourg.

Nous remercions également les autorités provinciales de Liège et de Luxembourg.

Nos remerciements vont également au Recteur Arthur BODSON et au Doyen Louis POUPLARD, de l'Université de Liège, tous deux membres bienveillants du Fo.Re.Ra.

Notre reconnaissance va également au Docteur Raoul HENS, président de la Société vétérinaire de Protection Animale qui nous a toujours aidé même dans les temps difficiles.

Enfin nous n'oublions pas tous les amis de la première heure, tous les membres du service qui collaborent à ce travail ainsi que tous les membres du Fo.Re.Ra.. Ils sont trop nombreux pour être mentionnés ici.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Aguilar-Sétien, A., Thomas, I., Brochier, B., Thiriart, Cl., Schwes, A., Pastoret, P.P. 1985. La rage vulpine. Cahiers d'Ethologie appliquée, 5, 51-70.
- Baer, G.M. 1975. The natural history of rabies. Ac. Press, New-York and London, volumes 1 et 2.
- Blancou, J., Kieny, M.P., Lathe, R., Lecocq, J.P., Pastoret, P.P., Soulebot, J.P., Desmettre, P. 1986. Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. Nature, 322, 373-375.
- Brochier B., Languet B., Blancou J., Kieny M.P., Lecocq J.P., Costy, F., Desmettre Ph., Pastoret P.P. Use of recombinant vaccinia-rabies virus for oral vaccination of fox cubs (Vulpes vulpes, L.) against rabies. Submitted.
- Kieny, M.P., Lathe, R., Drillien, R., Spohner, D., Skory, S., Schmitt, D., Wiktor, T., Koprowski, H., Lecocq, J.P. 1984. Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. Nature, 312, 163-166.
- Pastoret P.P., Brochier B. 1987. La vaccination antirabique du renard par voie orale. Rev. Méd. Brux., 8, 246-249. Schneider, L. 1982. Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., 5, 165-171.
- Wiktor, T.J., Mc Farlan, R.I., Reagan, K.J., Dietzschold, B., Curtis, P.J., Wunner, W.H., Kieny, M.P., Lathe, R., Lecocq, J.P., Mackett, M., Moss, B., Koprowski, H. 1984. Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 7194-7198.