

EUR 11.439



Commission of the European Communities
Commission des Communautés européennes

AGRICULTURE

Vaccination to control rabies in foxes

La vaccination antirabique du renard

Proceedings of a symposium organized jointly by the 'Fonds pour la recherche contre la rage (Fo.Re.Ra.)', and the Commission of the European Communities, Directorate-General for Agriculture, Coordination of Agricultural Research Division, held in Brussels on 17 and 18 November 1987.

Compte rendu du symposium organisé conjointement par le Fonds pour la recherche contre la rage (Fo.Re.Ra.) et la Commission des Communautés européennes, direction générale de l'agriculture, division «coordination de la recherche agronomique», qui s'est tenu à Bruxelles les 17 et 18 novembre 1987.

AGRICULTURE

Vaccination to control rabies in foxes *La vaccination antirabique du renard*

Symposium coordination
Coordination du symposium

P.P. Pastoret, B. Brochier, I. Thomas, J. Blancou

1988

PAPL. . . . th.
N.C
CL ✓ EUR 11439 EN-FR

**Published by the
COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES**

**Directorate-General
Telecommunications, Information Industries and Innovation**

**Bâtiment Jean Monnet
LUXEMBOURG**

**Publié par
COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES**

**Direction générale
Télécommunications, industries de l'information et innovation**

**Bâtiment Jean Monnet
LUXEMBOURG**

LEGAL NOTICE

Neither the Commission of the European Communities nor any person acting on behalf of the Commission is responsible for the use which might be made of the following information

AVERTISSEMENT

Ni la Commission des Communautés européennes, ni aucune personne agissant au nom de la Commission n'est responsable de l'usage qui pourrait être fait des informations ci-après.

Cataloguing data can be found at the end of this publication
Une fiche bibliographique figure à la fin de l'ouvrage.

Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 1988
Luxembourg: Office des publications officielles des Communautés européennes, 1988

ISBN 92-825-8377-5

Catalogue number: CD-NA-11439-2A-C
N° de catalogue:

© ECSC-EEC-EAEC, Brussels · Luxembourg, 1988
© CECA-CEE-CEEA, Bruxelles · Luxembourg, 1988

Printed in Luxembourg

PREFACE

Sylvatic rabies is a disease of major significance to human and animal health. The red fox is currently the sole vector of the disease in Western Europe where rabies is considered as a source of severe economic loss, and hampers exchanges across the borders of the different Member states. Regarding the perspective of the future European market this situation is particularly detrimental. Some Member states are currently rabies free and should maintain this status. The control of rabies requires therefore a common strategy established at the level of the European Community. During the past 25 years, most of the research on the control of fox rabies has been devoted to the development of methods of fox vaccination against rabies by the oral route. The first campaigns carried out with attenuated strains of rabies virus in different countries were very successful. However the use of this conventional vaccine remains controversial since it retains pathogenicity for some non-target species, especially rodents. To solve this problem, new vaccines, such as a recombinant vaccinia virus expressing the immunizing rabies glycoprotein have been developed. It has been demonstrated to be effective for the oral immunization of foxes. The oral administration of the recombinant virus was also shown to be perfectly safe for this species and for a large number of other non-target species in which it has been tested, some of them being competitors for baits consumption. Moreover a first field trial of oral vaccination of foxes in Belgium has confirmed the safety of this vaccine.

Experimental field trials have thus demonstrated that it is technically feasible to eradicate rabies and to keep rabies out of the Community if a Community plan is prepared and adhered to.

Several vaccines are available now, the best one being the recombinant vaccinia-rabies virus from the point of view of both safety and efficiency. The choice of the vaccine to be used should therefore be left to the different Member states.

Future initiatives by the Community will require careful study of these proceedings.

Pastoret P.-P., Thomas I., Brochier B., Blancou J.

TABLE DES MATIERES

CONTENTS

	Page
INTRODUCTION TO THE SYMPOSIUM	
Pastoret P.P., Brochier B., Thomas I., Blancou J.	1
RABIES AND FOXES : The Social Life of a Solitary Carnivore	
Mac Donald D.W.	5
LA RAGE SYLVATIQUE EN EUROPE	
Blancou J., Aubert M., Artois M.	14
ERADICATION OF RABIES THROUGH ORAL VACCINATION - THE GERMAN FIELD TRIAL	
Schneider L.G., Cox J.H.	22
ETUDES PROSPECTIVES DE L'INFLUENCE DE LA VACCINATION SUR L'EPIDEMIOLOGIE DE LA RAGE ET LES POPULATIONS VULPINES	
Aubert M., Artois M.	39
TEN YEARS OF RABIES CONTROL BY ORAL VACCINATION OF FOXES IN SWITZERLAND	
Kappeler A., Wandeler A.I., Capt S.	55
FOX VACCINATION IN ITALY	
Balbo T., Rossi L.	61
ORAL VACCINATION OF FOXES IN THE GRAND-DUCHY OF LUXEMBOURG	
Frisch R., Wolff F., Krier A.	70
LA VACCINATION DU RENARD EN BELGIQUE	
Brochier B., Iokem A., Ginter A., Kalpers J., Thomas I., Paquot A., Hallet L., Duhaut R., Costy F., Peharpré D., Pastoret P.P.	73

LA VACCINATION ORALE DES RENARDS CONTRE LA RAGE EN FRANCE (1986-1987) Artois M., Blancou J., Rigal P., Roboly O., Chillaud T.	89
LA RAGE EN YOUGOSLAVIE Radovanovic M.	97
COMPTE-RENDU DE LA REUNION DES RESPONSABLES SANITAIRES DES DIFFERENTS PAYS PRESENTS AU SYMPOSIUM DE BRUXELLES Hallet L.	99
STUDIES ON PATHOGENICITY IN MICE OF RABIES VIRUS STRAINS USED FOR ORAL VACCINATION OF FOXES IN EUROPE Leblois H., Flamand A.	101
VIRUS DE LA VACCINE RECOMBINANTS : DES VACCINS DE NOUVELLE GENERATION Lecocq J.P., Drillien R., Kieny M.P.	105
VACCINATION DES RENARDS CONTRE LA RAGE AVEC LE VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE Blancou J., Pastoret P.P., Brochier B., Kieny M.P., Desmettre Ph., Artois M.	112
INNOCUITE DU VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE CHEZ QUELQUES ESPECES NON-CIBLES Brochier B., Languet B., Blancou J., Thomas I., Kieny M.P., Lecocq J.P., Desmettre Ph., Pastoret P.P.	118
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 Ph., Antoine H., Debruyjn J.	124
COMMUNIQUE DE PRESSE Pastoret P.P., Thomas I., Brochier B., Paquot A.	129
COMITE DE PATRONAGE	133
LISTE DES PARTICIPANTS	134

INTRODUCTION

VACCINATION OF FOXES FOR RABIES CONTROL

Rabies, a viral disease affecting all warm-blooded animals propagates amongst wildlife (in western european countries amongst the foxes) and, through domestic animals such as cattle, is transmitted to man.

Attempts to control the disease by vaccinating foxes with modified virus seem more than promising.

In September 1986, the first international vaccination campaign of foxes against rabies has been organized and coordinated by the Fonds pour la Recherche contre la Rage (Fo.Re.Ra) with the help of the collaborative centres World Health Organisation (WHO) especially the laboratory of Tübingen in Western Germany. The vaccine used was the Tübingen SAD/B19 attenuated strain of rabies virus presented in baits, and the campaign was controlled according to the rules defined by the WHO. The first results obtained are very satisfactory from the point of view of both safety and efficacy.

Nevertheless the method can be developed since there is a new vaccine candidate for oral immunization of foxes against rabies which is the recombinant vaccinia virus harbouring the rabies surface glycoprotein gene.

The technology for oral vaccination of foxes is therefore available and the first campaign coordinated between several european countries has given promising results.

We therefore propose the organization of a meeting on fox vaccination against rabies, opened to all the interested people, veterinary officials, politicians, environmentalists, and other professional people in order to present the results of the first campaign organized in the different european countries and the results obtained with the new genetically engineered vaccine (vaccinia-rabies recombinant); with the overall purpose of helping to solve the problem of rabies at an european level.

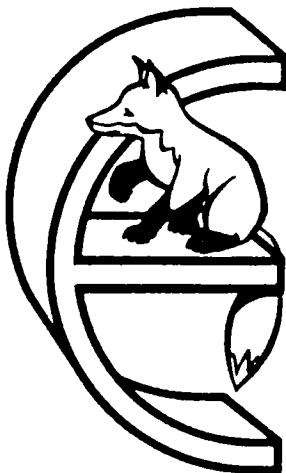
This meeting is organized by the Department of Virology-Immunology of the Faculty of Veterinary medicine of the University of Liège and the Pasteur Institute of Brabant (Fo.Re.Ra) in Brussels, in collaboration with the Commission of European Communities.

Department of Virology-Immunology
Faculty of Veterinary medicine Ulg.,
45, rue des Vétérinaires,
B-1070 Brussels
Tél. 02/522.58.25.

(Prof. P.P. Pastoret, Dr. B. Brochier, Dr. I. Thomas, Dr. F. Costy (Institut Pasteur du Brabant)).

This symposium has been prepared by an international committee including : J. Blancou and M. Artois (France), F. Wolff (Grand duchy of Luxembourg), P.P. Pastoret, B. Brochier, I. Thomas, F. Costy (Belgium).

The organizers greatly appreciate the participation of so many outstanding scientists and officials from organizations of the Member states and some neighbouring countries. They also greatly appreciate the significant contributions of the World Health Organization and of the Office International des Epizooties.



INTRODUCTION

LA VACCINATION DU RENARD POUR LE CONTROLE DE LA RAGE.

La rage, une maladie virale qui atteint tous les animaux à sang chaud, se transmet au sein de la faune sauvage (en Europe de l'ouest, principalement le renard) et, à l'homme, par l'intermédiaire des animaux domestiques comme les bovins.

Les tentatives de contrôle de la maladie par la vaccination du renard à l'aide d'une souche modifiée du virus rabique semblent prometteuses.

En septembre 1986, la première campagne internationale de vaccination du renard contre la rage a été organisée par plusieurs pays européens (grand-duché de Luxembourg, France, Belgique) et coordonnée par le Fo.Re.Ra. (Fonds pour la Recherche contre la Rage), avec l'aide des centres collaborateurs de l'O.M.S., en particulier le laboratoire de Tübingen en Allemagne de l'Ouest. Le vaccin utilisé était la souche modifiée SAD/B19 du virus rabique développé par le laboratoire de Tübingen et présenté sous forme d'appâts; la campagne était contrôlée selon les normes édictées par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.). Les premiers résultats obtenus sont très satisfaisants tant du point de vue de l'efficacité que de l'innocuité.

La méthode peut cependant encore évoluer, puisqu'il existe actuellement un nouveau candidat vaccin, le virus recombinant de la vaccine qui contient le gène qui code la glycoprotéine du virus de la rage.

La technologie nécessaire à la vaccination antirabique du renard est donc disponible et a fait ses preuves à l'échelon de plusieurs pays européens.

Il nous a dès lors paru intéressant d'organiser un symposium sur la vaccination antirabique du renard, qui sera ouvert à toutes les personnes intéressées: les vétérinaires-fonctionnaires, les médecins, les politiciens, les environnementalistes,... afin de présenter les résultats des premières campagnes organisées dans les différents pays européens, qu'ils appartiennent ou non à la Communauté, ainsi que les résultats obtenus par l'emploi du nouveau vaccin obtenu par les techniques de l'ingénierie génétique (recombinant vaccine-rage), ceci dans le but final d'aider à résoudre le problème de la rage à l'échelle européenne.

Ce symposium est organisé par le département de Virologie-Immunologie de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège et l'Institut Pasteur du Brabant à Bruxelles (Fo.Re.Ra.), en collaboration avec la Commission des Communautés européennes.

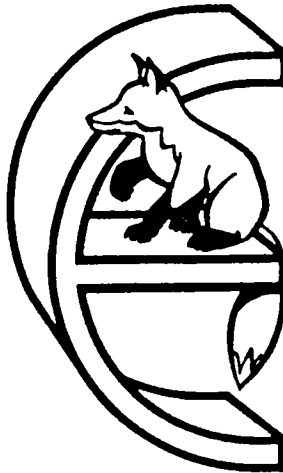
Département de Virologie-Immunologie et
Pathologie des Maladies virales,
Faculté de Médecine vétérinaire de l'U.Lg.,
45, Rue des Vétérinaires,
B-1070 Bruxelles
tél.: 02/522.58.25.

(Prof. P.-P. Pastoret, Dr. B. Brochier, Dr. I Thomas, Dr. F. Costy (Institut Pasteur du Brabant)).

Ces journées ont été préparées par un comité international composé de: J. Blancou et M. Artois (France), F. Wolff (grand-duché de Luxembourg), P.-P. Pastoret, B. Brochier, I. Thomas et F. Costy (Belgique).

Nous remercions vivement Marinette Muys pour la préparation des manuscrits.

Les organisateurs ont grandement apprécié la participation des scientifiques éminents et des représentants officiels des organisations des états membres et de certains pays voisins. Ils ont également fortement apprécié l'importante contribution de l'Organisation Mondiale de la Santé et de l'Office international des épizooties.



RABIES AND FOXES:
The Social Life of a Solitary Carnivore

D.W. Macdonald

Zoology Department,
University of Oxford,
South Parks Road,
Oxford OX1 3PS, UK.

ABSTRACT

Red foxes, *Vulpes vulpes*, are important vectors of rabies throughout much of the Northern Hemisphere, and they are the principal vector of the disease amongst wildlife in Europe. The behaviour of both rabid and healthy foxes directly determines the transmission and spread of rabies. It is essential to understand the epizootiology of rabies in order to manage the disease, and to understand the behaviour of the disease it is necessary to understand fox behaviour. Rabies is passed between foxes when they meet. Therefore, although the two topics might at first seem very distant, I will argue that plans to control rabies should rest on knowledge of the fox's social life.

The emphases of this paper are two-fold. First, fox behaviour is highly variable, adapting to different circumstances, and therefore differing markedly between localities. Two factors interact to effect this variation in fox behaviour. These factors are the patterns of mortality and of food availability. Second, there is evidence that high levels of mortality, whether caused by rabies or attempts at rabies control, destabilize fox society in ways which increase contact and may, consequently, promote the spread of the disease. Oral vaccination of wild foxes does not disrupt their social lives and therefore, all else being equal, is more likely to succeed in controlling rabies.

INTRODUCTION

Understanding, and controlling, a zoonotic disease necessitates knowledge that spans an intimidating array of disciplines. In the case of rabies, it is obvious that subjects ranging from virology to economics and from epidemiology to immunology are highly relevant. Other topics, such as the details of fox social behaviour, may at first seem more esoteric, but in fact emerge as centrally important. Rabies is transmitted from one fox to the next when they meet, and it is fox society that determines much about the frequency and nature of such meetings. Therefore, to ignore the details of fox behaviour when planning rabies control would be akin, in short-sightedness, to a manufacturer ignoring the behaviour of his customers. My purpose in this paper is to illustrate ways in which the behaviour of red foxes, *Vulpes vulpes*, affects rabies and its control. In particular, I will emphasise that what little is known of red foxes indicates that their social behaviour varies between populations, and that this variation explains some aspects of the behaviour of rabies in ways which must be taken into account when planning control of the disease. In particular, I will argue that high mortality pressure disrupts fox society in ways that are likely to increase encounters between individuals and, therefore, to promote the spread of rabies. This may explain why attempts to eradicate rabies by killing foxes have failed. The fact that oral vaccination of foxes against rabies would have no such disruptive effect on their society makes this, in principle, a more promising approach.

Members of the Order Carnivora have dentition and behaviour that adapt them to predation. The same traits, along with medium to large body sizes which allow them to travel relatively large distances, result in some of them being major vectors and victims of rabies. Around the world, carnivores of every family are involved in rabies (reviewed in Macdonald and Voigt 1985). Of the Procyonidae, the raccoon, *Procyon lotor*, is an important vector in the Eastern USA (Constantine 1971), of the Mustelidae the striped skunk, *Mephitis mephitis*, is important in Canada (Verts 1967), while, of the Viverridae, the yellow mongoose, *Cynictis penicillata*, is a vector in southern Africa (Meredith 1982, Keightley *et al.* 1987) as, of the Canidae, are raccoon dogs, *Nyctereutes procyonoides*, in Asia and the jackal, *Canis mesomelas*, in East Africa (Cumming 1982). However, with its relatively long distance movements, resilient and productive population dynamics and great susceptibility to rabies, it is the red fox that is pre-eminent among wild vectors of rabies in Europe and much of North America (Macdonald 1980).

RABIES AS A DISEASE OF RED FOXES

Since 1939, the present European epizootic of rabies has spread some 1400 km westward from Poland. The front wave has advanced at between 20–60 km per annum (Toma and Andral 1977). On average, and with much variation, there has been an advance of about 4.8 km per month (Bogel *et al.* 1976). In contrast to this pattern of steady advance, the disease occasionally leaps ahead by distances of up to 100 km (e.g. in 1982 in Yugoslavia, a focus erupted in Croatia, some 400 km ahead of the front wave).

The progression appeared to be influenced by topographical barriers. For example, the epizootic front faltered at, but eventually crossed, the Elbe, the Rhine and the Alps. Just as the assemblage of vectors varies between continents, so even within Europe the balance of wildlife versus domestic cases varies (Wachendorfer 1977). In some regions (e.g. around the Mediterranean) cases in dogs predominate, whereas elsewhere (most of central Europe) about 90% of cases are in wildlife and, specifically, in red foxes. A comparison of cases recorded in successive five-year periods from 1972–1986 indicates a trend on most European countries towards a greater prevalence of cases in wildlife (Wachendorfer 1977, Macdonald and Voigt 1985). It is difficult to know to what extent this shift results from the efficiency of preventative measures for domestic stock, the effectiveness of monitoring or a genuine epizootiological shift. Interpretation of inter-specific trends in transmission are complicated by the discovery, through the use of monoclonal antibodies, of many strains of rabies virus. These strains have different virulences in various hosts (e.g. cats are highly susceptible to dog virus, but not to fox virus). In summary, foxes are at the hub of European rabies; for example, in 1982 13,971 rabid red foxes were recorded in the 11 central European countries where sylvatic rabies predominates. It is noteworthy that nobody knows what proportion of rabid foxes are reported; the proportion is likely to be very low (Braunschweig (1982) estimated it at 2–10%), and therefore to present serious problems of detecting an outbreak (Bacon 1981).

When the disease front penetrates a new area the foxes there suffer an epizootic of rabies. With the fox population approximately decimated, the incidence of the disease dwindles and remains low during a 'silent' phase of some 2–3 years. Thereafter, secondary enzootic peaks recur, often at intervals of 3 to 5 years following the first epizootic (a pattern illustrated by the Ardennes in France Fig 4 of Macdonald and Voigt 1985). Since, over a wide area, these cycles in reported case-incidence are out of phase with each other, there is a sense in which the apparent foci of enzootic rabies appear to move around.

Superimposed upon the inter-annual periodicity in the incidence of reported cases of vulpine rabies, is a seasonal pattern. There tends to a peak in cases in late winter, and a trough in mid-summer. For example, Macdonald and Voigt (1985) noted a 27% increase in reported cases of fox rabies across Europe from October–December to January–March in the winter of 1982–83. Bogel and Moegle (1980) have noted a similar seasonality in the monthly velocity with which the epizootic front line advances. However, Bogel *et al.* (1974, 1976) noted that in Germany the velocity of the front accelerates in February, whereas the incidence of the disease in foxes does not start to increase until March.

The age-sex structure of the population of foxes succumbing to rabies varies seasonally with respect to those dying of other causes. In May–June sub-adult foxes compose a smaller proportion of those reported dying from rabies than they do of those foxes dying of other causes. In contrast, subadult males are disproportionately common in the sample dying from rabies in the Autumn, whereas adult females are disproportionately common in such samples in Spring.

FOXES AS VECTORS OF RABIES

Spatial Organization

General reviews of fox behaviour are found in Lloyd (1980), Macdonald (1981) and, at a more general level Harris (1986) and Macdonald (1987). Broadly speaking, on the basis of their spatial organization, adult red foxes can be categorized as resident, if they have a moderately stable home range, or itinerant, if they do not.

(i) Residents

The evidence of radio-tracking studies indicates that, in most populations, resident foxes are territorial. That is to say, the overlap between the home ranges of neighbouring individuals or groups is less than might be expected by chance. In some cases, foxes exhibit 'classical' examples of territoriality, in that neighbouring home ranges overlap very little, but rather have neatly tessellated borders. This spatial pattern is taken as evidence of an active process of spacing out by neighbouring foxes, and is characteristic of rural, European fox populations in, for example, Holland (Niewold 1980, Mulder 1985), Sweden (von Schantz 1984a) and England (Macdonald 1981). In the UK it was characteristic of some urban populations (Macdonald and Newdick 1985, but see below) but not others (Harris 1980).

The sizes of the home ranges of resident adult foxes vary through two orders of magnitude between populations. The populations with the smallest ranges, averaging about 50 hectares, have been recorded in Britain, either in the interface between suburbia and farmland or in urban neighbourhoods typified by detached housing. (e.g. Macdonald 1981, Macdonald and Newdick 1985, Harris 1977). The largest ranges have been recorded at 3000 ha in the Arctic or the American midwest or English uplands (1000–2000 ha, Sargeant 1972, Macdonald 1981, see also Lindsay and Macdonald 1986). Throughout much of the European agricultural landscape home ranges appear to fall between 200–500 ha (e.g. Mulder 1985, Lindstrom 1986, Lloyd 1980, Niewold 1980, Reynolds 1987, von Schantz 1984). The situation in urban Oxford city was rather different to that described in most rural populations: there, territorial borders appeared to be unstable, and frequently to change configuration such that over several months they gave the illusion of considerable overlap, whereas at any given moment they overlapped little (Doncaster and Macdonald in prep., Doncaster 1985, Macdonald 1987). The same study revealed a higher proportion of vixens breeding in this population than in a nearby population subsisting on a similar diet, but with much lower mortality, and which was socially very stable. Doncaster and Macdonald (in prep) interpreted the shifting territories and higher vixen productivity as symptoms of social instability caused by the disruption due to higher urban mortality.

(ii) Itinerants

Each autumn almost all surviving subadult males, and a variable proportion of subadult females, disperse from their natal home ranges. The distances they travel vary greatly between individuals and between populations. These measures are often expressed as the straight-line distances between the point at which cubs were ear-tagged, and the point at which they are recorded dead. In Europe, the longest such distance was 500 km travelled by a dog fox in Sweden (Englund 1980). A small proportion of dispersing subadults travel over relatively enormous distances of 100 km or more (e.g. Storm *et al.* 1976, Lloyd 1975, Jensen 1968, 1973). Most, in contrast, travel much shorter bee-line distances, which are positively correlated with the local territory size (Macdonald and Bacon 1982). Characteristic dispersal distances might be illustrated by Lloyd's (1980) figures for two areas in Wales: in an upland area the mean linear distance travelled by male and female foxes from their place of rearing to the places where they were killed were 13.7 and 2.3 km, respectively. In contrast, in an area of higher fox numbers and smaller home ranges, the corresponding mean figures were 4.7 and 1.9 km.

As a general rule, males disperse over larger distances than do females. Furthermore, although some older adults do disperse, the majority of itinerant foxes are yearlings. The patterns of movement of itinerants vary greatly, some travelling in rather straight lines, others weaving a convoluted course, and yet others vascillating between two or more separate areas. This led Voigt and Macdonald (1986) to conclude that several different, and poorly understood, processes were involved. It is also the case that some resident foxes occasionally make excursions of at least several kilometres outside their territories; at least some of these excursions are probably motivated by a search for either food or mates.

Social Organisation

Although historically thought of as a fundamentally solitary canid (e.g. Fox 1971, Kleiman and Eisenberg 1973), recent studies have shown that they sometimes live as family groups (e.g. Niewold 1980, Macdonald 1981). In the context of rabies, this discovery complicates the epizootiology, superimposing the possibility of within-group transmission on that of spread between neighbours, and between itinerants and residents. Social groups of red foxes almost invariably contain only one adult dog fox, but may number up to five adult vixens. Vixens within one group are generally genetical relatives, and groups probably originate when daughters remain as adults in their mother's territory. Vixens in a group vary in status, and an apparent consequence of this in some populations is that subordinate animals do not breed, but may act as helpers at the den (Macdonald 1979, 1980, von Schantz 1984, and see Demography below). The details of the social relationships between individual foxes are complicated, varied and poorly understood (Macdonald 1987).

The functional advantages of group formation by red foxes are poorly understood, but cooperation in various aspects of rearing the young may be important, as may be cooperative defence of the territory and kinship (Macdonald 1979, von Schantz 1984). Consideration of the ecological circumstances that may favour the formation of groups of foxes has prompted at least three sets of models: (i) Macdonald 1981, 1983, Carr and Macdonald 1986, Macdonald and Carr 1988, (ii) Lindström *et al.* 1981, von Schantz 1984b, and (iii) Lindström 1986. Each of these recognises, with different emphases, the significance of the fact that foxes forage opportunistically on food whose abundance is variable and often unpredictable. In so far as food supply differs between habitats not only in abundance but also in pattern of availability, this variation may explain not only variation in fox population density, but also in whether they form groups.

Demography

As a consequence of variation in home range size and group size between populations, estimates of the density of fox populations vary greatly (refs. in Lloyd 1980, Macdonald *et al.* 1981). The age structure and productivity of fox populations also vary. The age-structure tends to a greater representation of younger animals in areas where mortality (often directly due to people) is high. In areas, such as the American midwest, where hunting and trapping are intensive, few foxes survive to three years old (e.g. Phillips 1970). Where mortality is less stringent more than a third may survive to that age (e.g. van Haaften 1970). In a completely undisturbed area it was common to find foxes of five years or older (Macdonald 1981). Such shifts in age-structure due to different levels of man-induced mortality may be paralleled by the effects of rabies-induced mortality.

Vixen productivity differs between populations, probably as a consequence of two mechanisms: (i) variation in litter size and (ii) variation in the percentage of breeding vixens. Part of this variation probably has a proximate ecological basis, litter sizes increasing where food is more available. For example, mean litter sizes have been reported to vary from 3.0 to 8.6, although they are between four and five in many European studies (see Lloyd *et al.* 1976, Englund 1970, Voigt and Macdonald 1985, Lindstrom 1982). The second source of variation in vixen productivity, namely the proportion of adult vixens that rear cubs, may sometimes be proximately determined by social factors. Englund (1970) reports up to 36% of vixens failing to rear cubs in some parts of Sweden, whereas over much of Europe litter sizes averaged 4.3 and only 3.8% of adult vixens were barren (Artois *et al.* 1982, Lloyd *et al.* 1976). Younger foxes (especially yearlings) are generally disproportionately represented in samples of barren vixens (e.g. Harris 1979). It may be that these are the subordinate members of social groups (Macdonald 1979). If so, and to the extent that the operation of the dominance hierarchy requires stable social relationships, one might expect the incidence of barrenness to decline where high mortality destabilises social groups.

Population Density & Contact Rate

One might expect that the frequency and quality of encounters between foxes would vary with their population density. However, considering the complexity of mammalian societies, and of their

movement patterns, there is little reason to assume that such variation follows a linear relationship, or even a simple one. The factors that link population density to the rate at which foxes meet are crucially relevant to rabies epizootiology, since they presumably determine the opportunities for transmission of the disease. Ultimately, the survival of the disease and the foxes depends on the contact rate, i.e. the number of susceptible foxes infected by each infectious fox. For the epizootic to survive, at least one freshly infected fox must, on average, enter the population for each individual that succumbs to the disease. Little is known of the frequency with which foxes meet either their neighbours or their group-mates. Macdonald *et al.* 1980 estimated that two members of the same group were within 50m of each for 4 mins of a 10 hr winter's night in a territory of approximately 15 ha. At least in populations where territories were less than 100 ha, it appeared that several fleeting meetings might occur each night, and the same probably applied where territories were closer to 1000 ha (Macdonald and Voigt 1985).

DISCUSSION

What light does this summary of fox biology shed upon the behaviour of rabies and its control? First, it is important to know whether rabid foxes behave differently to non-rabid ones. There are grounds to believe that they do not, and therefore that the studies of healthy foxes can help us understand rabies. In France, Andral *et al.* (1982) have radio-tracked three wild foxes artificially infected with rabies, and two radio-collared foxes in Ontario which contracted the disease naturally (reported in Macdonald and Voigt 1985). In both studies there was no major difference in the movements of the foxes before and after infection, until they eventually became paralysed and died. In the laboratory some foxes have been reported suffering 'furious' symptoms, but this appears to apply to only a minority of cases (but nonetheless has important, game theoretic implications for the evolution of virus and host, as discussed by Bacon and Macdonald 1980 and Bacon 1985a).

Since about one month elapses between foxes being infected and becoming infectious, a similar lag should be expected between correlates of fox behaviour and patterns in rabies incidence. The relatively steady rate at which the epizootic has advanced across Europe might suggest that transmission advances principally from one social group to the next. Assuming an interval of about one month between successive infections, then the disease might advance by about one home range diameter per month (a range of 500 ha would not be unexpected in agricultural Europe and, if circular, would have a diameter of 1.6 km). Nonetheless, dispersing animals would occasionally be expected to carry the disease well ahead of the front-line, and such occasions are most likely in winter when itinerants are most numerous. Furthermore, the fox population is larger in Autumn and Winter, due to the influx of subadults of the year (although they are born in Spring, the restricted movements of young cubs may partly bar them from the pool of susceptibles). Therefore, the incidence as well as the velocity of rabies might be expected to be greater in winter than in summer. Such an effect could be exacerbated if social contacts within and between groups were increased by winter competition for territories and mates. Johnston and Beauregard (1969) hypothesized that not only did the fox's behaviour in winter increase the likelihood of exposure to rabies, but also the stressed condition of dispersing subadults might increase their susceptibility to infection.

The low representation of young foxes in the summer sample of those dying from rabies may reflect their lower involvement in certain classes of social interaction (such as territorial behaviour). The subsequent increase in the proportion of subadults in the rabid sample could initially reflect the deaths of cubs who contracted the disease from their parents, and latterly reflect young itinerants which are likely to be attacked by territorial residents. Artois and Aubert (1982) also argued that subadults were more susceptible to infection than adults. However, disentangling biological effects from sampling effects is very difficult, and it is important to remember that characteristics (e.g. age, sex *etc.*) of foxes dying may be different from the characteristics of those that survive.

The overall pattern with which the epizootic has spread may reflect any or all of variations in topography, fox population density, contact rate and surveillance efficiency. It appears that the disease is deflected or channeled by some habitats (such as mountain tops and broad rivers) and it

may follow others (such as motorways and railway-lines). Two explanations might underlie the latter phenomena: some dispersing foxes may follow features such as railway lines, carrying the disease with them; alternatively, railway lines may follow certain habitats (such as valley bottoms) which are especially productive and therefore support larger populations of foxes.

The relationship between fox population density, contact rate and rabies epizootiology can only be loosely described. Bogel and Moegle (1980) used the number of red foxes killed per sq km per annum (Hunting Indicator of Population Density—HIPD) as an index of fox populations and found a weak positive correlation between this index of fox population density and the incidence of rabies in areas of 2000 sq km (see Bogel *et al.* 1974). One difficulty with such coarse measures is that one might expect such large areas to embrace several epizootiological phenomena (in Ontario, entire foci of rabies epizootics are generally no more than 1000 sq km). Furthermore, it is uncertain how density dependent factors may affect the hunters' behaviour (Wandeler 1980, Gessler and Spittler 1982), and how fox density and mortality affects contact rate (Macdonald and Bacon 1982, Voigt and Tinline 1982).

Extrapolating from the idea that fox density, and therefore perhaps contact rate, was determined partly by resource availability, various authors have sought to relate the behaviour of rabies to habitat characteristics. The assumption is that habitat characteristics are correlated with the abundance of fox food (Macdonald *et al.* 1981). Although this approach is weakened by, for example, its inability to cope with cyclical variation in prey populations or, directly, with mortality pressures, it has shown some promise (e.g. Harris and Rayner 1986). For example, Jackson (1979) found that a high incidence of rabies was characteristic of certain land classes, and Ball (1985) found that the velocity of the epizootic varied between land classes. Ross (1981) found a clear association between the velocity of the rabies epizootic in France and the presence of limestone bedrock. A plausible, but untested, explanation for associations of this sort is that the habitat features in question (e.g. limestone) support high densities of foxes which have a high contact rate.

One consequence of variation in fox population density between habitats is that baiting schemes (whether with poison or vaccine) may need to be adapted to widely different numbers of foxes (as illustrated by Macdonald 1977, p.89), and this requires a flexible baiting strategem which can be adjusted to local circumstances.

The high intrinsic rate of increase that typifies fox populations (i.e. their relatively r-selected population dynamics) militates against attempts to reduce their numbers by killing them. The complicated nature of their social systems weakens the argument that reducing fox numbers is likely to lead to a concomittant reduction in social contact amongst the survivors. For these two reasons, some ecologists have argued from first principles that killing foxes was unlikely to reduce contact rates sufficiently, and for sufficiently long, to eradicate rabies, or even to control it very effectively (Macdonald 1977, 1980). The same ecological principles suggested that oral vaccination of wild foxes against rabies was more likely to succeed (Bacon and Macdonald 1980, Bacon 1985b). Until recently, discussion of the counter-productive effect on contact rate caused by killing foxes centred around the so-called 'vacuum effect', whereby territories made vacant through the death of their occupants are supposed to be rapidly filled, either by incomers or by the expansion of neighbouring territories. The operation of such a system, although plausible, still awaits study in the wild. However, the discovery that in an area of high mortality (due to road traffic), fox territoriality becomes spatially unstable (Doncaster and Macdonald in prep.) provides a serious candidate for the mechanism whereby contact rate is increased by killing foxes. The existence of such an increase in contact rate is supported by the very fact that rabies has persisted when foxes are gassed or fed poisoned bait, but has disappeared from areas where they are fed oral vaccine (e.g. Steck *et al.* 1982). I suggest that the involvement of fox social behaviour in the epizootiological equation means that the proportion of the fox population that must be killed to eradicate the disease is likely to be different to, and larger than, the proportion that must be immunized to achieve the same end. Bogel and Moegle (1980) suggest that rabies dies out in Europe when fox population densities are so low that the number of foxes killed annually during routine hunting falls below 0.3 per km². Putting aside the shortcomings of this index and its unknown relationship to contact rate, translation of this

HIPD figure into a critical population density at which rabies dies out will require removal of an increasing proportion of susceptibles the denser the fox population. Consequently, the proportion of foxes that must be killed in areas where the carrying capacity for foxes is large are intimidatingly high, as illustrated by the examples in Macdonald *et al.* (1981) and Anderson (1986). However, Bogel and Moegle's estimate of the critical value of HIPD was derived from populations which were, of course, hunted. The critical density of susceptibles at which rabies would be prevented from entering a population of vaccinated foxes could be significantly lower, if the social turmoil due to mortality does indeed increase contact rate. Anderson (1986) suggested that at high fox densities it might be necessary to supplement mass oral vaccination with culling. More must be known about the effects upon contact rate of disturbance caused by fox mortality before assessing whether such supplementary killing would be necessary or even helpful. This assessment is further complicated by the fact that, all else being equal, it seems unlikely that contact rate will vary linearly with fox population density.

Early misgivings about the risks of vaccine-induced rabies in non-target species have been quelled by the lower pathogenicity in mice of SAD-B19 vaccine in comparison to its predecessor (SAD-ERA), and by the fact that some five million baits containing this vaccine have now been distributed in the German countryside without report there of a single case of vaccine-induced rabies (Sneider, this vol.). Already, an alternative to attenuated live virus vaccine has emerged in the form of recombinant vaccinia (Blancou *et al.* 1986) but, even without such possible advances, results from Switzerland and W. Germany (Wandeler and Capeler this vol., Sneider this vol.) indicate that the existing vaccination technology can eliminate wildlife rabies. This has led some to voice a further qualm that eradication of rabies is undesirable in so far as it will cause a population explosion in foxes, and thus a crash in the abundance of game. The former proposition is improbable on biological grounds (to the extent that animal populations are fundamentally limited by their food (Lack 1954)). The second proposition is improper on moral and economic grounds as an argument against eradicating rabies, although predation by foxes may reduce game bags (Lindström *et al.* 1986, Potts 1986), and sometimes even breeding stocks (Tapper *et al.* 1982, Marcstrom *et al.* in press).

In conclusion, there are real prospects that oral vaccination of foxes will lead to the eradication of rabies as a disease of European wildlife within a decade—an achievement which, combining immunological breakthroughs with ecological thinking, would rank amongst the greatest triumphs in the history of wildlife management.

BIBLIOGRAPHY

- Anderson, R. M. Vaccination of wildlife reservoirs. *Nature* 322, 304–305.
- Andral, L., Artois, M., Aubert, M.F.A., and Blancou, J. 1982. Radio-pistage de renards enragés. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 5, 285–291.
- Artois, M. and Aubert, F.A. 1982. Structure des populations (age et sex) de renards en zones indemnes ou atteintes de rage. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 5, 237–245.
- Bacon, P.J. 1981. The consequences of unreported fox rabies. *J. Environ. Manage.* 13, 195–200.
- Bacon, P.J. 1985a. A systems analysis of wildlife rabies epizootics. In: *Population dynamics of rabies in wildlife*. pp. 109–130. Ed: P.J. Bacon. Academic Press, London.
- Bacon, P.J. 1985b. Discrete time temporal models of rabies. In: *Population dynamics of rabies in wildlife*. pp. 147–196. Ed: P.J. Bacon. Academic Press, London.
- Bacon, P.J. and Macdonald, D.W. 1980. To control rabies: vaccinate foxes. *New Sci.* 87, 640–645.
- Blancou, J., Kiény, M.P., Lathé, R., Lecoq, J.P., Pastoret, P.P., Soulebot, J.P. and Desmetre, P. 1986. Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. *Nature* 322, 373–375.
- Bogel, K., Arata, A., Moegle, H. and Knorpp, F. 1974. Recovery of a reduced fox population under rabies control. *Zentralbl. Veterinärmed., Reihe B* 21, 401–412.
- Bogel, K., Moegle, H., Knorpp, F., Arata, A., Dietz, N. and Diethelm, P. 1976. Characteristics of the spread of a wildlife rabies epidemic in Europe. *Bull. W.H.O.* 54, 433–447.
- Bogel, K. and Moegle, H. 1980. Characteristics of the spread of a wildlife rabies epidemic in Europe. In: *The red fox, behaviour and ecology*. pp. 251–258. Ed: E. Zimen. Junk publ., The Hague.
- Braunschweig, A. 1982. Ein Modell für die Fuchspopulationsdynamik in der Bundesrepublik Deutschland. In: *The red fox: behaviour and ecology*. pp. 97–106. Ed: E. Zimen. Junk publ. The Hague.
- Carr, G.M. and Macdonald, D.W. 1986. The sociality of solitary foragers: a model based on resource dispersion. *Anim. Behav.* 34, 1540–1549.

- Constantine, D.G. 1971. Bat rabies: current knowledge and future research. In: *Rabies*. pp. 253–262. Eds: Y. Nagamo and F.M. Davenport. University Park Press, Baltimore, Maryland.
- Cumming, D.H.M. 1982. A case history of the spread of rabies in an African country. *S. Afr. J. Sci.* **78**, 443–447.
- Doncaster, C.P. 1985. The spatial organisation of urban foxes (*Vulpes vulpes*). Oxford. D.Phil. thesis. Univ. Oxford.
- Englund, J. 1970. Some aspects of reproduction and mortality rates in Swedish foxes (*Vulpes vulpes*), 1961–63 and 1966–69. *Viltrevy* **8**, 1–82.
- Englund, J. 1980. Yearly variations of recovery and dispersal rates of fox cubs tagged in Swedish coniferous forests. In: *The red fox: behaviour and ecology*. pp. 195–207. Ed: E. Zimen. Junk publ. The Hague.
- Fox, M.W. 1971. *The behaviour of wolves, dogs and related canids*. Jonathon Cape, London.
- Gessler, M. and Spittler, H. 1982. Relations entre population de renards et limitation de la propagation de la rage en Rhenanie-Westphalie. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **5**, 293–302.
- Haafteft, J. 1970. Fox ecology studies in the Netherlands. *Trans. Int. Congr. Game Biol.* **9**, 539–543.
- Harris, S. 1977. Distribution, habitat utilization and age structure of a suburban fox (*Vulpes vulpes*) population. *Mamm. Rev.* **7**, 25–39.
- Harris, S. 1979. Age-related fertility and productivity in red foxes, *Vulpes vulpes*, in suburban London. *J. Zool. Lond.* **187**, 195–199.
- Harris, S. 1980. Home ranges and patterns of distribution of foxes (*Vulpes vulpes*) in an urban area, as revealed by radio tracking. In: *A handbook on biotelemetry and radio tracking*. pp. 685–690. Eds: C.J. Amlaner and D.W. Macdonald. Pergamon Press, Oxford.
- Harris, S. 1986. *Urban foxes*. Whittet Books, London.
- Harris, S. and Rayner, J.M.V. 1986. Models for predicting urban fox, *Vulpes vulpes*, numbers in British cities and their application for rabies control. *J. Anim. Ecol.* **55**, 593–603.
- Jackson, H.C. 1979. A contribution to the study of fox rabies in relation to habitat in Europe. M.Sc. thesis, Imperial College, Univ. London.
- Jensen, B. 1968. Preliminary results from the marking of foxes (*Vulpes vulpes* L.) in Denmark. *Dan. Rev. Game Biol.* **5**, 3–8.
- Jensen, B. 1973. Movements of the red fox in Denmark investigated by marking and recovery. *Dan. Rev. Game Biol.* **8**, 1–20.
- Johnston, D. H. and Beauregard, M. 1969. Rabies epidemiology in Ontario. *Bull. Wildl. Dis. Assoc.* **5**, 357–370.
- Keightley, A.L., Struthers, J.K., Johnson, S. and Barnard, B.J.H. 1987. Rabies in South Africa: 1980–84. *S. Afr. J. Sci.* **83**, 466–472.
- Kleiman, D.G. and Eisenberg, J.F. 1973. Comparisons of canid and felid social systems from an evolutionary perspective. *Anim. Behav.* **21**, 637–659.
- Lack, D. 1954. *The natural regulation of animal numbers*. Oxford Univ. Press, London.
- Lindsay, I.M. and Macdonald, D.W. 1987. Behaviour and ecology of the Ruppell's fox, *Vulpes ruppelli*, in Oman. *Mammalia* **50**, 462–474.
- Lindström, E. 1982. Population ecology of the red fox (*Vulpes vulpes* L.) in relation to food supply. Ph.D. thesis, Univ. Stockholm.
- Lindström, E. 1986. Territory inheritance in the evolution of group living in Carnivores. *Anim. Behav.* **34**, 1825–1835.
- Lindström, E., Andren, H., Angelstam, P. and Widen, P. 1986. Influence of predators on hare populations in Sweden: a critical review. *Mamm. Rev.* **16**, 151–156.
- Lindström, E., Poulsen, O. and von Schantz, T. 1981. Spacing of the red fox, *Vulpes vulpes* (L.) in relation to food supply. pp. 50–85. In: von Schantz, T. Evolution of group living, and the importance of food and social organisation in population regulation: a study on the red fox (*Vulpes vulpes*). Ph.D. thesis, Univ. Lund, Sweden.
- Lloyd, H.G. 1975. The red fox in Britain. In *The wild canids*. pp. 207–215. Ed: M.W. Fox. Van Nostrand-Reinhold, Princeton, New Jersey.
- Lloyd, H.G. 1980. *The red fox*. Batsford Press, London.
- Lloyd, H.G., Jensen, B., van Haafteft, J.L., Niewold, F.J., Wandeler, A., Bodel, K., and Arata, A.A. 1976. Annual turnover of fox populations in Europe. *Zentrabl. Veterinaarmed., Reihe B* **23**, 580–589.
- Macdonald, D.W. 1977. The behavioural ecology of the red fox. In: *Rabies: the facts*. pp. 70–90. Ed: C. Kalplan. Oxford Univ. Press, Oxford.
- Macdonald, D.W. 1979. Helpers in fox society. *Nature (London)*, **282**, 69–71.
- Macdonald, D.W. 1980. *Rabies and wildlife: a biologist's perspective*. Oxford Univ. Press, London.
- Macdonald, D.W. 1981. Resource dispersion and the social organisation of the red fox, *Vulpes vulpes*. In: *Worldwide Furbearer Conference Proceedings*. pp. 918–949. Eds: J. Chapman and D. Purseley. R.H. Donnelly & Sons, Falls Church, Virginia.
- Macdonald, D.W. 1987. *Running with the Fox*. Unwin Hyman, London.
- Macdonald, D.W. and Bacon, P.J. 1982. Fox society, contact rates, and rabies epizootiology. *J. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **5**, 247–256.
- Macdonald, D.W. and Carr, G.M. 1988. Food security and the rewards of tolerance. Eds: R. Foley and V. Standen. *Symp. Brit. Ecol. Soc.* in press.
- Macdonald, D.W., Ball, F., and Hough, N.G. 1980. The evaluation of home range size and configuration using radio tracking data. In: *A handbook on biotelemetry and radio tracking*. pp. 405–424. Eds: C.J. Amlaner and D.W. Macdonald. Pergamon Press, Oxford.
- Macdonald, D.W., Bunce, R.G.H. and Bacon, P.J. 1981. Fox populations, habitat characteristics and rabies control. *J. Biogeogr.* **8**, 145–151.
- Macdonald, D.W. and Newdick, M.T. 1982. The distribution and ecology of foxes, *Vulpes vulpes* (L.) in urban areas. In: *Urban ecology*. pp. 123–135. Eds: R. Bornkamm, J.A. Lee and M.R. Seeward. Blackwell, Oxford.

- Macdonald, D.W. and Voigt, D.R. 1985. The biological basis of rabies models. In: *Population dynamics of rabies in wildlife*. pp. 71–108. Ed: P.J. Bacon. Academic Press, London.
- Marcstrom, V., Engren, E. and Kenward, R.E. 1988. Relationships between predators, voles and boreal tetraonids: an experimental study. *J. Anim. Ecol.* in press.
- Meredith, C.D. 1982. Wildlife rabies: past and present in South Africa. *S. Afr. J. Sci.* **78**, 411–415.
- Mulder, J.L. 1985. Spatial organisation, movements and dispersal in a Dutch fox population. *Rev. Ecol.* **40**, 135–138.
- Niewold, F.J. 1980. Aspects of the social structure of red fox populations: a summary. In: *The red fox, behaviour and ecology*. pp. 185–194. Ed: E. Zimen. Junk publ., The Hague.
- Phillips, R.L. 1970. Age ratios of Iowa foxes. *J. Wildl. Manage.* **34**, 52–56.
- Potts, G.R.E. 1986. *The Partridge*. Collins, London.
- Ross, J. 1981. Rabies spread and land classes in France. In: *Habitat classification, fox populations and rabies spread*. Eds: P.J. Bacon and D.W. Macdonald. Merlewood Res. Dev. Pap. No. 81, pp. 26–30 and suppl.
- Sargeant, A.B. 1972. Red fox spatial characteristics in relation to waterfowl predation. *J. Wildl. Manage.* **36**, 225–236.
- Steck, F., Wandeler, A., Bickel, P., Capt, S., Hafliger, U. and Schneider, L. 1982. Oral immunization of foxes against rabies: laboratory and field studies. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **5**, 165–171.
- Storm, G.L., Andrews, R.D., Phillips, R.L., Bishop, R.A., Siniff, D.B. and Tester, J.R. 1976. Morphology, reproduction, dispersal and mortality of mid-western fox populations. *Wildl. Monogr.* **49**, 1–82.
- Tapper, S.C., Green, R.E. and Rands, M.R.W. 1982. Effects of mammalian predation on partridge populations. *Mamm. Rev.* **12**, 159–167.
- Toma, B. and Andral, L. 1977. Epidemiology of fox rabies. *Adv. Virus Res.* **21**, 1–36.
- Verts, B.J. 1967. *The biology of the striped skunk*. Univ. Illinois Press, Urbana.
- Voigt, D.R. and Macdonald, D.W. 1985. Variation in the spatial and social behaviour of the red fox, *Vulpes vulpes*. *Acta Zool. Fenn.* **171**, 261–265.
- Voigt, D.R. and Tinline, R.R. 1982. Fox rabies and trapping: a study of disease and fur harvest interaction. In: *43rd Midwest Wildlife Conference, Furbearer Symposium*. pp. 139–156. Ed: G.C. Sanderson. Wichita, Kansas.
- von Schantz, T. 1984a. Non-breeders in the red fox, *Vulpes vulpes*: a case of resource surplus. *Oikos* **42**, 59–65.
- von Schantz, T. 1894b. Spacing strategies, kin selection and population regulation in altricial vertebrates. *Oikos* **42**, 48–58.
- Wachendorfer, G. 1977. The problem of rabies in the European region. Paper to 2nd European Conference on Surveillance and Control of Rabies, Frankfurt, November.
- Wandeler, A. 1980. Epidemiology of fox rabies. In: *The red fox, behaviour and ecology*. pp. 237–250. Ed: E. Zimen. Junk publ. The Hague.

LA RAGE SYLVATIQUE EN EUROPE

J. Blancou*, M.F.A. Aubert* et M. Artois*

* Ministère de l'Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation,
Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux
Sauvages, B.P. 9, 54220 Malzéville, France.

RESUME

Si des cas de rage ont été rapportés depuis l'Antiquité chez diverses espèces d'animaux sauvages d'Europe, de véritables épizooties n'ont été décrites de façon détaillée qu'au XVIII^e siècle (Suisse et Allemagne : 1803-1840; Autriche : 1866-1872) puis au XX^e siècle (1940 à nos jours). C'est l'adaptation du virus à une espèce, par passages successifs accélérés, qui serait le signal déclenchant de telles épidémies, semble-t-il.

L'épidémie actuelle frappe toutes les espèces sauvages mais, dans plus de 75% des cas, c'est le Renard roux (Vulpes vulpes) qui est atteint en Europe occidentale. Cette espèce est donc considérée comme le vecteur (sans elle, la rage disparaît) et le réservoir (c'est elle qui "conserve" le virus) de la maladie. Dans les zones de l'Est ou du Nord de l'Europe, le Chien viverrin (Nyctereutes procyonoides) ou le Renard arctique (Alopex lagopus) peuvent assurer le même rôle de vecteur et réservoir. La rage des Chauves-souris (Eptesicus serotinus) se développe depuis 1985.

L'épidémie évolue dans le temps (cycle saisonnier : pics en hiver, et cycle pluriannuel : pics tous les 3 à 6 ans) et dans l'espace (le "front de la rage" a avancé de 30 à 40 km par an de 1940 à 1980).

Depuis 1980 le front s'est pratiquement stabilisé en Europe occidentale, à la suite de modification du virus rabique, semblerait-il.

Les mesures de contrôle appliquées de 1940 à 1978 ont été essentiellement celles de la réduction des populations vulpines. Depuis 1978, des essais de vaccination par voie orale lui ont été associés .

INTRODUCTION

Rages animale et humaine ont toujours sévi, et depuis des temps très reculés, en Europe. Des cas de rage du Chien y ont été rapportés plusieurs siècles avant l'ère chrétienne (Théodoridès, 1986). Mais ces rapports n'ont jamais fait que de très brèves allusions à la rage des animaux sauvages (Renard, Chacal) qui étaient moins redoutés que le Chien, à l'exception du Loup ou de l'Ours. Il fallut attendre le 18^e siècle pour trouver la relation détaillée de véritables épidémies de rage chez une espèce sauvage : le Renard roux.

C'est dans la région jurassienne (territoires suisse et allemand actuels) de 1803 à 1840 que fut rapportée la première épizootie vulpine caractérisée. Une seconde épidémie fut décrite de 1866 à 1872 en Carinthie (territoire autrichien actuel). Curieusement ce ne fut qu'au 20^e siècle qu'une nouvelle explosion de rage du Renard fut observée, à partir des années 1950.

Cette épizootie semble être née à la frontière russo-polonaise, au moment où la rage canine était progressivement maîtrisée dans la région. Le rôle de vecteur du virus s'est donc trouvé transféré, en quelques années, du Chien domestique au Renard roux (Winkler, 1975). Le mécanisme de ce changement est encore inconnu. Mais il a été suggéré que le virus

vulpin actuel puisse être un virus canin adapté par passages successifs sur des renards contaminés par des chiens (Blancou, 1985).

Les autres épidémies de rage sylvatique (Renard polaire, Chien viverrin, Chauve-souris) n'ont été reconnues ou caractérisées que récemment en Europe. Elles ne semblent donc pas avoir atteint le degré de gravité de la rage du Renard roux ou du moins ne pas avoir attiré la même attention.

LES CARACTERES DE L'EPIDEMIE ACTUELLE

L'épidémie de rage sylvatique européenne actuelle possède un certain nombre de caractères particuliers.

1. Les espèces animales atteintes, les virus en cause

Il existe actuellement en Europe plusieurs épidémies distinctes de rage sylvatique. Elles frappent des espèces animales différentes et les virus rabiques qui en sont responsables peuvent être également différents.

. Le Renard roux (Vulpes vulpes) : C'est l'espèce qui, incontestablement, a déjà payé le plus lourd tribut à la rage sylvatique. Le nombre de cas de cette maladie diagnostiqués au laboratoire (donc très inférieur au nombre de cas réels) était le suivant, au 1er janvier 1987 :

Pays	Nombre de cas de rage du renard roux	Nombre de cas de rage des autres espèces sauvages
Autriche	14 109	2 500
Belgique	1 561	73
Tchécoslovaquie	12 494	563
Rép. Démocratique All.	12 775	1 417
Danemark	308	134
Rép. Fédérale All.	43 281	7 047
France	16 605	770
Hongrie	9 992	131
Italie	1 809	259
Luxembourg	448	38
Pays-Bas	68	11
Pologne	6 467	1 399
Roumanie	249	43
Suisse + Lichtenstein	6 923	1 245
Yougoslavie	8 448	322
Total	135 537	15 952

C'est un virus rabique du sérotype 1 (Comité O.M.S. d' Experts de la Rage, 1984) qui est responsable de l'épidémie de rage vulpine actuelle. Si plusieurs "variants" ont été reconnus par la technique des anticorps monoclonaux qui diffèrent par les caractères antigéniques de leur nucléocapside virale ("Pasteur et la rage", 1985), ils ont tous le même caractère pathogène en Europe. Mais une sélection des ces variants n'est pas exclue, qui modifie le caractère de l'épidémie au cours du temps (voir infra).

Le virus rabique vulpin est, quoiqu'il en soit, hautement adapté à son hôte il suffit de 0,3 "DL50 intracérébrale souris" pour tuer un

renard sur deux, alors qu'il en faut plus de 100 000 dans le cas des carnivores domestiques. Toutefois à très faible dose il ne tue pas très vite car durée d'incubation et dose de virus infectant sont inversement corrélées : des renards contaminés peuvent donc survivre plusieurs années et se comporter comme des réservoirs de virus.

. La Chauve-souris sérotine (Eptesicus serotinus)

Si plusieurs cas de rage des chauves-souris ont été rapportés en Europe, depuis 1954, c'est chez la Sérotine que le pourcentage le plus élevé de cas a été reconnu et surtout à partir de l'année 1985.

A la fin du second trimestre 1987 le nombre de cas diagnostiqués au laboratoire était le suivant :

Pays	Nombre officiel de cas diagnostiqués en		
	1985 (ou antérieurement)	1986	1987*
Danemark	10	103	12
Espagne			2
Pays-Bas			7
République Féd. Allemande	4	9	2

* Faute de renseignements suffisants pour le premier semestre 1987, il n'est pas possible de préciser s'il s'agit uniquement d'Eptesicus serotinus ou si plusieurs espèces de chauves-souris sont concernées.

C'est un virus rabique apparenté au sérotype 4 (prototype : Duvenhage) qui est responsable de l'épidémie de rage de la sérotine. Ce sérotype a été isolé, en 1971, d'un cas de rage humaine contractée par morsure de chauve-souris en Afrique du Sud. L'origine des cas de rage européens reste, actuellement, inconnue bien qu'une importation d'Afrique ne puisse être exclue. La rage des sérotines évolue de façon totalement indépendante de celle des animaux terrestres. Si elle est considérée comme peu contagieuse pour ces autres animaux (du fait de la rareté des morsures) elle peut être mortelle pour eux, comme pour l'Homme.

. Chez les autres espèces animales sauvages européennes il ne semble pas exister actuellement, d'épidémies indépendantes de rage, sauf peut-être chez le Renard polaire (Alopex lagopus) ou le Chien viverrin (Nyctereutes procyonoides), dans le nord de la Russie ou certaines régions d'U.R.S.S. et de Pologne. Mais ces épidémies sont très mal connues. Les virus responsables seraient de sérotype 1 ou apparentés.

2. L'évolution de la rage sylvatique dans le temps et dans l'espace

2.1 Dans le cas de la rage vulpine il existe deux sortes de cycles. Un premier cycle, saisonnier, se caractérise par un pic annuel au mois de mars. Ce pic semble bien lié à deux événements successifs de la biologie du Renard : la naissance, puis la dispersion des renardeaux (automne) et la période de rut (hiver). Un plus grand nombre de renards (jeunes) se rencontrant plus souvent (rut) fournit au virus l'occasion de passages en série. Après le temps nécessaire à l'amplification progressive du phénomène, la rage "explose" en mars, puis régresse faute de renards, dont plus de 50 p 100 sont morts de la maladie (Steck et Wandeler, 1980). Un second cycle pluriennal existe surtout durant les phases "conquérantes" de la rage : il est de 3 à 6 ans selon la densité

vulpine et son contrôle par l'Homme. Il correspond, logiquement, à l'effectif d'animaux disponibles pour le développement du virus : cet effectif, très réduit après une épizootie, met plusieurs années à se reconstituer (Toma et Andral, 1977). Lorsque la rage ne progresse plus dans l'espace, ce cycle pluriennal est beaucoup moins net : on entre en effet dans une phase enzootique à "cycles amortis" peut-être du fait d'un changement dans le caractère de contagiosité du virus (voir infra).

. La rage vulpine évolue également dans l'espace : de 1950 à 1978 elle a progressé régulièrement d'est en ouest à une vitesse moyenne de 30 à 40 km. Ce serait la durée moyenne d'incubation de la maladie (1 mois) et les dimensions du territoire d'un renard (2 à 4 km) qui régleraient cette vitesse à environ 12 x 3 km/an (Toma et Andral, 1977). Toutefois depuis une dizaine d'années cette progression s'est pratiquement arrêtée en Europe occidentale (cf figure 1). Ce seraient les modifications des caractères immunogènes du virus rabique, après cette série ininterrompue de passages successifs depuis 1950 qui pourraient expliquer cet arrêt (Blancou et al, 1987).

2.2 Dans le cas de la rage des autres espèces animales sauvages nous ne disposons pas de données aussi nombreuses que pour le Renard. Les raisons en sont le manque de recul (cas des chauves-souris) ou l'imprécision des renseignements obtenus dans les régions peu habitées ou peu surveillées (cas des renards polaires et chiens viverrins). Quelques tendances se dégagent cependant dans les différents cas :

. Chauve-souris sérotine : l'épidémie a un cycle saisonnier très net (pic au printemps et en été) lié à l'hibernation des animaux. Durant cette hibernation (automne-hiver), il n'est en effet pratiquement porté aucun diagnostic de rage, ce qui n'exclut pas, pour autant, qu'il n'y ait pas de mortalité. L'épidémie évolue également dans l'espace : les foyers allemands, danois et néerlandais semblent bien liés (figure 2). Mais on ne dispose pas encore de données suffisantes sur la biologie des sérotines pour expliquer, et encore moins prévoir, le mécanisme de cette extension. De même sait-on très peu de chose des contacts inter-espèces qui pourraient expliquer la diffusion du virus par des chauves-souris migratrices autres que les sérotines, qui ne sont que très occasionnellement atteintes de rage, actuellement.

. Renard polaire : la rage de cette espèce semble avoir acquis les caractères d'une enzootie permanente, préfigurant peut-être celle du Renard roux dans les années à venir. Mais du fait de la conservation pratiquement indéfinie du virus aux très basses températures des régions arctiques, ce foyer n'a aucune raison de disparaître spontanément, contrairement au précédent.

. Chien viverrin : le virus de cette espèce semble bien adapté à son hôte chez lequel la rage évoluerait à l'état endémique et de façon indépendante de la rage vulpine (Duchêne, 1987).

CONTROLE DE LA RAGE SYLVATIQUE

. Le contrôle de la rage vulpine se conçoit, actuellement, dans la plupart des pays d'Europe, de la même façon que celui de la race canine, c'est-à-dire par l'association des mesures de prophylaxie sanitaire et médicale.

1. Mesures de prophylaxie sanitaire

Elles ont pour but de réduire la densité des populations vulpines. Cette réduction a trois objectifs distincts :

. Réduire le nombre de renards enrégés de façon à réduire le

nombre d'autres animaux contaminés (directement) et le risque pour l'Homme (généralement contaminé indirectement par chien, chat et bovin interposés). Ce but est généralement atteint.

. Réduire le nombre de renards sains pour ralentir l'avance de la rage. Ce but est rarement atteint, faute d'une action réellement efficace sur la densité, et aussi parce que la progression de la rage n'est pas totalement dépendante de cette densité (Toma et Andral, 1977).

. Réduire le nombre de renards sains en zone vaccinée (voir infra) afin que la vaccination y soit réellement efficace. Car au-dessus d'un certain seuil de densité (ex. : plus de 3 renards/km²) les modèles mathématiques montrent que la vaccination par voie orale ne serait plus efficace (Anderson, 1986). Cet objectif est plus facile à atteindre que le précédent.

2. Mesures de prophylaxie médicale

Développée aux USA, puis en Europe, (Baer, 1975) la vaccination par voie orale des renards a été appliquée en Suisse dès 1978, puis en Allemagne (1983), en URSS (1983), en Autriche, en Belgique, en France en Italie et au Luxembourg (1985 à 1987). Elle consiste à déposer dans les zones fréquentées par des renards des appâts (tête de poule ou cube de viande) contenant une capsule plastique remplie de virus vaccin vivant "SAD". Lorsque la densité de renards n'est pas trop élevée le dépôt de 15 appâts/km² au printemps et à l'automne suffit à faire disparaître la rage en deux ans (Schneider, 1985).

. Le contrôle de la rage du Renard polaire et du Chien viverrin n'a jamais été effectué de façon systématique ni coordonnée. Des essais de vaccination par voie orale du Chien viverrin ont cependant déjà été conduits, en station expérimentale, en Finlande (Dr Schneider, communication personnelle).

. Le contrôle de la rage des chauves-souris insectivores apparaît actuellement à tous les experts européens comme très difficile. La limitation de leurs populations paraît à la fois inutile et dangereuse pour des espèces déjà fortement menacées de disparition, par la pollution de leur environnement (habitat). Leur vaccination orale contre la rage n'a jamais été envisagée ni étudiée. La seule mesure pragmatique de défense de l'Homme contre la rage des chauves-souris insectivores européennes paraît donc, à ce jour, une large information des personnes à risque : elle devra être correcte, claire et confiée à des organismes qualifiés.

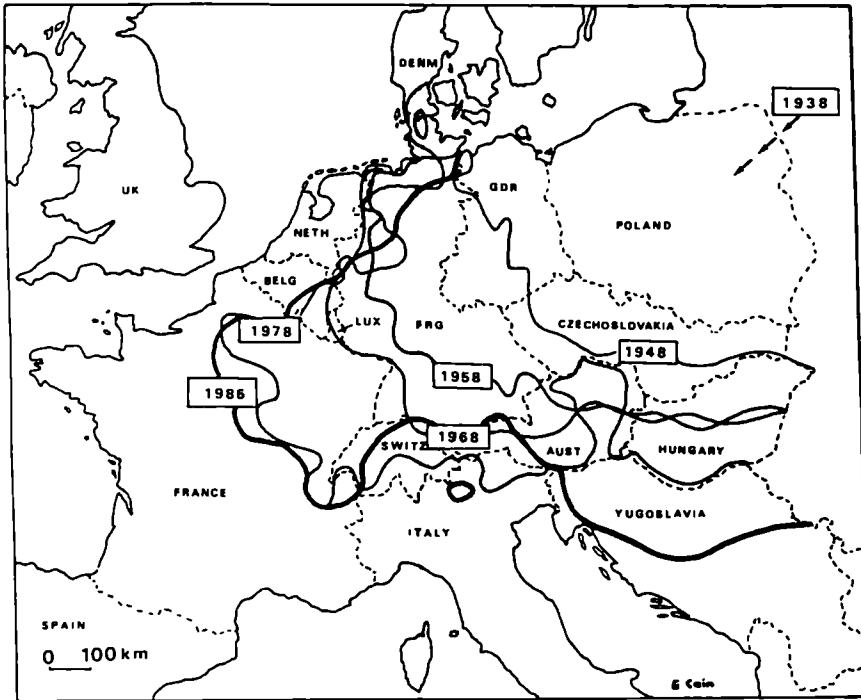


Figure 1 : Progression de la rage vulpine en Europe de 1938 à 1986.

FIGURE 2

Localisation des cas de rage des chiroptères en Europe depuis 1985



 Cas danois de 1985 et 1986

• 1985

▪ 1986

○ 1987

REFERENCES

- Anderson, R.M. 1986. Vaccination of wildlife reservoirs. *Nature*, 322, 304-305.
- Baer, G.M. 1975. Wildlife vaccination. In "The natural history of rabies" (Ed. G.M. Baer). (Academic Press, New York). 2, pp. 261 - 266.
- Blancou, J. 1985. La rage animale de Pasteur à nos jours. Evolution de son épidémiologie et de sa prophylaxie. *Publ. Acad. Vét. France*, 58, 455-461.
- Blancou, J., Aubert, M.F.A., Artois, M. et Barrat, J. 1987. Pourquoi la rage ne progresse-t-elle plus en Europe depuis dix ans ? *B.E.M.R.A.F.*, 17.
- Comité OMS d'experts de la rage. 1984. 7è rapport. Série de rapports techniques 709. (Organisation Mondiale de la Santé, Genève). 113 p.
- Duchêne, M.J. 1987. Contribution à l'étude de deux carnivores introduits en France : le Chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*), le Raton laveur (*Procyon lotor*) et de leur rôle dans l'épidémiologie de la rage. D.E.S. Sciences Naturelles, Université de Nancy I, 107 p.
- Pasteur et la rage. 1985. (Ed. R. Rosset). (Inf. Tech. Serv. Vét., Paris).
- Schneider, L.G., 1985. Immunization of wildlife against rabies. *Ann. Virol./Inst. Pasteur*, 136E.
- Steck, F. and Wandeler, A. 1980. The epidemiology of fox rabies in Europe. *Epidemiol. Rev.*, 2, 71-96.
- Théodoridès, J. 1986. Histoire de la rage. *Cave canem*. (Masson, Paris). 289 p.
- Toma, B. and Andral, L. 1977. Epidemiology of fox rabies. In "Advances in virus research" (Eds. N. A. Lauffer, F.F. Banc, W. Maxamorsch and K.M. Smith). (Academic Press, New York). pp. 1-36.
- Winkler, W.G., 1975. Fox rabies. In "Natural history of rabies" (Ed. G.M. Baer). (Academic Press, New York). 2, pp. 3-22.

Eradication Of Rabies Through Oral Vaccination

The German Field Trial

by L. G. Schneider and J. H. Cox*

1. Introduction

The experimental use of oral vaccination for the prevention and control of wildlife rabies is a comparatively young method. The results achieved using this technique are very encouraging and the advances occur so rapidly that the reporting can hardly keep step. The historical development is shown in **Figure 1**. It should be added, that field trials outside of Europe have only been carried out in Canada since 1985.

*Authors' address: Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals,
P.O.Box 1149, D-7400 Tübingen, Federal Republic of Germany

Fig. 1

**HISTORY OF ORAL IMMUNISATION
against RABIES**

1970	USA: Foxes can be orally immunised
1970-1980 WHO	Research Projects on <ul style="list-style-type: none">- Safety- Vaccine development- Bait improvement
since 1978	First orienting field trial in Switzerland
since 1983	Begin of the field trial in Germany <ul style="list-style-type: none">- 1983: Vaccination area 3000 km² NEW- 1987: Vaccination area 80000 km² NEW
since 1985	Participation of Italy - Austria - Luxembourg, Belgium - France in the field trial
from 1989	Eradication of rabies in Europe with the assistance of the E.E.C.

2. Vaccine and Organisation of Bait Placement

With regard to the size of the vaccination areas and the number of baits needed there is now extensive experience with the attenuated Tübingen live-virus vaccine SAD B19. The developmental research and the organisation of the German field trial have been reported in detail (Schneider et al., 1983) and are summarized in Figures 2 and 3. Vaccine, bait and organisation model have been taken over by the countries mentioned in Figure 1.

Special properties of the SAD B19 vaccine:

- Sufficiently stable even at high temperatures (40°C) for more than 14 days in the field
- storable at -20°C
- high efficacy for foxes even at low dosage (10⁶ TCID/Dose)

Fig. 2

DEVELOPMENTAL RESEARCH

1. Vaccine SAD B19

- **ABSOLUTE Safety** for DOMESTIC and WILD ANIMALS
- **INCREASED Efficacy** FOR FOXES
- **Stability** (TEMPERATURE; GENETICAL)

2. Differential Diagnosis

- DIFFERENTIATION of **Street VIRUS** and **VACCINE VIRUS**
- through specific MONOCLONAL ANTIBODIES

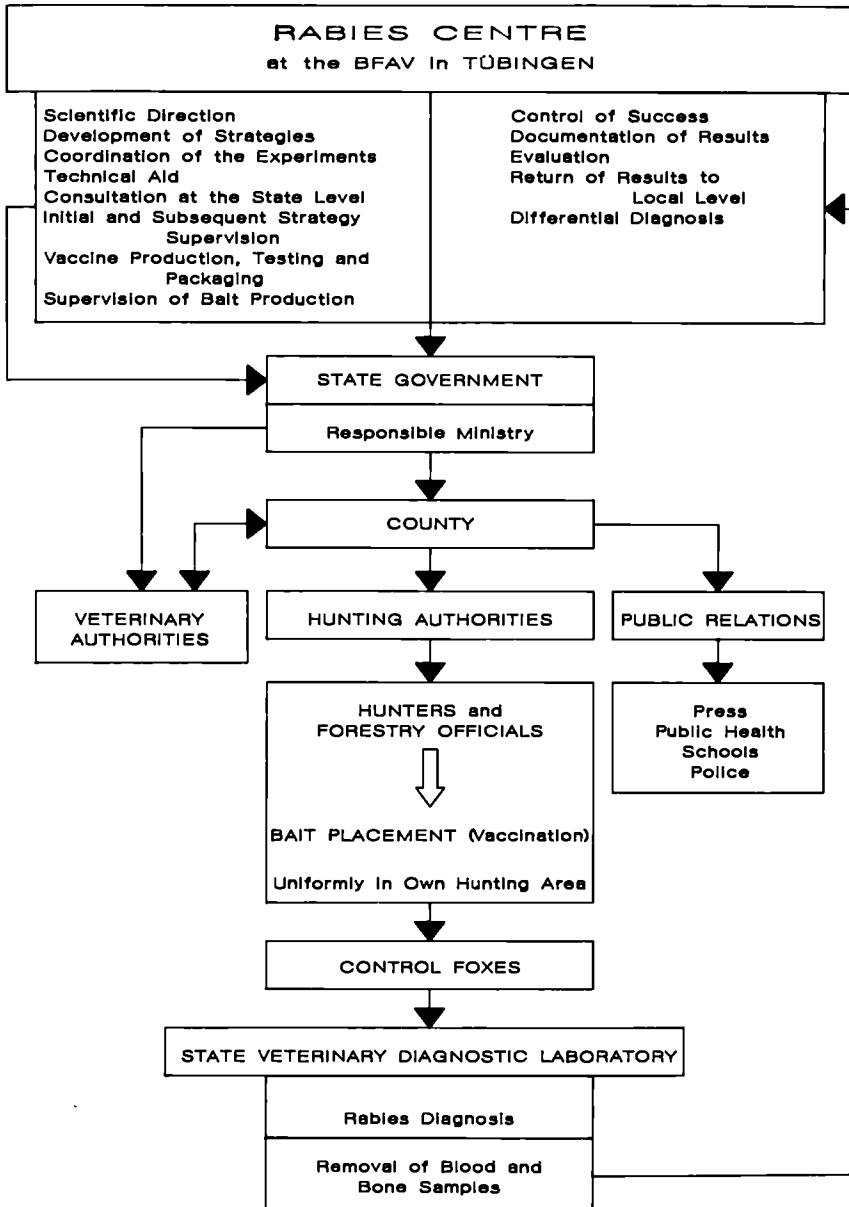
3. Tübingen, Fox Baits

- **attractive** for FOXES
- **efficient**
- **mass-producible**
- **storeable** i.e. at -20° C
- **water-repellant**
- **cheap**

4. Organisation and Bait Placement

- **so-called Bavarian Model** -
- **Organisation** through VETERINARY AND HUNTING AUTHORITIES
- **Public Relations** through SCHOOLS AND INFORMATION MEETINGS WITH HUNTERS
- **Bait Placement** (UNIFORMLY: 15 BAITS/km²) by **Private Hunters** and FORESTRY OFFICIALS

Fig. 3



3. Safety of the Live Vaccine in the Field

In the laboratory the safety of SAD B19 could be shown for a series of laboratory, domestic and wild animals (Schneider and Cox, 1983, Schneider, 1984, Wachendörfer, 1984). This was later confirmed for further animal species. Figure 4 shows several animal species in which the vaccine was not only safe at the highest dosage (10^8 TCID/ml) but which could also be effectively immunised.

Fig. 4

Animal Species Developing Immunity After Oral Application of SAD B19 Vaccine

Animal Species	Imunogenic Dosis
FOX, adult	10^6
FOX, juvenile (3 weeks-3 months)	10^6
MARTEN	10^7
BADGER	10^7
WILD BOAR	10^6
DOMESTIC PIG	10^6
DOMESTIC DOG	10^8
RACCOON DOG	10^7
RACCOON	10^7
JACKAL	10^7

All data over safety obtained in the laboratory contain certain residual risks. At the begin of the present German field trial two such risks were evident:

- the establishment of the vaccine virus in a non-fox reservoir as well as
- possible cases of vaccine-induced rabies.

The virological examinations carried out since 1983 have conclusively shown these risks to be non-existent (Figure 5): In the course of the present trial over 5.2 million vaccine doses have been placed in the field and approximately 50,000 animals from the vaccination areas have been examined. Not one case of vaccine-induced rabies could be detected. All isolates were shown to be wild-type virus. Therefore, the safety of the SAD-B19 vaccine has been conclusively proved in the field.

Fig. 5

SAFETY of SAD B19 Vaccine in the Field

1983 - 1987

**More than 5.2 million doses in the field
NO case of vaccinal rabies**

-
- > 3000 rodents negative for rabies
 - 7846 foxes tested for seroconversion
 - 5856 rabid foxes and
1856 other rabid animals
from vaccination areas tested
by monoclonal antibody
 - > 30.000 additional rabies suspects
examined from vaccination
areas
-

TOTAL: > 48.558 animals were lab.examined

4. Results of the Field Trial

4.1 Vaccination Strategies

Strategies, tested and proven in the present trial, are shown in Figure 6. The basic idea behind the vaccination is that, in order to eliminate rabies in non-alpine areas, it is necessary to start the vaccination in sufficiently large coherent territories and to continuously increase the area into the infected periphery. Internationally coordinated measures have the highest priority.

Fig. 6

STRATEGIES

A. Prevention

immune belt - annual vaccination

B. Control -- Eradication

1. Alpine territory

1 Fox/km² : 2 vaccinations annually

2. Non-alpine territory

- moderate infection) 3 vaccinations
or 1-3 foxes/km²) annually or
biannually

- heavily infected) 3 vaccinations
or > 3 foxes/km²) biannually
plus SPOT

Depending on the density of the fox population and the frequency of rabies, the vaccination strategy may differ. In heavily infected areas a twice yearly vaccination in app. six month intervals has proved to be effective as well as economical (4. Round Table Discussions between the Federal States participating in the Field Trial, Friedrichshafen, 15.-16. September 1987).

4.2 Vaccination Campaigns and Areas

In Figure 7 the various vaccination campaigns since 1983, taking into account the yearly NEW vaccinated areas and the number of baits, is summarised. The vaccination of large areas was first possible in the Fall of 1985 with the development of the so-called Tübinger Fox Bait.

Fig. 7

Impfaktionen 1983-1987 in Europa

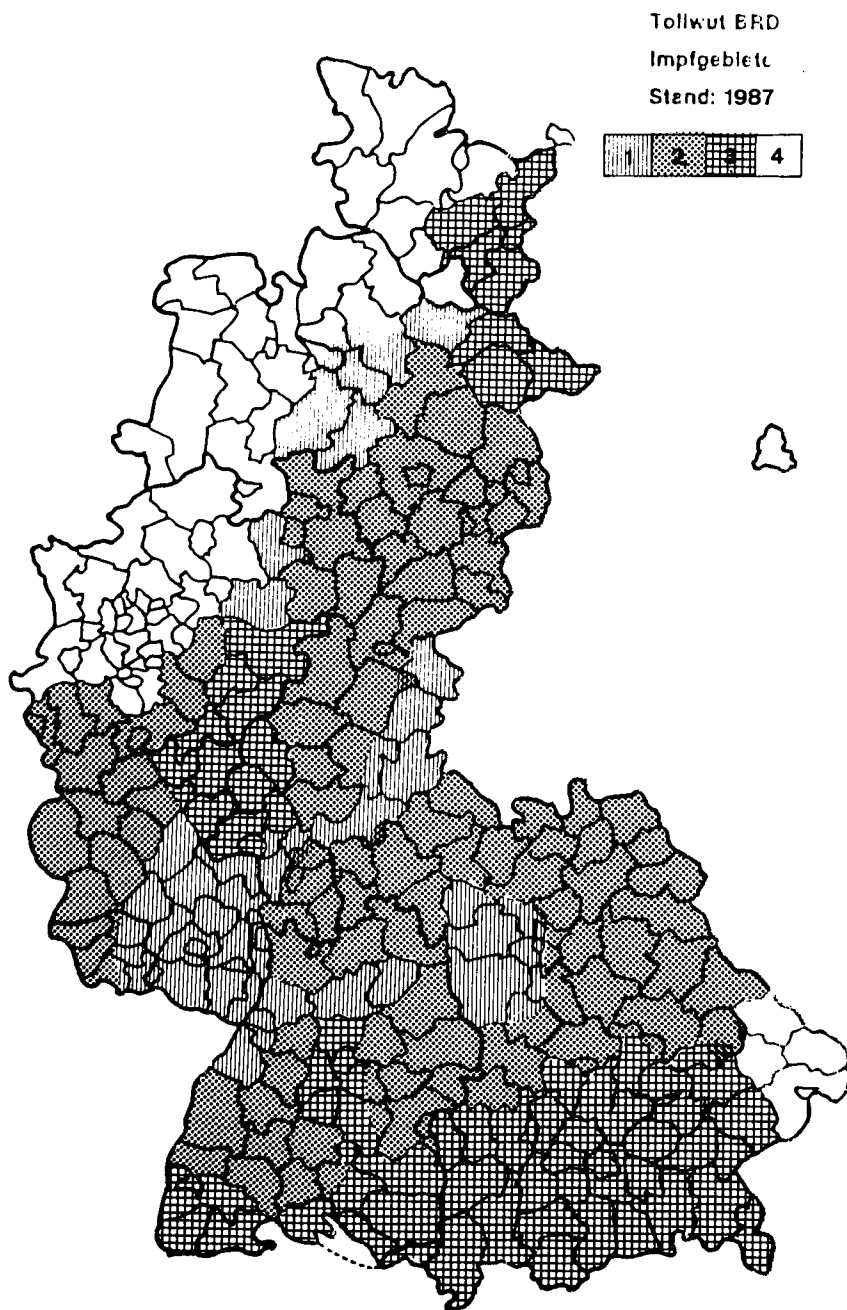
MIT SAD B19 VAKZINE

LAND	JAHR	FLÄCHE neu	ANZAHL DER IMPFKÖDER
DEU	1983	4.870 km ²	190.000 HK ⁺
DEU	1984	6.798 km ²	286.000 HK
DEU	1985	25.848 km ²	400.000 TÜ*
DEU	1986	31.822 km ²	1.321.600 TÜ
DEU	1987	83.947 km ²	2.603.200 TÜ
DEU	Total		4.800.800 Köder
	1983-87	153.285 km ²	= 61.7 % Fläche DEU
AUSLAND			
ITA	1985/86	2.100 km ²	77.000 TÜ
AUT	1986-87	5.200 km ²	120.000 TÜ
LUX	1986-87	2.200 km ²	117.600 TÜ
BEL	1986-87	3.400 km ²	72.400 TÜ
FRA	1986-87	1.200 km ²	44.800 TÜ
Total	1985-87	14.100 km ²	= 431.800 TÜ-Köder

+ = HK = Hühnerkopfköder

* = TÜ = Tübinger Fuchsköder

Fig. 8



The expansion of the vaccination areas in the Federal Republic of Germany is depicted in Figure 8.

Hatching Nr. 3 shows the areas which, due to the vaccination, are now rabies-free and are either left behind or in the process of last "clean-up" campaigns.

Hatching Nr. 2 shows the areas presently being vaccinated. Hatching Nr. 1 depicts those areas planned for future vaccination. The non-hatched areas (Nr. 4) will not be vaccinated as long as the epidemiological situation this allows.

4.3 Seroconversion in Foxes

The seroconversion ascertained in 7846 foxes and the resulting impact on the success of vaccination is shown in Figures 9 and 10.

Fig. 9

SEROCONVERSION IN FOXES

1983 - 1987

1. Total:

7846 foxes examined:

67 % had antibodies (AB-pos)

73 % were TC positive

2. Chicken Bait:

1867 foxes examined: 57 % AB-pos

3. Tübingen Bait:

5979 foxes examined: 69 % AB-pos

excluding Hessen

3990 foxes examined: 78% AB-pos

64% titer > 1:180

CONCLUSIONS:

- 3 from 4 foxes are protected
- important: 3 from 4 foxes no longer disseminate rabies
- this equals a population reduction to 1/4 of susceptible foxes

Fig. 10

What does a 75 % Vaccination Success mean?

- 3 from 4 foxes are reached by the oral vaccination and are protected against rabies
- moreover: 3 from 4 foxes are unable to further disseminate the disease
- this amounts to a population reduction to 1/4 of the foxes

CONSEQUENCE

- Disruption of the chain of infection
- Drastic reduction of the rabies cases even after a single vaccination
- Eradication of rabies after 2-3 repeated vaccinations
- Vaccination area can be left behind

The diverse efficiency of chicken-head baits and the Tübinger Fox Bait are especially evident (Fig. 9, Pt. 3) if one disregards the results from Hessen which were obtained using a different method: Following placement of the Tübinger Fox Baits, 3990 foxes were examined and 78% showed seroconversion of which 64% had a titer of 1:180 or higher.

That these high rates of immunisation are not the cumulative results of several successive vaccinations is clearly shown in Figure 11. From 208 foxes examined from an 11,183 km² area first vaccinated in the Spring of 1987 a seroconversion rate of 88% was determined.

Fig. 11

SPRING 1987
NEWLY VACCINATED AREAS

CONTROL PRESERVES and SEROCONVERSION

AREA	BAIT-UP TAKE IN %			ANTIBODIES		
	CONTROL PRESERVE			TC	pos/Foxes exam. = %	
BAMBERG	27%	63%	70%	53 %	92 %	13/13 = 100 %
BAYREUTH	15%	27%	60%	34 %	78 %	16/18 = 89 %
COBURG	-	-	-	-	60 %	4/ 5 = 80 %
FORCHHEIM	-	42%	43%	43 %	100 %	8/ 8 = 100 %
HOF	23%	30%	41%	31 %	88 %	21/26 = 81 %
KRONACH	-	-	-	-	93 %	20/28 = 71 %
KULMBACH	-	-	-	-	85 %	9/13 = 70 %
LICHTENFELS	-	-	-	-	50 %	2/ 2 = 100 %
WUNSIEDEL	-	-	-	-	100 %	7/ 7 = 100 %
TIRSCHENREUTH	-	46%	48%	47 %	87 %	29/30 = 96 %
AMS + NEW	-	-	-	-	90 %	55/58 = 95 %
12 COUNTIES:	15% to 70%			42 %	90 %	184/208 = 88 %

Figure 11 also allows another important assertion over the density of bait placement. An average of 15 baits pro 100 hectar (= 1 km²) are uniformly distributed. In so-called "control preserves" the disappearance of the baits within a 14 day period are regularly documented. The results shown in Figure 11 show that the rate of observed bait uptake of 31-51% was much lower than the previously determined rate of 65-85%. In spite of this result the number of immunised foxes was very high with 88% showing seroconversion. This means that approximately 1/3 of the baits are sufficient to immunise the majority of the fox population. Therefore, high rates of bait uptake indicate that not only foxes but also other non-target species such as wild boars, martens, badgers as well as dogs and cats participate in bait uptake.

4.4 Decline of Rabies

The reduction of rabies in vaccination areas is the most important indication of success. Figure 12 compares the frequency of rabies in vaccination areas which have been vaccinated at least 3-times with non-vaccination areas (none or less than 3 vaccinations).

Fig. 12

TOLLWUTDICHTEN

in Impfgebieten (I) zu Nichtimpfgebieten (NI)

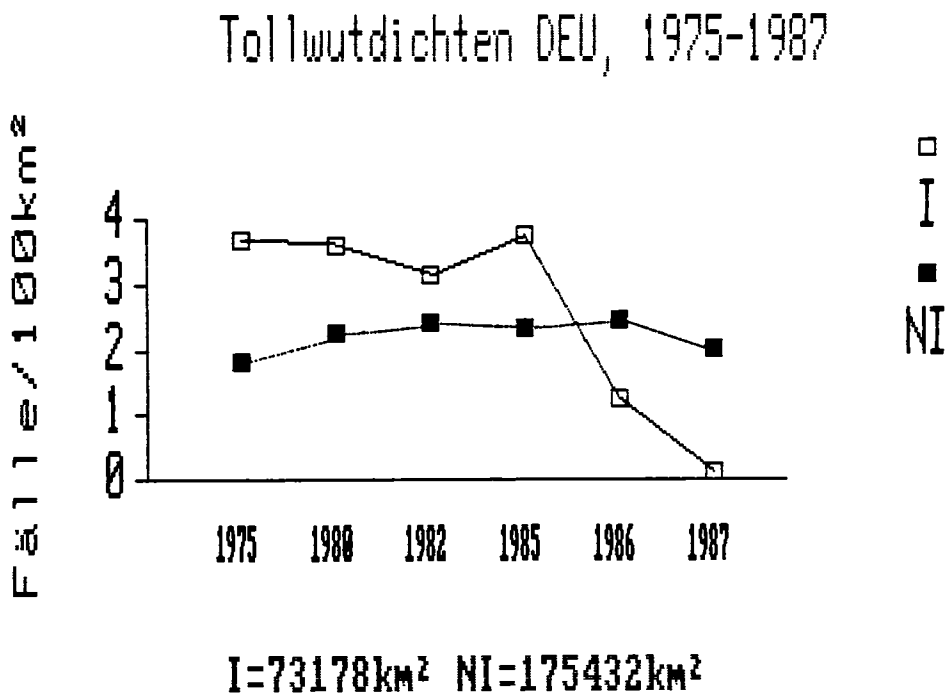
Gebiet	Fläche km ²	Tollwutfälle pro Jahr					1987*
		1975	1980	1982	1985	1986	
I. Impfgebiete							
B-W	12191	618	1061	612	1285	396	42
BAY	25775	869	742	653	328	248	45
HES	7629	410	247	630	615	164	30
NS	3742	53	60	130	22	16	1
NRW	5124	357	327	81	433	76	32
RH-PF	3039	177	117	179	72	3	1
S-H	15678	207	67	32	3	0	0
SUMME	73178	2691	2621	2317	2758	903	151
Dichte/100km ²		3,68	3,58	3,17	3,77	1,23	0,21

Gebiet	Fläche km ²	Tollwutfälle pro Jahr					1987*
		1975	1980	1982	1985	1986	
II. Nicht-Impfgebiete							
B-W	23560	494	904	1127	578	690	524
BAY	44771	777	1001	369	968	984	861
HES	13483	566	545	979	623	604	475
NS	43688	649	554	307	575	488	110
NRW	28933	420	108	671	750	1045	382
RH-PF	16798	203	601	708	555	444	306
SAARL	2567	19	271	72	53	96	45
Hamburg	748	0	0	0	0	1	0
Bremen	404	3	0	1	1	0	0
Berlin	480	44	0	1	2	0	0
SUMME	175432	3175	3984	4235	4105	4352	2703
Dichte/100km ²		1,81	2,27	2,41	2,34	2,48	1,54

** Daten für 1.1.-30.09.87

The rabies cases in vaccination areas show, especially between 1985 and 1987, a dramatic decline while the frequencies in non-vaccination areas remain constant. These results are graphically depicted in Figure 13.

Fig. 13



4.5 Costs of Vaccination

In Figure 14 an attempt is made, using one Federal State as an example, to compare the costs of conventional control measures with those of the oral vaccination.

The comparison comprises in both cases only those costs which the state incurred and has, therefore, only limited application for a cost/benefit analysis. The data only indicate that, measured on the achieved success, the oral immunisation of foxes is no longer financially utopic.

Fig. 14

Example: State of BAVARIA

(1) Costs of conventional measures for the prevention and control of rabies

Time Period	Type of Measures	Costs (DM)	
		Total	Ø per Year
1976-1985	Premium for foxes	2 947 016,-	294 701,-
1975-1985	Compensation for cattle	2 382 530,-	216 594,-
1975-1985	Compensation for other domestic animals	251 305,-	22 845,-
1981-1985	Vaccination of domestic animals	2 452 429,-	490 486,-
	Total	8 033 280,-	1 024 626,-

(2) Costs for the oral vaccination

of 23 000 km² area

with 2 vaccinations

1983-1986	1 173 000,-	293 250,-
-----------	-------------	-----------

5. Conclusions

Laboratory and field experiments in the Federal Republic of Germany and several other European countries have clearly shown the complete safety as well as the efficacy of the SAD B19 vaccine for the oral immunisation of foxes against rabies.

For the first time a method is available which offers the possibility for the eradication of rabies in large areas.

These measures for the fox serve the protection of domestic animals as well as humans.

The vaccinations meet the requirements of animals protection societies.

The vaccinations serve the preservice of endangered species. Therefore, the oral vaccination against rabies represents a political factor.

The vaccination costs are acceptable.

In the future, the application of the SAD B19 vaccine can be visualised for the control of rabies in several wild carnivores such as fox, raccoon, raccoon dog, jackal as well as the stray dog population.

6. Literature

- Schneider, L. G. und J. H. Cox (1983): Ein Feldversuch zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen die Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland. I. Unschädlichkeit, Wirksamkeit und Stabilität der Vakzine SAD B19. Tierärztl. Umschau 38, 315-324
- Schneider, L. G., G. Wachendörfer, E. Schmittziel und J. H. Cox (1983): Ein Feldversuch zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland. II. Planung, Durchführung und Auswertung des Feldversuchs. Tierärztl. Umschau 38, 476-480
- Schneider, L. G. (1984): Feldversuch zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen die Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland. Vakzine Entwicklung, Planung und Durchführung der Impfkationen, bisherige Ergebnisse. Dtsch. Vet. Med. Gesellschaft e.V. (DVG), Tagung der Fachgruppe Tierseuchenrecht, Gießen, 14./15. Juni 1984.
- Schneider, L. G., J. H. Cox, W. W. Müller und K.-P. Hohnsbeen (1987): Der Feldversuch zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen die Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland - Eine Zwischenbilanz. Tierärztl. Umschau, 42, 184-198
- Wachendörfer, G. (1984): Zur Frage der Unschädlichkeit und Wirksamkeit von Impfstoffstämmen. Dtsch. Vet. Med. Gesellschaft e.V. (DVG), Tagung der Fachgruppe Tierseuchenrecht, Gießen, 14./15. Juni 1984.

ETUDES PROSPECTIVES DE
L'INFLUENCE DE LA VACCINATION SUR L'EPIDEMIOLOGIE DE LA RAGE ET
LES POPULATIONS VULPINES

M. AUBERT* et ARTOIS M.*

* Ministère de l'Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation
Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des
Animaux Sauvages B.P. 9 54220 Malzéville

RESUME

La prise de décision des grandes stratégies de prévention de la rage par la limitation des populations de renards ou par la vaccination peut tirer parti des modélisations mathématiques qui se sont efforcées de synthétiser nos connaissances de la biologie du renard et de la pathogénie de la rage.

Trois exemples sont présentés succinctement : deux modèles de simulation spatiale et événementielle et un modèle déterministe. Ils peuvent dans une certaine mesure expliquer les situations réellement observées ou orienter les actions futures.

Leur valeur prédictive ne permet pas malheureusement de répondre à toutes les questions que se posent les décideurs : combien de temps faudra-t-il vacciner, sur quelle échelle... ? D'autres considérations doivent être prises en compte : il importe bien entendu de considérer d'abord les résultats obtenus par l'expérience directe sur le terrain, mais d'autres scénarios non encore envisagés par les biomathématiciens sont possibles.

I N T R O D U C T I O N

La vaccination antirabique des renards entreprise sur de grandes étendues est encore une pratique trop récente (au moins en France) pour que ses effets aient pu être étudiés avec suffisamment de recul.

Pour répondre au titre de cette intervention nous devons donc faire appel à des études théoriques que nous classerons par souci de simplification, en modèle de simulation événementielle d'une part et en modélisation déterministe d'autre part.

Le public de cette réunion n'étant généralement pas spécialiste de ce type de problèmes, je m'efforcerai de les rendre compréhensibles tout en restant rigoureux.

I. M O D E L E D E S I M U L A T I O N E V E N E M E N T I E L L E

Nous prendrons un exemple très simple pour expliquer cette approche : le jeu de l'oie. Il est possible de décrire par un programme d'ordinateur toutes les cases du jeu ainsi que les péripéties qui leur sont associées. Il est aussi possible de tirer au hasard pour chaque joueur un nombre compris entre 1 et 6 (lancement du dé). La programmation informatique permettra donc de simuler les événements que constituent le

lancement du dé, l'avancée d'un seul pion,... et de répéter cette opération autant de fois qu'il y a de joueurs et jusqu'à ce que la partie soit terminée.

Toutes proportions gardées, la plupart des modèles de simulations de la rage sur une population de renard peuvent être assimilés à un immense damier (le terrain) dont les cases sont occupées ou parcourues par des pions (les renards) auxquels on applique les règles d'un jeu que l'on cherche à rendre le plus proche possible de la réalité du terrain par exemple : une fois sur deux, ce renard sera un mâle, il se reproduira chaque printemps, il aura une chance sur deux de mourir chaque année etc...

L'informatique permettra d'exécuter en un temps très bref un grand nombre d'événements et d'en observer le déroulement et les résultats.

Ce que permet aussi l'informatique (au moins pour les langages les plus évolués) c'est de mimer le déroulement simultané de plusieurs événements : deux renards en déplacements simultanés ne produiront pas nécessairement le même effet que les mêmes déplacements exécutés successivement.

De nombreux auteurs ont élaboré des modèles de simulation (voir bibliographie). Leur but final était évidemment de contribuer, au moins indirectement, à la création d'outils permettant de prévoir le déroulement de l'épizootie et de prévoir le résultat de la destruction des renards ou de leur vaccination.

Devant l'abondance et la qualité des travaux accomplis, il nous a bien fallu faire un choix qui n'a été dicté que par des arguments didactiques. Nous ne présenterons succinctement que deux modèles de simulation qui ont abordé directement le problème de la vaccination : les travaux de Preston, 1973 et ceux de Voigt et coll., 1985.

A. Les travaux de Preston

A.1. Présentation résumée du modèle de simulation

Preston a symbolisé un terrain carré formé de 11 x 11 cases de 5 miles de côté occupées chacune par 4 renards mâles adultes, 4 femelles adultes et leurs petits.

Résumons la succession des règles appliquées à cet agencement par Preston (voir figure 1).

1) Définition de variables particulières.

La probabilité de transmission de la rage d'un renard enragé à renard sain lorsque ceux-ci sont dans le même voisinage n'est pas connue. Cette probabilité, que nous appelons P doit être définie arbitrairement par l'opérateur.

2) Répartition des cas de rage sur certains renards de la grille.

Les opérations suivantes seront ensuite répétées douze fois (nombre de mois de l'année) et autant de fois que le nombre de cycles annuels souhaités. Un cycle mensuel est constitué par l'exécution de chaque opération sur tous les renards présents sur le terrain.

3) Déroulement individuel de la maladie.

Dans la réalité chaque renard enragé subit avant d'extérioriser les symptômes de la maladie, et avant d'être contaminant lui-même, une

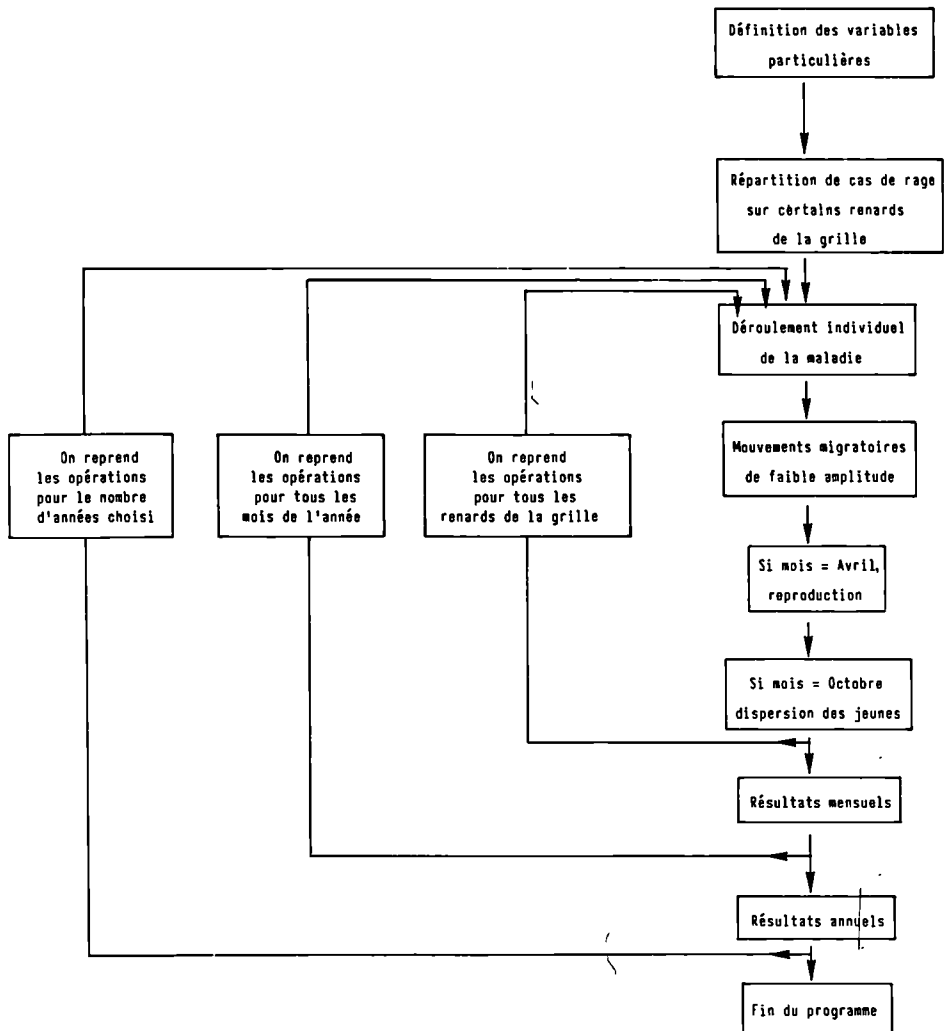


Figure 1 : Schéma de principe d'une modélisation événementielle : le modèle de Preston (1973)

période de latence très variable. Le programme attribue donc à chaque renard enragé une période de latence dont la durée est différente d'un renard à l'autre, mais dont la moyenne a été choisie égale à 1 mois.

Si le renard enragé a terminé sa période de latence il devient enragé. Quatre fois sur dix, ce renard fera une rage furieuse, traversera 5 à 6 grilles voisines où les renards sains rencontrés auront une probabilité P de contracter la rage. La direction du parcours est choisie au hasard. Après ce voyage ce renard meurt ; il est retiré du jeu. Un renard qui subit une rage non furieuse et meurt sans contaminer ses semblables est aussi retiré de la grille.

4) Mouvements migratoires de faible amplitude.

Le programme assure chaque mois le déplacement des renards non appariés de plus de 7 mois. Ces déplacements s'effectuent de préférence vers les cases les moins peuplées où se trouve un individu non apparié de l'autre sexe.

5) la reproduction est organisée en avril.

Là où les renardes sont présentes, le programme crée des renardeaux en nombre variable : 4,2 en moyenne pour les renardes de l'année, 4,6 pour les renardes plus âgées.

A ces renardeaux est attribué un sexe au hasard dans le rapport 1 mâle/1 femelle.

Certaines femelles sont stériles : 2 % chez les adultes, une proportion plus importante (dépendant de la densité en renards) chez les femelles de l'année.

6) La dispersion des jeunes est organisée en octobre.

Les renardeaux partent dans une direction choisie au hasard, pour cela le programme ne tient compte ni de la densité des renards dans la maille d'origine, ni de la densité des mailles traversées.

La distance parcourue est déterminée pour chaque renardeau au hasard sur une gamme de 5 à 45 miles pour les femelles et de 5 à 90 miles pour les mâles.

A la fin du parcours le renardeau est placé dans la case la moins peuplée située dans le voisinage du point d'arrivée.

7) A la fin de chaque cycle, le programme imprime le statut des renards répartis sur la grille.

A.2. Résultats

La figure 2 montre quelques résultats obtenus par Preston.

Il apparaît que la probabilité P de transmission de la rage de renard à renard est décisive sur le devenir de la maladie :

- lorsque la transmission est très rare ($P = 0,005$), les renards enragés au début du cycle meurent sans transmettre la rage qui disparaît (figure 2 A).

- lorsque la transmission est plus efficace (pour une valeur de $P = 0,020$), on peut observer un cycle de trois ans qui rappelle le mécanisme naturel de l'épizootie (figure 2 B).

On peut observer que l'abaissement de la valeur $P = 0,020$ à $P = 0,005$ revient à diminuer de 75% l'efficacité de la transmission. En d'autres termes, selon ce modèle, vacciner efficacement 75% de la population de renards ferait disparaître la rage du renard.

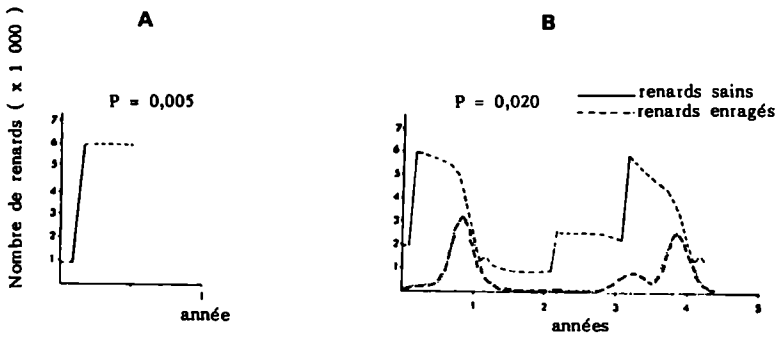


Figure 2 : Quelques résultats obtenus par la simulation de Preston (d'après Preston, 1973).

P mesure la probabilité de transmission de la maladie d'un renard enrégé à un renard sain de son voisinage.

Le choix de valeurs appropriées pour P détermine le devenir de l'enzootie = en A, extinction de la rage ; en B, installation d'un cycle de trois ans.

La diminution de P peut être obtenue par la vaccination.

A.3. Discussion

Le modèle de simulation de Preston est malheureusement sujet à de nombreuses critiques.

En comparant les règles adoptées pour ce modèle aux renseignements que nous apportent les écologistes (cf. exposé de Macdonald), on admettra que les premières sont toujours une simplification de la réalité. Il ne peut évidemment en être autrement. Mais il est plus difficile de devoir admettre le fait que plusieurs inconnues dans le déroulement des faits réels doivent être remplacées dans un modèle de simulation par des tâtonnements successifs.

Dans le cas présent, on peut en particulier regretter :

- la hantise du célibat qui semble habiter les renards qui se déplacent,

- l'homogénéité du peuplement en renards sur la grille de départ,

- et surtout, en l'absence de rage, ce modèle de simulation ne prévoit aucune autre cause de mortalité ! Ce modèle ne peut donc fonctionner en l'absence de rage.

Ces faiblesses ont cependant eu le grand mérite d'inciter d'autres chercheurs à proposer des modèles de simulations plus élaborés.

B. Les travaux de Voigt et collaborateurs (1985)

B.1. Les progrès introduits

Par rapport au modèle de simulation précédent, plusieurs perfectionnements ont été introduits, parmi ceux-ci certains concernent :

- l'espace : à chaque maille de la grille est affecté un coefficient de désirabilité pour le renard (dans la réalité ceci correspond au fait qu'un endroit puisse être préféré car il est peu visité par l'homme, qu'il est bien pourvu en nourriture, en abris...),

- la mortalité : des procédures assurent la mortalité des renards (par d'autres causes que la rage), celle-ci variant selon la saison, l'âge et le sexe des renards. Cette mortalité est d'autant plus forte que la densité des renards est importante. Ce modèle tient en effet compte de la notion de capacité d'accueil du milieu : c'est-à-dire de la densité maximale en renards que le milieu peut accueillir,

- la transmission de la rage : lorsqu'un renard enragé est en phase clinique, il contamine (avec une certaine probabilité) les renards voisins (et non pas à la faveur d'un voyage très long comme on le pensait avant les travaux d'Artois et coll., 1985 et de Voigt, communication personnelle).

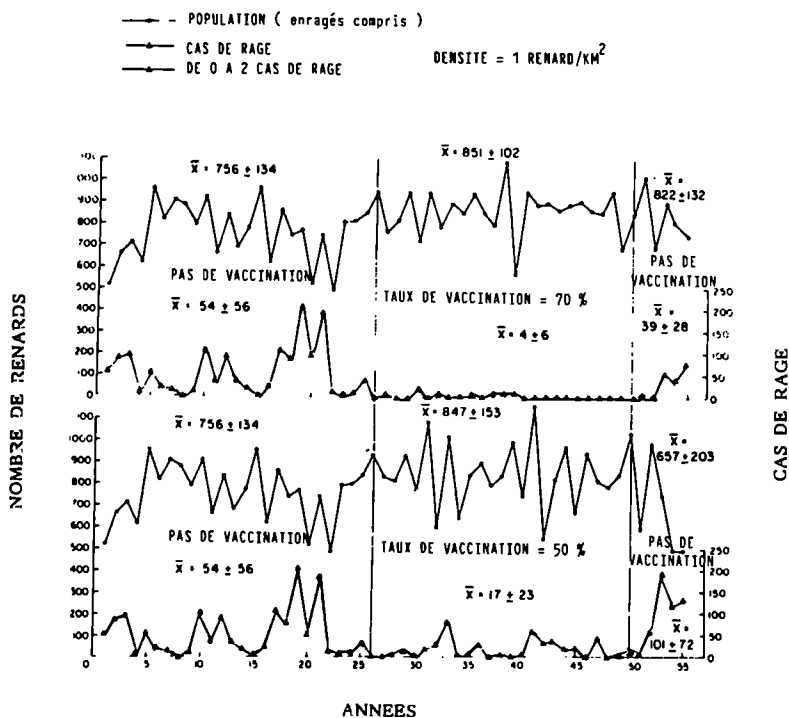


Figure 3 : Modélisation de Voigt et al., 1985. Evolution d'une population de renards atteinte par la rage pendant 55 ans. Pendant 25 ans en l'absence de vaccination. Application de la vaccination pendant 25 ans et arrêt de cette vaccination pendant 5 ans. La couverture vaccinale a été de 70 % (graphique supérieur) ou de 50 % (graphique inférieur).

De plus, au printemps la contamination d'un individu d'une portée entraîne la contamination de toute la portée ; en été les renardeaux peuvent contaminer leurs semblables des territoires voisins, alors qu'en hiver la transmission intersexuelle est favorisée.

- les conditions de la vaccination : profitant de leur expérience de terrain, les auteurs ont pu intégrer des taux de vaccination plus plausibles que dans le cas précédent.

- l'homogénéité des paramètres écologiques : le plus fréquemment possible les paramètres programmés ont été empruntés à des études effectuées dans une seule région géographique, l'Ontario (Canada).

- la méthodologie : les auteurs ont mesuré les corrélations de plusieurs paramètres introduits au clavier vis-à-vis des résultats de la simulation : effectifs de la population vulpine totale, mortalité due à la rage, à d'autres causes, etc... Il en résulte que l'approximation des paramètres inconnus apparaît moins hasardeuse.

B.2. Résultats

La figure 3 représente l'évolution d'une population de renards atteinte par la rage pendant 25 ans puis l'application pendant les 25 années suivantes d'une vaccination au taux de 70% (graphique supérieur) ou de 50% (graphique inférieur).

Dans le cas d'une vaccination touchant 70% des renards : la population se stabilise à un effectif en moyenne supérieur de 12% par rapport aux années antérieures. Le nombre de renards enrégés devient très faible (diminution de 93%), rapidement ceux-ci ne sont plus constitués que par des renards enrégés immigrants (prévus par le modèle). Ces immigrations de renards malades sont incapables de déclencher des flambées épizootiques sur la population vaccinée. Mais après l'arrêt de la vaccination les immigrants enrégés provoquent le redémarrage de l'enzootie en 2 à 3 ans.

Dans le cas d'une vaccination touchant 50% des renards : la population de renards augmente aussi de 12% mais le nombre de cas de rage ne diminue que de 70%, l'immigration de renards enrégés provoque des petites flambées épizootiques et dès l'arrêt de la vaccination, une enzootie éclate en quelques années. L'intensité de cette nouvelle enzootie, provoque une réduction très brutale de la population de renards : ceci est expliqué par le niveau élevé de la densité entretenu par la vaccination.

La même simulation exécutée dans des conditions de densité plus élevées a montré que le contrôle de la rage par la vaccination devient moins efficace.

B.3. L'intérêt des modèles de simulation...

De l'avis même des auteurs un tel modèle devrait être en constant développement. Les résultats qu'il fournit étant issus de raisonnement plausible, ils sont eux-mêmes plausibles. Certains de ces résultats étaient prévisibles :

- à savoir : la vaccination diminue l'incidence de la rage, et augmente le niveau de densité des renards...,

d'autres ne l'étaient pas :

- un même niveau de couverture vaccinale (en proportion) suffit à bloquer l'enzootie même si cette vaccination provoque elle-même une

augmentation importante de la densité,

- à couverture vaccinale égale, une densité faible de renards est défavorable au contrôle de la rage.

Seul un modèle de simulation pouvait nous démontrer que ces deux faits ne sont pas contradictoires.

B.4. ... et leurs limites

Nous ne pouvons attendre de ce modèle de simulation (comme de ceux qui ont été élaborés par les autres auteurs cités) des prévisions valables dans le domaine des faibles probabilités. Si la prévision d'un effet global s'accomode de conventions simplificatrices, peut-on encore admettre qu'elles puissent s'appliquer à des événements rares tels que les très longues durées d'incubations (dont on ignore la fréquence dans la nature), l'immigration de renards en incubation de rage à partir de territoires non (ou insuffisamment) vaccinés ?

En outre dans le cas de l'Ontario, le modèle devra prendre en compte l'existence d'un "réservoir" sauvage n'appartenant pas à l'espèce vulpine, la mouffette qui est sensible au virus d'origine vulpine mais reste inaccessible à la vaccination orale par les procédés actuels.

Or ces questions sont évidemment d'un intérêt primordial si l'on veut déterminer

- la durée nécessaire à l'application de campagnes de vaccinations,
- les meilleures stratégies de vaccinations massives et leur optimum économique ? Vaut-il mieux vacciner à un faible taux simultanément toute la zone d'endémie ou répartir successivement un effort intense de vaccination sur des zones plus limitées ? Combien d'années devraient durer ces campagnes ?

Nous n'avons actuellement pas connaissance de modèles de simulation qui répondent à ces questions pour la rage.

II. LA MODELISATION DETERMINISTE

Il s'agit d'une approche globale résumant sous forme d'équations les grands phénomènes analysés. Il s'agit donc de définir les relations mathématiques qui déterminent les variations de densité des renards sains et des renards enrégés.

Nous ne parlerons que du modèle d'Anderson (1981) en nous limitant à son application concernant la limitation des populations de renard et la vaccination.

A. Loi de base du modèle

Anderson applique aux populations de renards la courbe de croissance logistique généralement applicable à toute population animale. Cette courbe (figure 4) est la simple expression mathématique de faits faciles à admettre :

- la croissance d'une population animale n'est pas illimitée : elle dépend de la capacité d'accueil du milieu,

- lorsque la densité croît et s'approche de la densité limite, la vitesse de croissance de la population diminue (car la mortalité augmente, dans certaines situations la natalité peut aussi diminuer),

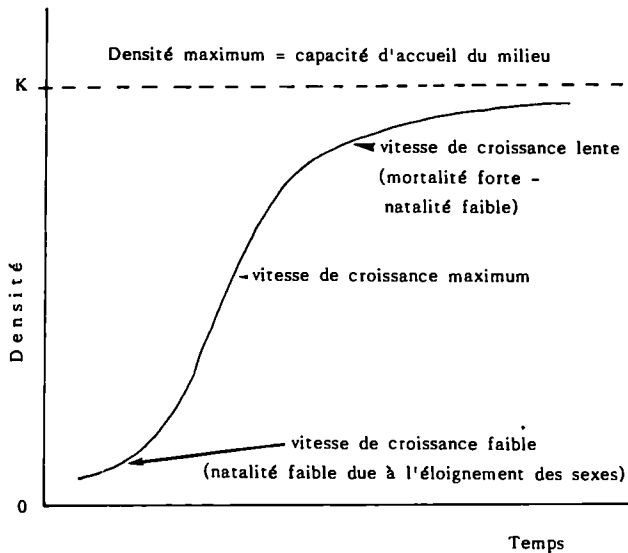


Figure 4 : Courbe logistique = modèle de base de la croissance potentielle d'une population de renards selon Anderson (1981). La pente de la courbe est l'image de la vitesse de croissance potentielle de la population (pente faible = vitesse faible, et inversement).

- lorsque la densité est très faible, l'éloignement des individus est tel que la croissance de la population est lente,
- entre ces deux extrêmes, la croissance de la population est rapide.

La réduction des populations de renards recommandée initialement par tous les spécialistes de la rage du renard, visait à limiter artificiellement la densité à un point tel que tout renard enragé soit trop éloigné de ses congénères pour pouvoir les atteindre et les contaminer avant de mourir (seuil enzootique).

Le problème est que le niveau de ce seuil n'était pas connu. S'il avait été proche de la capacité d'accueil du milieu, un équilibre stable aurait pu être trouvé, et cette stratégie aurait pu réussir.

L'expérience de plusieurs années a montré a posteriori que ce seuil doit vraisemblablement être très bas, toute réduction visant à atteindre ce seuil ne peut alors aboutir qu'à deux situations :

- lorsque l'effort de réduction n'est pas maintenu, se situant dans une portion de la courbe où la vitesse de reconstitution de la population est très rapide, cette dernière se reconstitue rapidement, et la rage subsiste,

- lorsque l'effet de réduction est maintenu on peut éventuellement assister à une extermination locale rapidement compensée par l'immigration de renards voisins.

La vaccination agit de deux manières (figure 5)

- elle rétablit la densité à un niveau où la pression du milieu entretient par lui-même une mortalité que l'homme n'a alors nul besoin d'exercer directement,

- elle augmente le niveau du seuil enzootique,

- pour atteindre ce seuil, une réduction artificielle de la densité de renards, nous maintient dans la portion de la courbe où la vitesse de reconstitution de la population est lente. Un effort de réduction constant égal au croît de la population est alors humainement possible et peut aboutir à un équilibre stable.

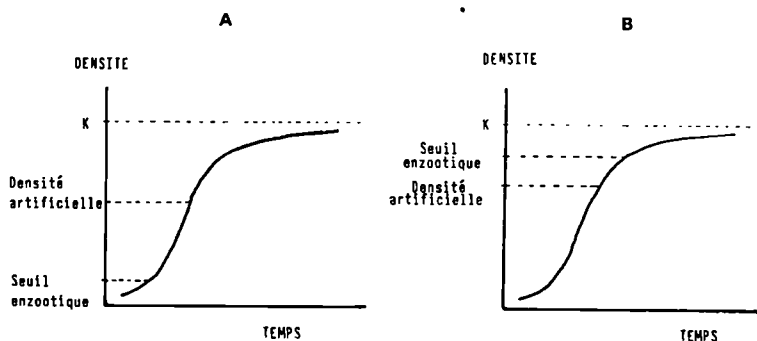


Figure 5 : Courbes théoriques de croissance potentielle de populations de renards. Seuil enzootique :

il s'agit de la densité au-dessus de laquelle les contacts entre renards sont suffisamment fréquents pour qu'un renard enrégé puisse transmettre la rage à au moins 1 renard réceptif.

A. En l'absence de vaccination, le seuil enzootique est très bas. Toute tentative de réduire artificiellement la densité des renards, nous place dans une portion de la courbe où la croissance potentielle est très rapide : l'effort de réduction est économiquement insoutenable et matériellement difficile à réaliser.

B. La vaccination relève le seuil enzootique. Une diminution artificielle des populations peut atteindre ce seuil. Il se situe dans une zone où la vitesse de croissance potentielle est faible. Un effort de réduction cependant devient réalisable et bénéfique.

B. Résultats

Ce modèle a en réalité été développé de manière plus complexe par Anderson et a été mis en programmation par Bacon (1985) qui a obtenu des résultats que nous repreneons en partie par les figures 6 et 7.

Bien entendu, Bacon a dû adopter pour certains paramètres des valeurs non vérifiées (et invérifiables). Par exemple, Bacon a admis qu'en dessous de 1 renard enragé aux 5000 km², la rage ne persiste plus. Cette contrainte est très sévère et rend d'autant plus digne de confiance les conclusions optimistes du modèle :

- la vaccination orale peut faire disparaître la rage d'une zone d'enzootie,

- cette vaccination pourra être favorisée par une réduction simultanée de la population. Un procédé de réduction idéal serait un procédé capable de limiter préférentiellement la fraction des individus non vaccinés, c'est-à-dire les jeunes de l'année. C'est pourquoi les auteurs ont évoqué la stérilisation des adultes.

C. Discussion

Contrairement au modèle de Voigt et coll., décrit précédemment, ce modèle ne prévoit pas l'immigration de renards, donc la possibilité de la réinfestation à partir de zones d'enzootie.

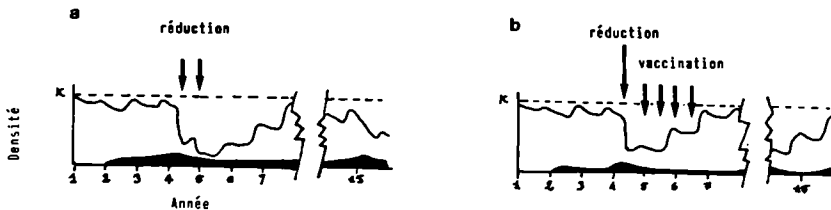


Figure 6 : Modèle de Anderson et Bacon (1985). La densité de renard est représentée en ordonnée. K est la capacité d'accueil du milieu. Le nombre de renards enragés est représenté en noir (il a été exagéré par rapport aux dessins originaux).

5 a. La réduction artificielle de la population vulpine ne fait pas disparaître la rage.

5 b. Une seule campagne de réduction, suivie de la vaccination orale pendant 2 ans ne fait pas disparaître la rage.

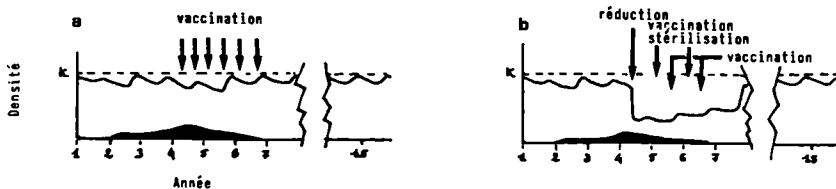


Figure 7 : Modèle de Anderson et Bacon (1985) - (Suite).

6 a. La vaccination orale pratiquée pendant 3 ans fait disparaître la rage.

6 b. Une seule campagne de réduction suivie pendant 2 ans par la vaccination orale et la stérilisation des renards fait disparaître la rage.

III. DISCUSSION GENERALE

Le bénéfice principal de la modélisation mathématique est de rendre cohérents des raisonnements nés des observations de terrain, et de justifier les modalités pratiques d'une méthode de prophylaxie.

Mais les modèles évoqués peuvent-ils justifier l'utilisation de la méthode elle-même ?

Nous avons souligné que trop d'inconnues subsistent encore aujourd'hui, si bien qu'il n'est pas possible de départager les auteurs (trop ?) prudents comme Voigt et coll., ou enthousiastes comme Bacon et Macdonald.

Il convient d'être optimiste à moyen terme, mais prudent pour le plus long terme.

A. Les raisons d'espérer

Dans une certaine mesure les modèles évoqués n'ont peut-être pas suffisamment pris en compte deux points qui ne peuvent que rendre plus favorable l'usage de la vaccination.

1. L'influence de la rage sur la pyramide d'âges des renards

La rage atteint plus fréquemment les renards de plus de un an (Wandeler et coll. 1974 ; Artois et coll. 1982). Les moins de un an, étant plus nombreux, des mouvements migratoires et les contacts pour la définition d'un territoire, propres à leur âge sont en proportion plus fréquents.

La vaccination sera au contraire plus favorable aux renards âgés :

- en présence de rage : les renards de plus de un an (qui auront été vaccinés les années précédentes) seront moins vulnérables que les renardeaux,

- en l'absence de rage : la pyramide des âges devrait se rétablir comme avant l'arrivée de la maladie (les autres causes de mortalité touchant plus fortement les renardeaux).

Ce rétablissement de la pyramide des âges devrait limiter dans une certaine mesure le phénomène auto-entretenu : rage → population jeune, non fixée → contacts migratoires → rage.

2. L'importance des contacts interindividuels

Il est remarquable de constater avec quelle rapidité (8 jours) un renard peut coloniser le territoire d'un voisin qui vient de disparaître (Artois et al. in prep. ; Zimen 1984). Il doit donc exister des contacts (pas seulement indirects) plus fréquents que ne laisse supposer la fréquence de l'occupation des frontières des domaines vitaux. La fréquence des contacts entre renards ne répond pas à une loi physique : ils ne peuvent être comparés à des molécules de gaz dont les chocs deviennent moins fréquents quand (dans un même volume) leur nombre diminue. Entre renards les contacts sont nécessaires, et doivent peu varier en fréquence lorsque la densité diminue. Ceci peut expliquer pour une part, l'inutilité relative des méthodes de réduction de la densité.

Inversement, Artois et coll. (1985) ont suggéré que les renards sains "défendent leur territoire" contre les intrusions de leurs voisins enrégés (figure 8). Cette observation justifie à elle-seule l'intérêt de la vaccination.

On peut admettre que les territoires des renards vaccinés puissent constituer un filet à l'intérieur duquel la circulation des renards enrégés est ralentie par les renards sains eux-mêmes.

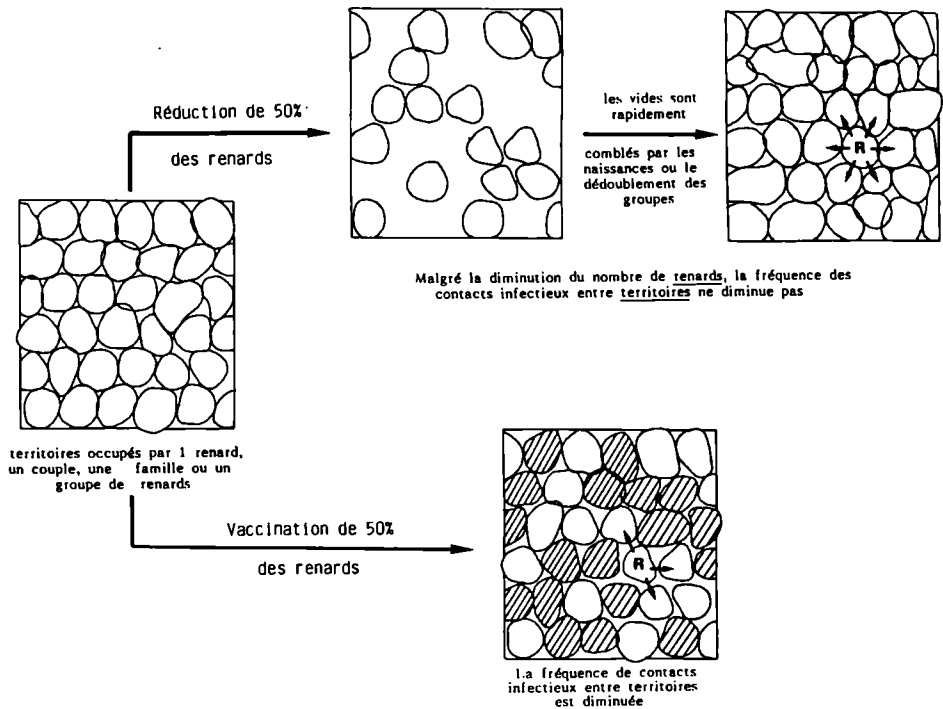


Figure 8 : Schéma théorique de l'influence des choix de prophylaxie sur la répartition des territoires de renards et le devenir de l'enzootie.

B. Les raisons d'être prudents

Nous avons souligné que pour faire fonctionner les modèles, l'ajustement de certains paramètres est nécessaire et que la prise en compte de l'importation des cas de rage à partir de surfaces non traitées pose de sérieux problèmes. De plus, si aujourd'hui un modèle tel que celui de Preston nous paraît un peu "bricolé", les critiques de modèles plus récents (cf. Mollison) nous laissent quelque peu désarmés.

Plus grave, aucun modèle ne peut prévoir si le virus vulpin ne se modifiera pas pour s'accommoder d'une incidence faible analogue à celle du virus canin. Or l'adaptabilité du virus de la rage est aujourd'hui largement admise et des observations récentes (Blancou et coll. 1987) tendent à démontrer que la pathogénie du virus vulpin subirait de légers changements.

Aussi nul ne peut aujourd'hui demander aux décideurs d'engager la vaccination en leur cachant qu'il s'agit d'un pari sur le long terme, que tous les problèmes ne sont pas résolus, mais qu'en fin de compte, si l'on veut se libérer de la rage vulpine, cette stratégie reste pour le moment la plus logique et la plus recommandable d'un point de vue éthique.

REFERENCES

- Aigner, A. und Wodnar, K. 1984. Verwendung von Mikrocomputern zur Simulation der Wutkrankheit. Wien. Tierärztl. Monatschr., 23-25.
- Anderson, R.M., Jackson, H.C., May, R.M. and Smith, A.D. 1981. Population dynamics of fox rabies in Europe. Nature, 289, 765-771.
- Anderson, R.M. 1982. Fox rabies. In "The population dynamics of infectious diseases : theory and application" (Ed. R.M. Anderson). (Chapman and Hall, London). pp. 243-261.
- Andral, L., Artois, M., Aubert, M.F.A. et Blancou, J. 1982. Radiopistage de renards enragés. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5, 285-291.
- Armitage, P. 1980. Modelling the transmission of rabies. Symp. Soc. Study Hum. Biol., 20, 45-54.
- Artois, M. et Aubert, M.F.A. 1982. Structure des populations (âge et sexe) de renards en zones indemnes ou atteintes de rage. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5, 237-245.
- Artois, M. et Aubert, M.F.A. 1985. Modélisation de la rage : le point de vue de biologistes. In "Pasteur et la Rage" (Ed. R. Rosset). Inf. Tech. Serv. Vét. pp. 280S-281S.
- Artois, M. and Aubert, M.F.A. 1985. Behaviour of rabid foxes. Rev. Ecol. (Terre et Vie), 40, 171-176.
- Bacon, P.J. and Macdonald, D.W. 1980. To control rabies : vaccinate foxes. New Scientist, 640-645.
- Bacon, P.J. 1985. A systems analysis of wildlife rabies epizootics. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp 109-131.
- Ball, F.G. 1985. Front-wave velocity and fox habitat heterogeneity. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp 255-289.
- Ball, F.G. 1985. Spatial models for the spread and control of rabies incorporating group size. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp 197-222.
- Blancou, J., Aubert, M.F.A., Artois, M. et Barrat, J. 1987. Pourquoi la rage ne progresse-t-elle plus en Europe depuis dix ans ? B.E.M.R.A.F., 17.
- Bögel, K., Arata, A.A., Moegle, H. and Knorpp, F. 1974. Recovery of reduced fox populations in rabies control. Zbl. Vet. Med. B, 21, 401-412.
- Bögel K., Moegle H., Steck, F., Krocza, W. and Andral, L. 1981. Assessment of fox control in areas of wildlife rabies. Bull. World Health Org., 59, 269-279.
- Boisvieux, J.f. et Lambinet, D. 1978. Modèle mathématique et prophylaxie prospective. Colloque "Rage vulpine et écologie", Paris, 25-26 mai.
- Carey, A.B. and McLean, R.G. 1983. The ecology of rabies : evidence of co-adaptation. J. Appl. Ecol., 20, 777-800.
- Cazes, A., Andral, L. et Boisvieux, J.F. 1980. Etude de la propagation de l'épizootie de rage vulpine en France. Visualisation dynamique sur écran graphique. Actes du Congrès de l'AF CET, Nancy, 24-27 novembre. pp. 383-394.
- David, J.M. 1981. Epidémiologie et simulation. Application à l'étude de l'enzootie de rage du renard. Actes du Congrès de l'AF CET, 10p.

- David, J.M. et Andral, L. 1982. Modélisation de l'évolution spatiale et dynamique d'une population de renards sains puis atteints par la rage. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 5, 351-358.
- David, J.M., Andral, L. and Artois, M., 1982. Computer simulation model of the epi-enzootic disease of vulpine rabies. *Ecol. Model.*, 15, 107-125.
- Frerichs, R.R. and Prawda, J. 1975. A computer simulation model for the control of rabies in urban area of Columbia. *Manag. Sci.*, 1975, 22, 411-421.
- Garnerin, P. 1984. Rôle du rut et de l'émancipation des renardeaux dans l'augmentation hivernale de l'incidence de la rage vulpine : approche biomathématique. *Acta Oecol., Oecol. Gener.*, 5, 109-118.
- Garnerin, P. et Valleron, A.J. 1985. Un modèle informatique événementiel de la rage vulpine. *Rev. Epidémiol. Santé Publ.*, 33, 29-38.
- Garnerin, P., Hazout, S. and Valleron, A.J. 1986. Estimation of two epidemiological parameters of fox rabies : the length of incubation period and the dispersion distance of cubs. *Ecol. Model.*, 33, 123-135.
- Gourmel, P. 1977. Simulation d'une population de renards atteinte par la rage. Rapport de Stage, Ecole Nationale Supérieure de la Métallurgie et de l'Industrie des Mines, Nancy.
- Harris, S. and Rayner, J.M.V. 1986. Models for predicting urban fox (*Vulpes vulpes*) numbers in British cities and their application for rabies control. *J. Anim. Ecol.*, 55, 593-603.
- Jahn, J. und Timischl, W. 1984. Mathematische Analyse der Wutausbreitung in Österreich. I. Allgemeine empirische und theoretische Grundlagen. *Wien. Tierärztl.*, 149-155.
- Kallen, A. 1984. Thresholds and travelling waves in an epidemic model for rabies. In "Nonlinear analysis, theory, methods and applications", 8, 851-856.
- Lambinet, D., Boisvieux, J.F., Mallet, A., Artois, M. et Andral, L. 1978. Modèle mathématique de la propagation d'une épizootie de rage vulpine. *Rev. Epidémiol. Santé Publ.*, 26, 9-28.
- Lecointre, O., Duclos, Ph. et Joubert, L. 1984. Proposition d'un modèle biomathématique exploitable en épidémiologie de la rage du renard en France. *Sci. Vét. Méd. Comp.*, 86, 85-95.
- Macdonald, D.W. and Voigt, D.R. 1985. The biological basis of rabies models. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp 71-108.
- Moegle, H., Knorpp, F., Bögel, K., Arata, A., Dietz, K. und Diethelm, P. 1974. Zur Epidemiologie der Wildtiertollwut. Untersuchungen im südlichen Teil der Bundesrepublik Deutschland. *Zbl. Vet. Med.*, 21, 647-659.
- Murray, J.D., Stanley, E.A. and Brown, D.L. 1986. On the spatial spread of rabies among foxes. *Proc. R. Soc. Lond.*, 229B, 111-150.
- Murray, J.D. 1987. Modeling the spread of rabies. *Am. Sci.*, 75, 280-284.
- Preston, E.M. 1973. Computer simulated dynamics of rabies-controlled fox population. *J. Wildl. Manag.*, 37, 501-512.
- Mollison, D. 1985. Sensitivity analysis of simple endemic models. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp 223-234.
- Mollison, D. and Kuulasmaa, K. 1985. Spatial epidemic models : theory and simulations. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp. 291-309.

- Report of consultations on mathematical models of rabies. WHO/FAO Co-ordinated research programme on wildlife rabies in Europe, Nancy, 18-19 December, Doc. VPH/75.2, 11 p.
- Sayers, B. McA., Mansourian, B.G., Phan-Tan, T. and Bögel, K. 1977. A pattern-analysis study of a wildlife rabies epizootic. *Med. Inform.*, 2, 11-34.
- Sayers, B. McA., Ross, J.A. and Saengcharoenrat, P. 1985. Pattern analysis of the case occurrences of fox rabies in Europe. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon) (Academic Press, London). pp. 235-254.
- Smart, C.W. and Giles, R.H. 1973. A computer model of wildlife rabies epizootics and an analysis of incidence patterns. *Wildl. Dis.*, 126 p.
- Smith, A.D.M. 1985. A continuous time deterministic model of temporal rabies. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp 131-196.
- Stellmann, C. et Beranger, G. 1974. Epizootiologie de la rage en France de 1968 à 1972 selon un modèle biomathématique. Incidence sur les modalités de prophylaxie (vaccination des bovins). *Rev. Méd. Vét.*, 125, 45-62.
- Storm, G.L. and Montgomery, G.G. 1975. Dispersal and social contact among red foxes : results from telemetry and computer simulation. In "The wild canids. Their systematics, behavioural ecology and evolution" (Ed. M.W. Fox). (Van Nostrand Reinhold Company, New York). pp. 237-246.
- Thieme, H.R. 1979. Some mathematical considerations of how to stop the spatial spread of a rabies epidemic. Sonderforschungsbereich 123, Stochastische Mathematische Modelle, Universität Heidelberg, 10 p.
- Tinline, R.R., Voigt, D.R. and Broekhoven L.H. 1983. Evaluating tactics for the control of wildlife rabies in Ontario. In "Third international symposium on veterinary epidemiology and economics" (Veterinary Medicine Publishing Company, Edwardsville). pp. 581-589.
- Voigt, D.R., Tinline, R.R. and Broekhoven, L.H. 1985. A spatial simulation model for rabies control. In "Population dynamics of rabies in wildlife" (Ed. P.J. Bacon). (Academic Press, London). pp. 311-349.
- Wandeler, A., Wachendörfer, G., Förster, U., Krekel, H., Schale, W., Müller, J. and Steck, F. 1974. Rabies in wild carnivores in Central Europe. I. Epidemiological studies. *Zbl. Vet. Med.*, 21, 735-756.
- Zimen, E. 1984. Long range movements of the red fox, Vulpes vulpes L. *Acta Zool. Fenn.*, 267-270.

TEN YEARS OF RABIES CONTROL BY ORAL VACCINATION OF FOXES
IN SWITZERLAND

A. Kappeler, A.I. Wandeler, S. Capt
Swiss Rabies Centre
Institute of Veterinary Virology
Länggassstrasse 122
CH - 3012 Berne, Switzerland

ABSTRACT

The "Swiss Rabies Centre" and the "Vertebrate Biology Group" at the Zoological Institute of the University of Berne participated in WHO-coordinated international efforts to develop methods for wildlife rabies control by wildlife immunization. SAD strain cloned and grown on BHK-cells to high titers was checked in the laboratory for immunogenicity by the oral route in foxes. Vaccine stability, the inclusion of vaccine in baits, and systems delivering liquid vaccine into the mouth cavity of an animal eating the bait were also investigated. By 1978 a system had been developed that needed to be tested in the field. It consisted of 1.8 ml SAD of $10^{7.2}$ TCID₅₀ per bait, included in small crushable plastic containers fixed under the scalp of chicken heads. The first field application, aimed at testing bait uptake, rate of immunization, and epidemiological effects was conducted in an Alpine valley in October 1978. About 60 % of the respective fox population could be reached by the distribution of 12 to 20 baits per km². The percentage of immunized individuals was high enough to stop the spread of a rapidly advancing epizootic frontwave. The success of the first field trials (1978 - 1982) led to an expansion of the vaccination zones. Taking into consideration the epidemiological situation and geographical barriers to the rabies spread, it was possible to free four fifths of the country from rabies from 1983 to 1985. Today Switzerland is still forced to maintain "immune barriers" along frontiers to infected areas in neighbouring states. Some of these border zones have remained unvaccinated and still exhibit varying incidences of rabies. The number of laboratory-confirmed rabies cases in Switzerland decreased about 20-fold within the last 10 years.

INTRODUCTION

American and Canadian workers had demonstrated in the early 70's that the attenuated rabies strain SAD has the capability of immunizing foxes by the oral route (Baer et al., 1971; Debbie et al., 1972; Black and Lawson, 1973). Stimulated by this success, investigations on the oral immunization of foxes were initiated more than 15 years ago in Switzerland. Coworkers of the "Swiss Rabies Centre" and the "Vertebrate

Biology Unit" of the Zoological Institute of the University of Berne carried out a great number of field and laboratory studies (Wandeler et al., 1975). Different vaccine strains were tested for efficiency and safety. A baiting system had to be found which would allow to reach a sufficiently high proportion of the fox population under field conditions. Franz Steck directed this research until his untimely death in 1982.

DEVELOPMENT OF AN ORAL IMMUNIZATION SYSTEM

Vaccine Requirements

A live attenuated virus to be used for wildlife vaccinations should meet the following requirements:

- The vaccine should orally immunize the target animals.
- It should be apathogenic for man, target species and other species eating bait.
- It should not be excreted.
- It should not easily revert to higher pathogenicity.
- It should be free from pathogenic contaminations.
- It should be storable.
- It should be stable at environment temperatures for several days, but not for prolonged periods.
- It should be easy to produce and inexpensive.
- It should bear at least one genetic marker.

It was decided that the cloned derivative of one of two SAD strains received from CDC, Atlanta, USA, would meet closest safety and immunogenicity requirements. When directly administered into the mouth of a fox, $10^{4.2}$ TCID₅₀ were enough for a successful immunization. For field application a volume of 1.8 ml containing the 1000-fold dose was used.

Bait Requirements

Baits serving as vehicles for the vaccine should on their turn meet a set of requirements:

- They should be attractive for the target species.
- The target species should eat the bait without storing.
- The baits should be rejected by other species (incl. man).
- They should reach a large proportion of the target species

population.

- They should not inactivate the vaccine.
- They should deliver the vaccine into the mouth cavity.
- It should be possible to incorporate a biological marker (e.g. tetracycline).
- They should be easily available and inexpensive.

The acceptance of a great number of different bait types (without vaccine) was studied in field experiments (Wandeler et al., 1975). Finally chicken heads were chosen as baits. Considerable effort was put into developing a crushable plastic container delivering the vaccine into the mouth cavity before it is swallowed or rejected. The immunizing capabilities of this system proved to be excellent in captive foxes (Häfliger et al., 1982).

FIELD APPLICATION

Experimental phase, 1978 - 1982

After 7 years of laboratory studies and ecological investigations Franz Steck decided that a field experiment was indispensable for further testing the applicability of the method. After consulting with WHO, permission was given by the Federal Veterinary Office, the Federal Office of Public Health, and by the Gouvernement of Canton Valais for a field trial in the lower Rhone valley in the Swiss Alps. The Rhone valley was threatened by a rapidly advancing front of fox rabies, reaching the lower part of Canton Valais in the summer of 1978. Mid October of 1978 4050 vaccine baits were deposited in an area of 335 km² in the region of Martigny, VS. Rabies did not cross this barrier consisting of a population of about 60 % immune foxes. In order to maintain a herd immunity sufficient to inhibit the spread of rabies, vaccination campaigns were repeated spring and autumn of the following years. To monitor herd immunity bones of animals killed in the vaccination zone were checked for tetracycline (proof of bait uptake), and blood samples were tested for antibodies against rabies (Steck et al., 1982 b). By the end of 1979 the lower part of the Rhone valley was rabies-free.

In February 1980 an outbreak was observed in the upper Rhone valley in an area that had never been vaccinated, far behind the formerly infected zone. At least one infected fox probably had crossed the mountain chain separating the Rhone valley and the Bernese Oberland, where a rabies outbreak was at its peak at that time. With locally concentrated vaccination campaigns it was possible to eliminate the focus within 9 months. In addition, this outbreak had shown that the area beyond the original vaccination zone of 1978/79 was infectable. The inhibition of the spread of rabies into the upper Rhone valley at that time could thus be considered to be due to successful vaccination of the main host.

In 1981 and 1982 the method was further tested in similar situations in other Alpine valleys. "Immune barriers" were built in the expected passway of an epizootic frontwave. In no instance such a barrier was crossed by the epizootic.

Strategies for countrywide rabies eradication - Eradication phase, 1983 - 1985

In 1982 we had to decide on how to eradicate the disease in the Swiss Midlands. Since high mountain ranges impeding the spread of the disease greatly facilitated the strategic application of fox vaccination, the concept of natural and artificial barriers to the spread of disease was also applied to the rest of the country. We divided Switzerland into epidemiological compartments delineated by natural and artificial obstacles to the spread of rabies. Such obstacles are (in order of decreasing efficiency): Lakes, high mountain ranges, large and rapidly flowing rivers, major cities, freeways lined with "game-proof" fences.

In the years of 1983 to 1985 we freed one infected compartment after the other from rabies by immunizing their fox populations. The disease was eliminated from the remaining Alpine valleys, most of the Swiss Midlands and part of the Jura mountains. The epidemiological effect of vaccination was most dramatically demonstrated in Eastern Switzerland, where an epizootic that had lasted for 18 years came to a sudden end after two to three vaccination campaigns (Wandeler et al.,

1988). Like many others, the respective vaccination zones are no longer treated today.

Maintenance Phase, since 1986

Since the end of 1985 large parts of Switzerland are free from rabies. Less than 800'000 baits were required to reach that status (see table 1). Remaining foci in the Cantons of Schaffhausen and Aargau were eliminated in 1986. Today Switzerland is still forced to maintain an immunization belt along borders with endemic areas in neighbouring countries, mainly in the Jura mountains and in the lower Rhone valley. Occasionally rabies cases are still diagnosed in such areas. In addition, some of these border zones have remained unvaccinated and exhibit varying incidences of rabies. Nevertheless, the success of fox rabies control by oral vaccination is well documented by a drastic drop in the number of laboratory confirmed rabies cases in Switzerland from 1748 in 1976 to about 100 in 1987. For the complete eradication of the disease, international collaboration is a prerequisite.

TABLE 1 Characteristics of the three phases of rabies control in Switzerland

	Experimental Phase	Eradication Phase	Maintenance Phase
Period	1978 - 1982	1983 - 1985	1986 / 1987
Primary goals	establishing and testing field method	freeing major parts of country from rabies	maintaining rabies-free status
Cantons involved	9	20	16 / 11
Regions	Alpine Valleys	Alpine Valleys, Midlands, Jura	border zone mainly Jura
Baits distributed	134'000	635'000	248'000
km ² treated	7'700	45'500	20'400
Baits / km ²	17.4	14.0	12.2
Baits per 6 months	6'000	54'000	89'000
	- 41'000	- 140'000	- 38'000

REFERENCES

- Baer, G.M., Abelseth, M.K., and Debbie, J.G., 1971. Oral vaccination of foxes against rabies. *Amer. J. Epidemiol.* 93, 487 - 490.
- Black, J.G. and Lawson, K.F., 1973. Further studies of sylvatic rabies in the fox (*Vulpes vulpes*). Vaccination by the oral route. *Canad. Vet. J.* 14, 206 - 211.
- Debbie, J.G., Abelseth, M.K., and Baer G.M., 1972. The use of commercially available vaccines for the oral vaccination of foxes against rabies. *Amer. J. Epidemiol.* 96, 231 - 235.
- Häfliger, U., Bichsel, P., Wandeler, A., und Steck, F., 1982. Zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen Tollwut: Stabilisierung und Köderapplikation des Impfvirus. *Zbl. Vet. Med. B*, 29, 604 - 618.
- Steck, F., Wandeler, A., Bichsel, P., Capt, S., Häfliger, U., and Schneider, L., 1982 a. Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 5, 165 - 171.
- Steck, F., Wandeler, A., Bichsel, P., Capt, S., and Schneider, L., 1982 b. Oral immunization of foxes against rabies. A field study. *Zbl. Vet. Med. B* 29, 372 - 396.
- Wandeler, A.I., Bauder, W., Prochaska, S., and Steck, F., 1982. Small mammal studies in a SAD baiting area. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 5, 173 - 176.
- Wandeler, A.I., Capt., S., Kappeler, A., and Hauser, R., 1988. Oral immunization of wildlife against rabies: Concept and first field experiments. *Rev. Infect. Dis.* (in press).
- Wandeler, A., Pfothauer, P. und Stocker, C., 1975. Ueber die Verwendung von Ködern zu biologischen Untersuchungen an Füchsen. *Rev. Suisse Zool.* 82, 335 - 348.

FOX VACCINATION IN ITALY

T. Balbo, L. Rossi

University of Turin
Animal Pathology Department
Via Nizza 52, 10126 Torino, Italia

ABSTRACT

Four oral vaccination campaigns against fox rabies were carried out between the years 1984 and 1987 in the provinces of Brescia, Trento and Bolzano. The results of these campaigns are examined in the light of both previous Italian experiences in sanitary ethology of foxes and the methods used in these trials. In their conclusions, the Authors underline that the positive results of fox vaccination campaigns must be confirmed by a wider range of field experiments.

ANTECEDENTS

Since 1977, when the first case of sylvatic rabies was diagnosed in a fox from South Tyrol, on the border with Austria, other 11 rabies waves entered our territory again through Austria (4 times), Yugoslavia (4 times), Switzerland (3 times) and France (once). Each time, the measures taken in infected and risk areas were the vaccination of dogs, equines and domestic ruminants, the increased control of stray dogs and cats and fox number reduction by means of shooting. Bounties (up to 100,000 lira per fox) were introduced to attain maximum results. Poisoning was also carried out in Trentino Alto Adige thanks to the special statute of this autonomous region. These measures proved successful in the north-eastern valleys of South Tyrol, where rabies was wiped out in two years, but the disease kept on spreading elsewhere (Fig. 1).

In 1984 a wide area of the Italian Central and Eastern Alps was rabies infected and actively expanding foci were present in the provinces of Trento, Bolzano, Como and Bergamo. Therefore, faced with the difficulties in controlling rabies with repressive measures only and supported by the positive results that the Swiss and German researchers were obtaining by vaccinating foxes in the field (Steck et al., 1982; Schneider et al., 1985), the Health Ministry authorized a first fox immunisation campaign to be held in Camonica Valley (province of Brescia) by the end of that year. On giving this permission, the Health Ministry charged a Scientific Committee to supervise the different phases of the trial. Members of this Committee were researchers, technicians and administrators with a long experience in rabies

related problems. Indeed, for 10 years before rabies entered Italian territory, there had been much interest by some university and public health structures in the role of the red fox as a vector of zoonoses, and above all rabies. In particular, a wide research programme, sponsored by the Health Ministry (and afterwards also by the Gran Paradiso National Park and the Pasteur Institute-Cenci Bolognetti Foundation), had been carried out by the Universities of Rome (Institute of Parasitology) and Turin (Animal Pathology Department) together with researchers from other disciplines, regarding both the study of fox eco-ethology for oral vaccination purposes and laboratory trials of fox immunisation with attenuated and inactivated vaccines, administered using different vehicles by different routes. The results of this programme (Atanasiu et al., 1982; Biocca et al., 1982a; Biocca et al., 1982b) discussed during an international symposium held in Saint Vincent in 1981[^], represented the scientific premises for fox vaccination in Italy.

Data reported in the following part of this paper are based on unpublished documents worked out by the Scientific Committee, in which we took part. Most of this data has been recently illustrated in an international congress in Sirmione (Biocca and Bellani, in press; Ruatti et al., in press).

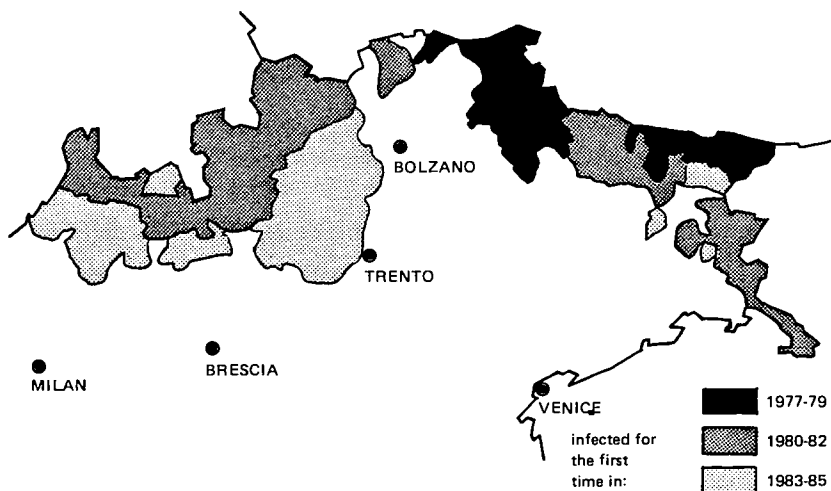


Fig. 1 Rabies spreading in Italy.

[^]Proceedings may be requested to: Pasteur Institute-Cenci Bolognetti Foundation, c/o University "La Sapienza", P.le A.Moro 5, 00185 RDME, Italy.

TRIALS ORGANISATION

Four immunisation campaigns have been carried out since 1984 using an attenuated vaccine -strain SAD B19 cultivated on BHK₂₁ cells- prepared in plastic capsules at the Federal Research Institute for Virus Diseases of Animals in Tübingen. Each capsule contained 1.8 ml of vaccine, virus titer ranging between 3.4×10^7 and 5.7×10^6 IU/ml, as previously controlled. Chicken heads and ready-made soap-like baits were used as vehicles; in the first case (autumn 1984 and spring 1985 campaigns) -20°C stored capsules were manually placed in the chicken heads the night before distribution on the terrain.

Both rabies-infected and rabies-free areas, up to 45 km from the epizootic front, were baited. People living in these areas had been extensively informed by means of radio and television announcements, public notices and leaflets. Moreover, the fight against stray dogs and cats had been intensified to remove undesirable bait consumers. General data about immunisation campaigns in Italy are presented in Table 1.

TABLE 1 Fox vaccination campaigns in Italy: general data.

	First	Second	Third	Fourth
Provinces	Brescia	Brescia	Brescia Trento Bolzano	Trento
Days	Nov,27-30 1984	May,28-31 1985	May,20-30 June,16-20 July,7-9 1986	March,23- April, 18 1987
Municipalities	45	45	165	73
Baited area (km ²)	700	700	3228	764
Baits delivered	7500	7500	35392	9955
Baiting teams	36	36	198	40

Baits were delivered by teams of 2-4 persons (gamekeepers, foresters, hunters and parkwardens) with a good knowledge of both territory and fox

biology. In the early morning each team was given a 1:25,000 scale map of baits delivery sites, a thermic bag with the necessary number of baits, material to signal them, single use gloves and a first aid kit. According to instructions, 15-20 baits/km² were distributed below 800 m, 9-10 between 800 and 1200 m, 5-7 between 1200 and 1700 m (fox densities are usually low above). Care was taken in concealing baits sufficiently so as to prevent uptake by birds of prey, crows and possibly humans.

All the people taking part in the fieldwork were recommended a prophylactic vaccination against rabies, but many preferred to sign a document that declared they had deliberately renounced the vaccination.

Campaigns costed 267,669,385 lira. The cost per bait laid out ranged between 2265 and 5645 lira according to the amount of unstructured personnel involved.

TRIALS EVALUATION

During the four immunisation campaigns carried out, six evaluation parameters were monitored as follows:

- vaccine stability in field conditions: untouched baits were collected on days 4, 8 and 14 after they had been laid out and stocked at -20°C until laboratory processed. Virus titers, determined by inoculating BHK₂₁ cells and 10-to-12-days-old mice (IC route) with progressive dilutions of the recovered vaccines, were correlated with the air temperatures from weather stations working at different altitudes in the areas under experiment;
- total bait uptake: 3224 baits (5.3% of those distributed) were singly numbered and controlled on days 4, 8 and 14 after delivery. Biotopes with different amounts of vegetation cover (forest, open landscape and intermediate situations) were monitored between 250 and 1600 m. The surface of the test areas ranged between 1 and 3 km²;
- specific (fox) bait uptake: a bait incorporated marker (tetracycline) was searched for, with a UV microscope, in 50 μ-thick bone sections from 373 foxes shot 4 to 24 weeks after baiting. One fox per 14.4 km² was checked on average against a planned sample of one fox per 10 km². Especially authorized night shots were carried out after the last two vaccination campaigns;
- immunisation success in foxes: 357 sera, obtained by centrifugation of blood from the thorax of the above mentioned foxes, were analyzed by the Rapid Fluorescent Foci Inhibition Test (RFFIT) for the presence of rabies

neutralizing antibodies. A 1:60 neutralizing dilution was retained as the cut-off value for seroconversion;

- vaccine safety in foxes and micromammals: the presence of rabies virus of vaccine (or wild) origin was looked for, using the IF technique, on brain smears from the above mentioned foxes (N=407) and 138 micromammals trapped 2 to 5 weeks after the autumn 1984 immunisation campaign, near selected baiting sites.

Vaccine stability in field conditions proved negatively correlated with environment temperatures (Table 2); in particular, when the maximum approached 30°C (second and third baiting campaigns), average virus titers dropped within one week below the accepted 100% immunisation threshold (10^6 IU/ml). On the other hand, conservation at -20°C for up to one year didn't significantly influence virus titers (-20°C stocked vaccine was used during the second and fourth campaigns).

Data regarding bait uptake and immunisation success in foxes are presented in Table 3.

Total bait uptake ranged between 50.8 and 85.2% independently of season and vegetation cover. Significant differences were found in relation to altitude (much lower bait uptake above 1200 m). No correlation was observed between total and specific (fox) bait uptake, indirectly demonstrating a considerable intervention of non target species; data from the immunisation campaigns in the province of Brescia confirm that non target species accounted for 28.4 to 43.7% of the bait uptake of known origin, stray dogs playing a major role followed by mustelids, cats, etc.

Percentage of tetracycline (TC) positive foxes, though not very high, compares with those from other immunisation campaigns (Steck et al., 1982; Schneider et al., 1985; Frisch et al., 1987). Moreover, the low value found after the fourth baiting campaign, when higher seroconversion rates were detected out of the same foxes, is probably biased by imperfect preparation of the soap-like baits (uneven concentration of the marker in the different batches). High temperatures, though enhancing the smell of baits, didn't apparently shorten the time foxes took to find them.

On average, seroconversion percentages were somewhat lower compared with those from similar trials (Steck et al., 1982; Schneider et al., 1985; Brochier et al., 1987; Frisch et al., 1987). Insufficient sample size is the most likely explanation of the 75% seroconversion registered after the second immunisation campaign whereas the 26.4% seroconversion observed after the third immunisation campaign agrees with the rapidly decreasing virus ti

TABLE 2 Fox vaccination campaigns in Italy: vaccine stability in field conditions.

	Average virus titers (IU/ml) in baits collected on days after delivery:			
	0	4	8	14
First campaign (-2; +16°C)	3.4x10 ⁷	8.8x10 ⁶	2.8x10 ⁶	4.2x10 ⁶
N	2	4	2	2
Second campaign (+10; +29°C)	5.7x10 ⁶	1.2x10 ⁶	5.1x10 ⁵	4.5x10 ⁵
N	5	6	6	2
Third campaign (+12; +31°C)	1-2x10 ⁷	5.1x10 ⁵	1.8x10 ⁵	2.2x10 ⁴
N	*	6	8	5
Fourth campaign (0; +24°C)	1.5x10 ⁷	1.7x10 ⁶	1.3x10 ⁶	4.5x10 ⁵
N	*	3	3	5

* not available

TABLE 3 Fox vaccination campaigns in Italy: total and specific (fox) bait uptake and immunisation success in foxes.

	First	Second	Third	Fourth
Baits controlled	551	537	1095	1041
Baits controlled/ baits delivered	0.07	0.07	0.03	0.10
% bait uptake after:				
4 days	25.5	31.8	20.6	17.9
8 days	41.8	68.1	41.1	34.7
14 days	61.1	85.2	60.2	50.8
Fox controlled for TC in bones	46	21	199	107
%-TC positive foxes	63.0	42.8	42.2	35.5
Fox sera analysed	30	8	212	107
Sera controlled/ 10 km ²	0.42	0.11	0.65	1.40
% RFFIT positive foxes	40.0	75.0	26.4	42.0

ters from vaccines collected on the terrain.

As far as the safety aspect is concerned, vaccine-induced rabies was never detected in foxes and micromammals from the baiting areas. Moreover, wild rabies was never diagnosed in the fox sample examined, proving that immunisation campaigns (at least the first and third ones) were probably carried out during "physiological" attenuations of the epizootic wave.

In both infected areas under experiment (Brescia and Trento-Bolzano provinces) wild rabies permanently disappeared within 3 weeks after the first distribution of baits. The pattern of rabies cases registered in the se two foci, since the onset of the disease, is reported in Fig.2.

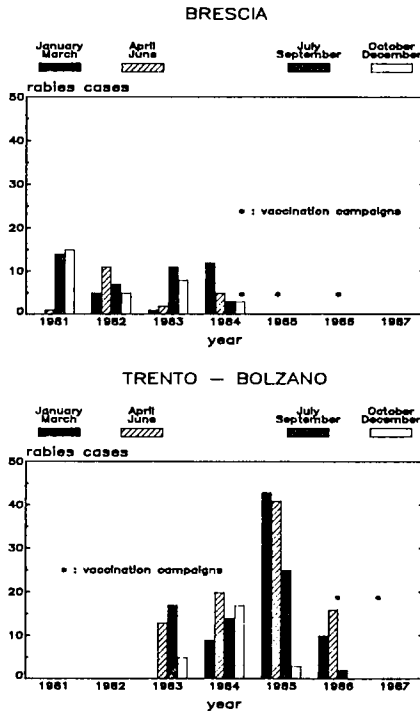


Fig.2 Rabies cases registered in the provinces where fox vaccination was carried out.

CONCLUSIONS

Faced with the very rapid and permanent disappearance of rabies in vaccinated areas, many people are comprehensibly tempted to stress the complete success of the interventions carried out. Nevertheless, the contemporaneous disappearance of rabies in Valtellina and Friuli Venezia Giulia, two large areas where only fox shooting had been performed, calls for a more

cautious attitude. In other words, we feel that in the baited areas oral vaccination of foxes played an important role in eradicating rabies but we can't prove it definitely.

There is no doubt that vaccination trials in Italy were favourably influenced by the very low fox densities due to rabies itself and the direct prophylaxis measures. Indeed, a well known rabies spread simulation model (Berger, 1976) confirms that far fewer than two foxes per km² must be present for moderate to low ($\leq 40\%$ seroconversion) vaccination success to lead rabies to extinction.

According to this wary view, the Scientific Committee, though actually considering oral vaccination of foxes an interesting, time saving and cheap (compared with the others) means of controlling rabies, insists upon the experimental character that future immunisation campaigns still must have in our country.

REFERENCES

- Atanasiu, P., Biocca, E., Balbo, T., Metianu, T. and Panà, A. 1982. Vaccination orale rabique des renards avec un vaccin a virus inactif. Résultats préliminaires. In "Rendiconti della Fondazione Istituto Pasteur-Cenci Bolognetti", 1, 79-84.
- Berger, J. 1976. Model of rabies control. In "Mathematical models in medicine, Lect.Notes Biomath.", 11, 74-88.
- Biocca, E., Balbo, T., Metianu, T. and Atanasiu, P. 1982a. Vaccination orale rabique des renards avec un vaccin a virus vivant atténué. In "Rendiconti della Fondazione Istituto Pasteur-Cenci Bolognetti", 1, 71-77.
- Biocca, E., Balbo, T., Lanfranchi, P. and Peracino, 1982b. Ricerche di etologia sanitaria della volpe ai fini della vaccinazione antirabbica per via orale: esche, segnalazioni acustiche e metodi di cattura. In "Rendiconti della Fondazione Istituto Pasteur-Cenci Bolognetti", 1, 85-125.
- Biocca, E. and Bellani, L. 1987. Proc.Int.Cong."Rabbia silvestre: risultati e prospettive della vaccinazione orale in Europa", (October 19-21, 1987, Sirmione and Trento). Relazione introduttiva, in press.
- Brochier, B., Tokem, A., Ginter, A., Lejeune, E., Costy, F., Marchal, A., Preharpre, D., Couvreur, J.M., Dufey, J., Kalpers, J., Leonard, M., Bauduin, B., Desmecht, M., Schneider, L.G. and Pastoret, P.P. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en Belgique. Contrôles d'efficacité et d'innocuité chez le renard roux (Vulpes vulpes; L.). Ann.Med.Vet., 131, 463-472.
- Frisch, R., Wolff, F., Krier, A., Brochier, B. and Scheider, L.G. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée au Grand-Duché de Luxembourg. Contrôles d'efficacité chez le renard roux (Vulpes vulpes; L.). Ann.Med.Vet., 131, 449-456.
- Ruatti, A., Ronzanelli, M., Allegretti, M., Ciuchini, F., Irsara, A., Civaroli, A., De Simone, F., Balbo, T. and Lanfranchi, P. 1987. L'esperienza italiana nel controllo della rabbia silvestre: le campagne vaccinali italiane 1984-1987. Proc.Int.Congr."Rabbia silvestre: risultati e prospettive della vaccinazione orale in Europa", (October 19-21, 1987,

- Sirmione and Trento). In press.
- Schneider, L.G., Cox J.H. and Muller, W.W. 1985. Field trials of oral immunisation of wildlife animals against rabies in the Federal Republic of Germany: a mid course assessment. Rev.Ecol.(Terre Vie), 40, 265- .
- Steck, F., Wandeler, A., Bichsel, P., Capt, S. and Schneider, L.G. 1982. Oral immunisation of foxes against rabies. A field study. Zbl.Vet.Med., 29, 372-

ORAL VACCINATION OF FOXES IN THE GRAND-DUCHY OF LUXEMBOURG.

R. Frisch, F. Wolff, A. Krier
Ministère de l'agriculture, de la viticulture
et des eaux et forêts.
Administration des services vétérinaires,
89 Rue d'Anvers, Boîte postale 1403,
Luxembourg, grand-duché de Luxembourg.

May I give you a very brief introductory survey of wild-life rabies during the last 20 years. Since 1966, when the first case was notified, rabies was permanently present, except for a two year period (1970-1972) after extensive gazing had been performed in 1968 and 1969. Among the 1.400 cases which were reported during these 20 years, there was a high percentage of bovines causing important economic losses.

That's why we introduced regulations allowing rabies vaccination in wild-life since January 1985, but we could not, due to our small territory of less than 2.600 km², start a vaccination campaign on our own. As more than 60% of this territory lie within a 10 km distance from the national borders, rabies could, in spite of successful vaccination results, be reintroduced from not vaccinating neighbouring countries.

Fortunately, Belgium, France in 1986, Saarland, Rheinland-Pfalz and Nord-Rhein Westphalen in 1987 agreed to perform simultaneously the vaccination in their adjoining frontier regions creating thus a large international vaccination area of 18.000 km².

Three vaccination campaigns have been carried out until now in Luxembourg:

the first on 20th and 21th September 1986;
the second on 9th and 10th May 1987;
the third on 19th and 20th September 1987.

These campaigns were organized and supervised by the Administrations of Veterinary Services and of Forestry. We learned from the German Model and we followed it very closely.

In each campaign 39.000 Tübingen baits were delivered to more than 600 hunters who were responsible for the bait repartition on their hunting areas which have an average surface of 4km². The distributing rate was fixed at 15 baits/km². The total cost per campaign (1,7 M.L.F.) was taken in charge by the State.

As the vaccination was carried out in the frame of a field trial, several control mesures had to be fulfilled.

Thus a BAIT UP-TAKE SURVEILLANCE has been set up in 11 areas representing 2% of the total vaccination area.

For the 3 campaigns the results can be summarized as follows :

	Number of baits controled	Bait up-take after			Total	%
		4	8	14 days		
September 1986	639	144	132	86	367 =	58,4%
May 1987	754	156	181	143	480 =	63,7%
September 1987	584	176	126	102	384 =	65,8%

The uptake rate was the highest in the open field, on the skirts of forests, along small rivers and brooks, while the neighbourhoods of foxe-arths show better rates in spring- vaccination.

Mice have been serious competitors in the open field in September 1986, while cats and dogs play the same role near villages and in urban districts. The competitor role of boars and other wild animals needs further investigations.

It was reported that during the spring and this autumn vaccination, the baits were entirely covered with mold after a few days.

The second and most important control concerns THE RESEARCH OF ANTIBODIES in sera collected from foxes shot at random all over the country after the different vaccination campaigns.

In order to get a sufficient number of control foxes the bounty of 1.000 lux. francs for each killed fox was maintained until now.

These testings are done by the federal Institute in Tübingen (G.F.R.). The results, only available for the 2 first vaccination controls are the following:

1. 196 foxes shot between 15.10.86 and 20.12.86:
29 showed to be contaminated by field virus (15%)
10 were unfit for testing.

From the remaining 157 foxes, 77% showed sero-conversion.

2. 127 foxes shot between 1.6.87 and 15.7.87:
3 were contaminated by field virus (2,4%)
10 were unfit for testing.

From the remaining 114 foxes, 84 (= 74%) showed sero-conversion.

TETRACYCLINE CONTROL carried out in Pasteur Institute in Brussels on bones of the same foxes showed 62% after the autumn 86 and 71% T.C. positive reactions after the spring 87 vaccination. It was surprising that 56% of young foxes were T.C. positive.

The antibody-Tetracycline correlation was with 60% in 1986 and 62% in 1987 relatively low.

As unsatisfactory mixing technic for the industrial bait material and a low sensitiveness of the bone testing method may be responsible for these results.

DISCUSSION

While we had an excellent epidemiological situation during the first 6 months of 1986, with only 23 cases registered, the best results of the last 6 years, we were confronted with a sudden increase of rabies in July 1986.

Our first vaccination was thus performed in September 1986 during this recrudescence phase and could obviously not stop immediately this new rabies wave. So a total of 115 cases were registered between July and December 1986 mainly in the eastern part of the country between Luxembourg-City and the German border.

The situation improved rapidly in January. Only 15 cases were registered during the 4 first months of 1987. Nearly all occurred in the former strongly infected regions.

Between 1 May and the 15 November 8 cases (4 foxes, 3 bovines and 1 cat) occurred. All were located near the German border. Some of them may be linked to the frontier area in Rheinland-Pfalz where vaccination only started last October.

The high percentage of domestic animals seems to be a normal evolution, since contamination between foxes is nearly impossible, the few

contaminated foxes still present can only transmit rabies to non vaccinated animals.

I would like to stress that we had an excellent collaboration from the hunters. Nevertheless at the last vaccination, we noticed a lowering of their interest.

CONCLUSION

In spite of having carried out our first vaccination during the ascendant branch of the infection curve we got excellent results. Our third vaccination campaign this autumn will surely improve them.

Having regard to the actual epidemiological situation, we are planning to undertake only one vaccination campaign next year in September.

We are hopeful that after the fourth vaccination rabies will be eradicated from our territory for a long period.

LA VACCINATION DU RENARD EN BELGIQUE

Brochier B.*, Iokem A.*, Ginter A.*, Kalpers J.*,
Thomas I.*, Paquot A.*, Hallet L.**, Duhaut R.**,
Costy F.***, Peharpre D.***, Pastoret P.-P.*.

* Fo.Re.Ra., Service de Virologie, Immunologie et
Pathologie des Maladies virales,
Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège,
45 Rue des Vétérinaires, B-1070 Bruxelles, Belgique

** Service de l'Inspection vétérinaire,
Direction : Docteur I. Fontaine, Inspecteur Général,
21 Avenue du Boulevard, B-1210 Bruxelles, Belgique

*** Service de la Rage,
Institut Pasteur du Brabant,
28 Rue du Remorqueur, B-1040 Bruxelles, Belgique

RESUME

Les premières campagnes de vaccination antirabique du renard menées en 1986-1987 dans le Sud de la Belgique entrent dans le cadre d'une stratégie européenne de lutte. Trois campagnes ont été réalisées sur le territoire frontalier qui jouxte le grand-duché de Luxembourg (2100 km²) et une campagne vient d'être effectuée en regard du Länder Nordrhein Westfalen (750 km²) de la République fédérale d'Allemagne. L'efficacité et l'innocuité de l'appât vaccin SAD B19 utilise ont été contrôlées durant les mois qui ont suivi chaque campagne. L'innocuité de cette souche vaccinale est confirmée tant pour l'espèce cible que pour les espèces non cibles.

Le bilan épidémiologique préliminaire est plus encourageant que les résultats des contrôles realises en laboratoire (détection de tétracycline et recherche d'anticorps antirabiques).

INTRODUCTION

Le front de l'épizootie de rage sylvatique a touche la Belgique en 1966 pour ensuite se propager vers l'ouest et le sud du pays et atteindre le sillon Sambre et Meuse qui semble opposer une barrière naturelle à l'extension de la maladie. L'évolution de l'épizootie se caractérise par une succesion de pics pluriannuels entrecoupes de périodes d'accalmie (Figure 1). Jusqu'en 1982, cette fluctuation pluriannuelle était d'une périodicité régulière d'environ 4 ans et semblait liée aux variations de densité de population vulpine.

L'autorégulation des populations vulpines (due principalement à la rage elle-même) associée à certaines mesures de prophylaxie sanitaire ont réduit les effectifs vulpins à un seuil entraînant un silence chaque fois momentane de l'épizootie en amont du front.

Cependant, après la forte recrudescence observée en 1982, l'accalmie

ne s'est pas produite. Depuis 5 ans, le nombre annuel de cas de rage diminue progressivement mais reste anormalement élevé. La maladie semble s'être stabilisée à l'état enzootique en amont du front et se caractérise par la persistance de foyers étendus. La rage frappe modérément mais partout.

Les méthodes de contrôle de la population vulpine ont partiellement contribué aux accalmies de l'épizootie sans pour autant en freiner l'extension ultérieure.

Les premières campagnes de vaccination antirabique du renard menées en 1986 et 1987 dans le sud de la Belgique entrent dans le cadre d'un projet européen mis sur pied en novembre 1985 dans les locaux de la Commission des Communautés européennes (Pastoret et al., 1987). Le protocole expérimental de ces campagnes internationales a été établi par les autorités compétentes du grand-duché de Luxembourg, de Belgique, de France et d'Allemagne de l'Ouest et selon les directives formulées par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.).

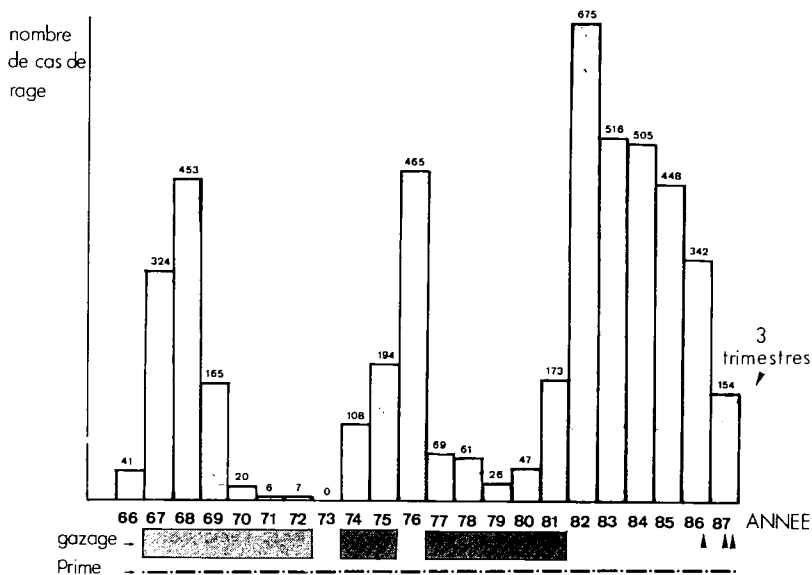


Fig. 1 Evolution du nombre de cas de rage animale recensés en Belgique de 1966 à 1987 (3 premiers trimestres). La mise en oeuvre des mesures prophylactiques sanitaires (remise de primes pour renard abattu (.....) et opérations de gazage des terriers (■)) ainsi que des campagnes de vaccination antirabique du renard en territoire frontalier (▶) est située dans le temps.

L'accent est surtout mis sur la nécessité de débiter les vaccinations le long des frontières politiques. Les opérations menées en Belgique s'inscrivent donc parfaitement dans une stratégie européenne de lutte.

Cette contribution décrit les trois campagnes de vaccination antirabique du renard menées en Belgique en 1986 et 1987 ainsi que les résultats des contrôles d'efficacité et d'innocuité effectués à leur suite. Un bilan épidémiologique préliminaire est dressé.

2. METHODES

2.1. CAMPAGNES DE VACCINATION

2.1.1. ZONES ET DATES DE VACCINATION (Figure 2)

En vue de contribuer à la formation d'une ceinture immunitaire autour du grand-duché de Luxembourg, la Belgique a mené 3 campagnes de vaccination sur le territoire frontalier qui jouxte ses frontières. Cette barrière, profonde de 15 à 25 km, représente une superficie de 2100 km². La distribution d'appâts vaccinaux dans cette zone a été réalisée en septembre 1986, juin et septembre 1987.

Suite à une demande des autorités allemandes envisageant une première campagne de vaccination dans le Länder limitrophe à la Belgique (Nordrhein Westfalen), les services de l'inspection vétérinaire ont décidé d'étendre la zone de vaccination vers le nord. Un territoire d'une superficie de 750 km² a été greffée au ler de façon à constituer une barrière immune le long de la frontière belgo-allemande. La première campagne de vaccination dans le Länder Nordrhein Westfalen ainsi que dans la nouvelle zone constituée en Belgique a été réalisée en octobre 1987.

La zone actuelle de vaccination est donc délimitée au nord, à l'est et au sud par 3 frontières politiques. A l'ouest, les limites sont essentiellement administratives vu l'absence de barrière naturelle ou artificielle exploitable dans cette région du pays.

2.2. VACCIN

Les appâts vaccinaux utilisés sont fabriqués à l'échelon industriel et contiennent la souche atténuée SAD B19 du virus rabique. Ce vaccin est produit sur cellules BHK 21 clonées par le laboratoire fédéral de Tübingen en RFA (Schneider et Cox, 1983).

Une capsule en plastic contenant le liquide vaccinal est enrobée d'un mélange de farine de poisson et de graisse. Le ministère de l'Agriculture

a pris en charge la commande et l'achat en Allemagne des 77.600 doses vaccinales utilisées au cours des campagnes menées en 1986 et 1987.

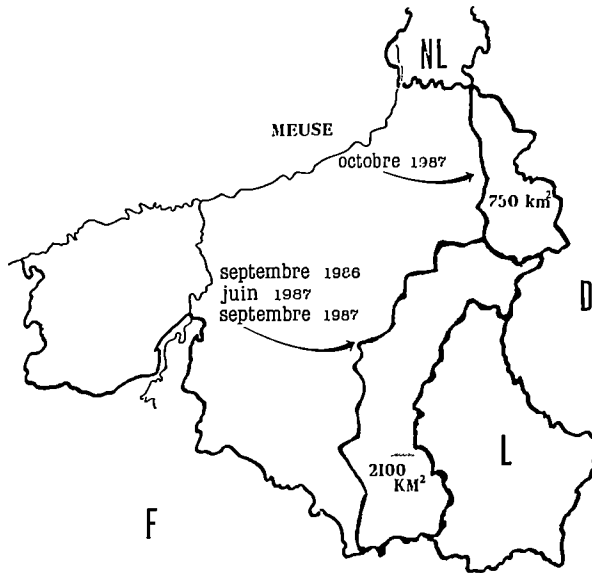


Fig. 2 Zones et dates des campagnes de vaccination antirabique du renard menées en Belgique en 1986 et 1987.

2.1.3. DISTRIBUTION DES APPÂTS SUR LE TERRAIN

En tenant compte du nombre d'appâts disponibles et des superficies couvertes par la vaccination, la distribution d'appâts au km² fluctue de 7 à 15 et varie avec le biotope . Certains endroits de prédilection (lisières, bosquets, terriers) sont l'objet de plus de sollicitude que d'autres (gros massifs forestiers, ...). Le dépôt d'appâts peut donc être qualifié de semi-sélectif.

Environ 200 personnes ont collaboré à la distribution sur le terrain; 60 % d'entre elles étaient représentées par des chasseurs bénévoles ayant été contactés antérieurement soit par un membre du Fo.Re.Ra., soit par l'agent technique des Eaux et Forêts du triage dont fait partie leur secteur de chasse. Les autres distributeurs d'appâts étaient les préposés des Eaux et Forêts et les membres du Fo.Re.Ra..

La réalisation de la campagne d'octobre 1987 (nouvelle zone de vacci-

nation) a été entièrement prise en charge par les services de l'Inspection vétérinaire et de l'Administration des Eaux et Forêts. Pour chacune de ces campagnes, les opérations de distribution sur le terrain ont duré 4 jours.

L'approvisionnement des dépôts secondaires, le conditionnement des doses vaccinales et l'équipement des distributeurs ont été assurés par le Fo.Re.Ra..

2.2. CONTROLES ET SURVEILLANCE

Les résultats des contrôles effectués portent uniquement sur les campagnes menées dans la zone initiale de vaccination (2100 km²).

2.2.1. CONTROLE D'EFFICACITE SUR LE TERRAIN :

Prise d'appâts.

Les contrôles de la consommation des appâts par les animaux ont été réalisés dans plusieurs zones prédéterminées et situées dans des entités communales distinctes. Chaque zone de contrôle couvrait de 200 à 400 ha de terrain et était caractérisée par un milieu de type mixte abritant du renard. Les appâts vaccinaux ont été disposés de façon uniforme dans l'ensemble de ces zones au jour 0; chacun d'eux fut contrôlé aux jours 4, 8 et 14. Un piquet de bois numéroté a été planté à proximité de chaque appât pour servir à la fois de point de repère sur le terrain et d'outil d'identification. De plus, chaque appât fut pointé et numéroté sur carte à échelle 1/25000e. Cent quatre vingt cinq, trois cent douze et deux cent nonante-deux appâts ont été contrôlés à la suite de la première, la seconde et la troisième campagne respectivement. Les données recueillies sur le terrain ont été réparties en 5 classes :

* disparition de l'appât :

- consommation probable de la partie attractive;
- absence de données concernant l'ingestion du liquide vaccinal.

* présence de la capsule vaccinale vide et perforée :

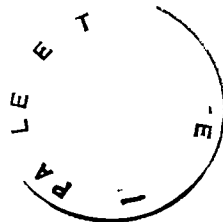
- consommation de la partie attractive;
- ingestion du liquide vaccinal.

* Présence de la capsule vaccinale intacte :

- Consommation de la partie attractive;
- non ingestion du liquide vaccinal.

* présence de l'appât entier :

- non consommation de la partie attractive;



- non ingestion du liquide vaccinal.

* altération physique ou biologique de l'appât.

L'ingestion de l'enrobage appétent et/ou du liquide vaccinal par des espèces non cibles a pu être sporadiquement mise en évidence grâce au relevé des indices d'identification suivants :

- présence d'empreintes en sol meuble;
- présence de laissées (mustelidés);
- type de perforation de la capsule (chien, mustélidés, micromammifères);
- traces de grignotage à la surface de l'appât (micromammifères).

2.2.2. CONTROLES D'EFFICACITE ET D'INNOCUITE EFFECTUES EN LABORATOIRE

Récolte des dépouilles d'animaux sauvages

Durant les mois qui suivaient chaque distribution d'appâts, les dépouilles d'animaux sauvages récoltées dans la zone vaccinée ont été transférées à l'Institut Pasteur du Brabant. L'acheminement de ces cadavres vers l'Institut fut organisé par les services de l'Inspection vétérinaire. Des renards, tués ou trouvés morts, ont pu être recueillis dans la majorité des entités communales faisant partie de l'aire de vaccination.

Le Fo.Re.Ra. a également procédé à une capture de micromammifères durant le mois qui a suivi la première campagne de vaccination. Le nombre de sujets récoltés par espèce ainsi que les tests de laboratoire réalisés pour chaque espèce sont donnés au tableau n°1 (Tableau 1).

TABEAU 1 Tests de laboratoire réalisés à partir de prélèvements effectués sur les dépouilles d'animaux sauvages.

CAMPAGNE DE VACCINATION	NOMBRE DE DEPOUILLES D'ANIMAUX SAUVAGES	DUREE DE RECOLTE	NATURE DES PRELEVEMENTS	TESTS DE LABORATOIRE
septembre 86	228 micromammifères	1 mois	encéphale mâchoire	- isolement viral sur souris - détection T.C.
	11 hérissons		mâchoire	- détection T.C.
	68 renards	5 mois	corne d'Ammon mâchoire liquide thoracique	- diagnostic Rage - identification de la souche (A.C. monoclonaux) - détection T.C. - examen sérologique
juin 87	32 renards	3 mois	corne d'Ammon mâchoire liquide thoracique	- diagnostic Rage - identification de la souche (A.C. monoclonaux) - détection T.C. - examen sérologique
	4 fouines		corne d'Ammon mâchoire	- diagnostic Rage - identification de la souche (A.C. monoclonaux) - détection T.C.
	24 renards	1 mois	corne d'Ammon mâchoire liquide thoracique	- diagnostic Rage - identification de la souche (A.C. monoclonaux) - détection T.C. - examen sérologique

DIAGNOSTIC DE LA RAGE

La corne d'Ammon de l'encéphale est prélevée après trépanation de la boîte crânienne. Au départ de ce prélèvement, le diagnostic est réalisé au moyen d'une technique d'immunofluorescence directe, selon les recommandations de l'O.M.S. (Kaplan et Koprowsky, 1973).

L'identification de la souche de virus rabique (souche sauvage ou vaccinale) responsable de la maladie s'effectue grâce à un test d'immunofluorescence indirecte utilisant deux anticorps monoclonaux fournis par le laboratoire fédéral de Tübingen.

DETECTION DE LA TETRACYCLINE DANS LES OS

La tétracycline est un marqueur additionné au mélange graisseux de l'appât. Cette substance est inoffensive et se dépose dans les couches appositionnelles des os, surtout chez les individus en croissance. Ces dépôts peuvent être mis en évidence en observant des coupes d'os au microscope à la lumière ultraviolette (Capt, 1981).

La mandibule gauche est disséquée, extraite du cadavre et conservée à -20°C si l'examen n'est pas réalisé extemporanément. Deux sections transversales sont ensuite effectuées au niveau des dents molaires de façon à

obtenir une coupe d'os d'une épaisseur de 400-500 microns. Le prélèvement est immédiatement déposé sur une lame porte-objet et examiné au microscope. Les dépôts de tétracycline apparaissent en jaune fluorescent sur fond bleu pâle.

EXAMEN SEROLOGIQUE

Un prélèvement de sang a pu être effectué dans la cavité thoracique des cadavres de renards. Après centrifugation de l'échantillon, le sérum est récolté et stocké à -20°C.

La détection d'anticorps antirabiques a été réalisée à l'aide de la technique RFFIT (Smith et al., 1973; Frost, 1978).

ANALYSE EPIDEMIOLOGIQUE

Cette analyse s'effectue à partir des données numériques suivantes :

1. nombre annuel de cas de rage animale dans la zone de vaccination de 1982 à 1987;
2. nombre annuel de cas de rage animale en Belgique.

La comparaison dans le temps des données susmentionnées reste insuffisante pour dresser un bilan épidémiologique. L'interprétation des résultats doit tenir compte de la mouvance géographique imprévisible de l'épi-zootie.

Cette analyse comparative est effectuée sur les données épidémiologiques des 6 dernières années car l'année 1982 correspond au dernier pic de la zoonose en Belgique. De plus, comme depuis 1982 le gazage des terriers n'est plus pratiqué, on élimine ainsi une variable qui aurait rendu toute analyse beaucoup plus complexe.

ISOLEMENT DU VIRUS VACCINAL SUR SOURICEAUX

Un broyat d'encéphale de chaque micromammifère est porté à 10-20 % de suspension dans du PBS (Phosphate Buffered Saline), en ajoutant des antibiotiques (streptomycine et pénicilline). Après centrifugation, le surnageant est injecté par voie intracérébrale à 5 souris de 3-4 semaines. Les animaux ainsi inoculés sont observés durant 30 jours. Les souris moribondes développant une maladie clinique évidente sont sacrifiées et le virus recherché par immunofluorescence directe.

3. RESULTATS

3.1. CONTROLES SUR LE TERRAIN DE LA PRISE D'APPATS

Ces résultats sont consignés au tableau n°2 et à la figure n°3.

Le grignotage des appâts par des micromammifères a été observé dans 31 % des cas en septembre 1986, dans 28 % des cas en juin 1987 et 29 % des cas en septembre 1987. Pour l'ensemble des relevés, les indices d'identification ont permis de prouver l'ingestion de liquide vaccinal par des micromammifères, des mustelidae et des chiens (Figure 3 et Tableau 2).

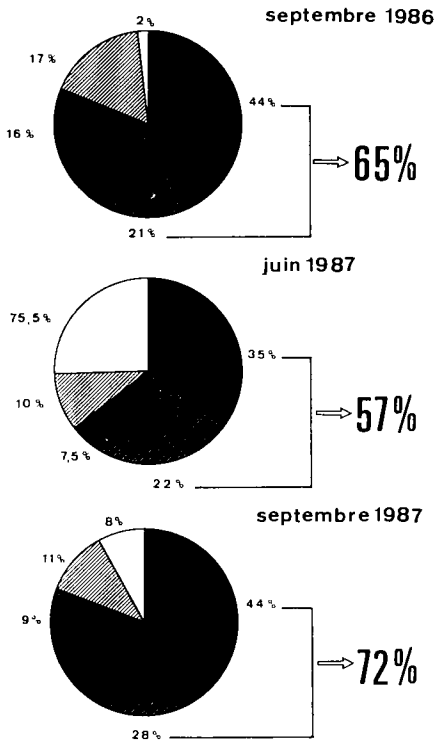


Fig. 3 Contrôles de la prise d'appâts. Résultats obtenus le 14ème jour après dépôt sur le terrain. Ces données ont été récoltées lors des campagnes menées en septembre 1986 (n=185), juin 1987 (n=312) et septembre 1987 (n=292).

■ : disparition de l'appât; ■ : disparition de l'appât, capsule retrouvée vide et perforée; ■ : disparition de l'appât, capsule retrouvée intacte; ▨ : appât intact; □ : altération physique ou biologique de l'appât.

TABEAU 2 Résultats des contrôles de prise d'appâts effectués aux 4ème, 8ème et 14ème jour après dépôt sur le terrain. Ces données ont été récoltées lors des campagnes de vaccination menées en septembre 1986 (n=185), juin 1987 (n=312) et septembre 1986 (n=292).

Devenir de l'appât	Campagne	jour 4	jour 8	jour 14
- Appât disparu Capsule non retrouvée	septembre 86	20%	31%	44%
	juin 87	16%	30%	35%
	septembre 87	23%	37%	44%
- Appât disparu Capsule perforée et vide	septembre 86	9%	16%	21%
	juin 87	14%	20%	22%
	septembre 87	19%	24%	28%
- Appât disparu Capsule retrouvée intacte	septembre 86	4%	10%	16%
	juin 87	3%	6%	7,5%
	septembre 87	3%	7%	9%
- Appât intact	septembre 86	66%	40%	17%
	juin 87	61%	27%	10%
	septembre 87	55%	31%	11%
- Appât altéré	septembre 86	1%	2%	2%
	juin 87	6%	17%	25,5%
	septembre 87	0%	1%	8%

3.2. DIAGNOSTIC DE LA RAGE ET IDENTIFICATION DE LA SOUCHE DE VIRUS RABIQUE

La rage a été diagnostiquée chez :

- * 23,5 % (16/68) des renards récoltés durant les 5 mois qui ont suivi la campagne menée en septembre 1986;
- * 20 % (6/30) des renards et une fouine récoltés durant les 3 mois qui ont suivi la campagne menée en juin 1987;
- * 6 % (1/17) des renards récoltés durant le mois qui a suivi la campagne menée en septembre 1987.

L'identification de la souche de virus rabique à l'aide d'anticorps monoclonaux a permis de certifier qu'il s'agissait dans tous les cas de rage sauvage et non de rage vaccinale.

3.3. DETECTION DE TETRACYCLINE DANS LES OS

- * Renards : le tableau n°3 donne, pour chaque période de contrôle, les pourcentages de renards dont les mâchoires présentaient un dépôt de

tétracycline.

- * autres espèces : la tétracycline a été retrouvée dans les os de 11 % de micromammifères (n=187) ainsi que dans la mâchoire d'une fouine (Martes fouina, L.) enragée (Tableau 3).

Tableau 3 Résultats des tests de détection de tétracycline dans les os des renards.

	Campagne septembre 86	Campagne juin 87	Campagne septembre 87
durée de récolte →	5 mois	3 mois	1 mois
nombre de dépouilles de renards →	n = 68	n = 32	n = 24
renards Tétracycline + →	47%	50% adultes juvéniles n = 16 n = 16 ↓ ↓ 69% 31%	66%
	rage + rage - n = 16 n = 52 ↓ ↓ 44% 48%	rage + rage - n = 6 n = 26 ↓ ↓ 33% 54%	rage + rage - n = 0 n = 24 ↓ ↓ 0% 66%

3.4. EXAMEN SEROLOGIQUE

A la suite de la première campagne, la recherche d'anticorps antirabiques a pu être effectuée chez 49 renards (11 enragés + 38 sains). Une séroconversion a été observée chez 9/11 animaux enragés (82 %) et chez 37/38 animaux sains (97 %).

3.5. ISOLEMENT DU VIRUS VACCINAL SUR SOURICEAUX

Sur 216 micromammifères analysés, aucun virus (ni vaccinal, ni sauvage) n'a pu être isolé.

3.6. ANALYSE EPIDEMIOLOGIQUE

La figure 4 rapporte le nombre de cas de rage confirmés dans la zone

de vaccination avant (1982 à 1986) et après vaccination du renard. Les figures 5 et 6 représentent les cartes épidémiologiques précises pour les années 1986 et 1987 (données arrêtés au 31 octobre).

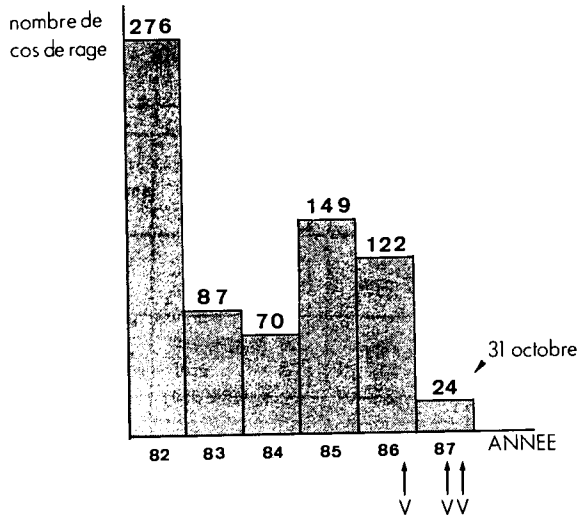


Fig. 4 Evolution du nombre de cas de rage animale recensés dans la zone de vaccination de 1982 à 1987 (données arrêtées le 31 octobre). Les 3 flèches situent les campagnes de vaccination dans le temps.

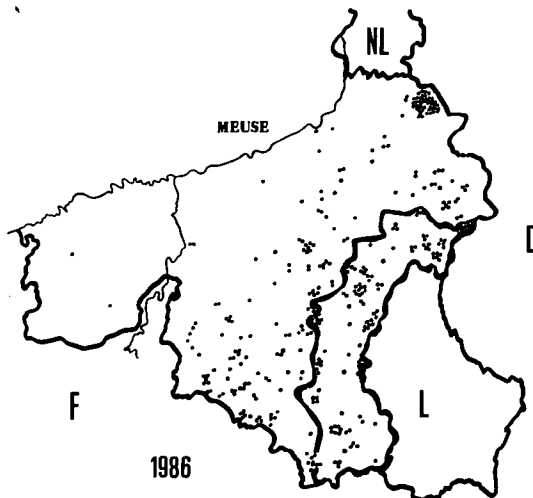


Fig. 5 Carte épidémiologique de la rage en Belgique : année 1986.

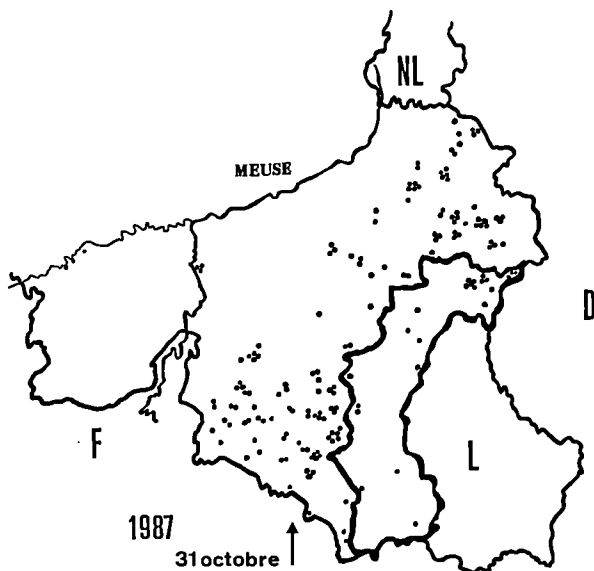


Fig. 6 Carte épidémiologique de la rage en Belgique : année 1987 (données arrêtées le 31 octobre).

4. DISCUSSION

Les résultats obtenus au cours des contrôles de la prise d'appâts sur le terrain confirment l'efficacité de ce type d'appât pour ce qui est de son pouvoir attractif (odeur et saveur). La plupart des appâts sont consommés durant les huit jours qui suivent la distribution. Cependant, lors de la campagne de juin 1987, un temps très pluvieux et frais a favorisé l'apparition rapide de moisissures à la surface des appâts. Cette altération biologique est probablement responsable de la moins bonne prise d'appât constatée à la suite de cette campagne.

Le simple passage en revue des appâts reste une méthode peu précise en ce qui concerne : - l'identification de l'espèce animale consommatrice : les indices d'identification utilisables ont néanmoins permis de mettre en évidence l'ingestion du vaccin par des micromammifères, des chiens et des mustelidae (ces observations sont sporadiques);

- l'ingestion réelle du liquide vaccinal lorsque l'appât a simplement disparu.

Beaucoup d'appâts sont grignotés en surface par des micromammifères.

Ce phénomène n'empêche généralement pas la prise ultérieure par un renard. Toutefois, si la présence de l'appât est prolongée (plus de 8 jours), les rongeurs peuvent consommer entièrement l'enrobage graisseux et perforer la capsule.

Le nombre de capsules retrouvées intactes ou insuffisamment perforées montre que la capsule peut être aisément isolée de la partie attractive. Une amélioration de la présentation galénique du vaccin éviterait cette perte significative et favoriserait le contact vaccin-muqueuse buccale. Au sein d'une même zone de contrôle, il a été constaté que le taux de prise d'appât variait d'un endroit à l'autre (rapport de 1 à 10 dans certains cas), ce qui est vraisemblablement lié à des densités de population vulpines différentes, ou encore à des variations géographiques du comportement alimentaire. Ici se pose la question de savoir si une technique de distribution semi-sélective (densité d'appâts variable) n'est pas préférable à leur répartition uniforme.

Les résultats d'analyse de détection de tétracycline dans les mâchoires de renards sont moins satisfaisants que ceux obtenus au grand-duché de Luxembourg ou en Allemagne de l'Ouest (Frisch et al., 1987; Schneider et al., 1985). Approximativement 50 % des renards récoltés après les 2 premières campagnes possèdent de la tétracycline. A la suite de la campagne printanière, 30 % seulement des renardeaux présentaient de la tétracycline. Cette faible valeur atténue l'espoir de vacciner un grand nombre de jeunes individus à l'occasion de cette campagne printanière.

La situation pourrait s'améliorer en adoptant la technique de distribution semi-sélective mais nécessiterait un repérage antérieur des terriers de reproduction. Ce n'est qu'après la troisième campagne que le pourcentage de renards tétracycline-positifs atteint la valeur espérée.

Cette augmentation résulte vraisemblablement de l'effet cumulatif des 3 campagnes puisque la tétracycline peut persister dans les os durant plus de trois ans (Kappeler, communication personnelle).

Les animaux doublement positifs (rage et tétracycline) étaient probablement déjà en phase d'incubation de la maladie lors de l'ingestion de l'appât. L'hypothèse du rejet de la capsule vaccinale n'est pas à négliger non plus.

L'éventualité d'une rage vaccinale a pu être écartée grâce à l'identification de la souche de virus rabique à l'aide d'anticorps monoclonaux.

Les résultats relatifs à la recherche de tétracycline chez les espèces

non-cibles confirment la concurrence non négligeable que celles-ci exercent (micromammifères, fouines,...).

L'identification de la souche de virus responsable des cas de rage enregistrés dans la zone vaccinée ainsi que les tentatives d'isolement viral chez 217 micromammifères semblent confirmer l'innocuité de la souche SAD B19 du virus rabique.

D'un point de vue épidémiologique, il apparaît qu'en 1987 l'incidence de la rage a drastiquement diminué dans la zone vaccinée. Durant les 3 premiers trimestres de l'année, 22 cas ont été recensés. En 1985 et 1986, il y eut respectivement 76 et 90 cas durant cette même période. La plupart des cas parmi les 22 précités sont concentrés en un foyer situé au nord de la zone de vaccination. Cette diminution s'inscrit dans une tendance générale à l'accalmie dans tout le pays. Néanmoins, cette dernière n'a pas eu lieu dans la même proportion.

Il faut également noter que l'enzootie actuelle couvre tout le sud du pays et que la zone de vaccination encerclée de façon diffuse au Nord et à l'Ouest par des foyers importants, semble actuellement assainie.

5. CONCLUSIONS

Les premières campagnes belges de vaccination antirabique du renard s'inscrivent parfaitement dans une stratégie de lutte menée à l'échelon européen. En effet, conformément aux recommandations formulées par l'O.M.S., la Belgique a donné priorité à la vaccination d'une partie de son territoire en regard de 3 frontières politiques.

Au niveau national, l'organisation et la réalisation des campagnes de distribution d'appâts se sont déroulées grâce à la motivation de personnes bénévoles contactées directement par le Fo.Re.Ra..

Néanmoins, ces opérations devraient à l'avenir être davantage rationalisées et entièrement prises en charge par les administrations concernées comme c'est déjà le cas dans la deuxième zone de vaccination. En effet, il n'existe pas en Belgique d'organisation structurée de chasseurs qui pourrait assurer cette partie essentielle du travail qu'est la distribution des appâts sur le terrain.

Le bilan épidémiologique préliminaire établi pour la Belgique est plus satisfaisant que les résultats des contrôles d'efficacité réalisés en laboratoire. Cependant, les campagnes menées en Belgique sont encore trop limitées dans le temps et l'espace que pour mesurer scientifiquement leur

impact réel sur l'évolution de la zoonose en Belgique.

BIBLIOGRAPHIE

- Capt, S. 1981. Köder versuche beim Rotfuchs (Vulpes vulpes, L.). Lizentiatsarbeit phil. nat., 1981, Universität Bern, pp. 90.
- Frisch, R., Wolff, F., Krier, A., Brochier, B. and Schneider, L.G. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée au grand-duché de Luxembourg. Contrôles d'efficacité chez le renard roux (Vulpes vulpes, L.). Ann. Méd. Vét., 131, 449-456.
- Frost, J.W. 1978. Neutralization and immunofluorescence test (NIF) for the demonstration of antibodies against rabies. Zbl. Vet. Med., 25, 338.
- Kaplan, M.M. And Koprowski, H. 1973. Laboratory techniques in rabies, 3rd ed., World Health Organization, Geneva.
- Pastoret, P.-P., Frisch, R., Blancou, J., Wolff, F., Brochier, B. and Schneider, L.G. 1987. Campagne internationale de vaccination antirabique du renard par voie orale menée au grand-duché de Luxembourg, en Belgique et en France. Ann. Méd. Vét., 131, 441-447.
- Schneider, L.G. and Cox, J.H. 1983. Ein Felversuch zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen die Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland. Tierärztl. Umschau., 38, 315-324.
- Schneider, L.G., Cox, J.H. and Muller W.V. 1985. Field trials of oral immunization of Wildlife animals against rabies in the federal republic of Germany : a mid course assessment. Rev. Ecol. (Terre Vie), 40, 265-266.
- Smith, J.S., Yager P.A. and Baer, G.M. 1973. A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody. Bull. W.H.O., 48, 535.

LA VACCINATION ORALE DES RENARDS CONTRE LA RAGE EN FRANCE (1986-1987)

M. ARTOIS*, J. BLANCOU*, P. RIGAL*, O. ROBOLY** et T. CHILLAUD***

* Ministère de l'Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation, Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages B.P. 9 54220 Malzéville

** Entente Interdépartementale de Lutte contre la Rage B.P. 43 54220 Malzéville

*** Direction Générale de l'Alimentation, 175 rue du Chevaleret 75646 Paris Cédex 13

R E S U M E

En France la vaccination orale a commencé dans le département de Moselle en octobre 1986. Actuellement deux zones de vaccination sont à l'essai : une en Lorraine (1220 km²) et une autre dans le Doubs (125 km²). Ces deux programmes s'effectuent dans le cadre de collaborations internationales. Les protocoles de distribution des appâts sont conformes aux recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les souches vaccinales utilisées sont, en Lorraine, la souche SAD B19 (avec des appâts fabriqués en R.F.A.) et, dans le Doubs, la souche SAD Berne avec des appâts constitués de têtes de poules. Plus de 29000 appâts ont déjà été déposés en France au cours des campagnes de 1986 et 1987. Plus de la moitié de ceux-ci est emportée et une majorité de renards semble avoir été immunisée.

I. I N T R O D U C T I O N

La lutte contre la rage par vaccination orale des Renards est une méthode complémentaire des méthodes traditionnelles (limitation des populations vulpines). Etudiée depuis 1970 en laboratoire (Baer et al., 1971) ou en station (Blancou et al., 1985), elle a été appliquée sur le terrain dès 1978, en Europe.

Son principe consiste à déposer dans les zones fréquentées par les renards des appâts (contenant une capsule remplie d'un vaccin à virus vivant ("SAD") à raison de 15 appâts/km²).

En croquant l'appât le Renard perce la capsule et s'immunise durablement contre la rage : 70 à 80 % des renards vivant en zone ainsi traitée présentent des anticorps protecteurs et l'épidémie de rage s'arrête habituellement après 2 ou 3 campagnes.

Les problèmes d'innocuité des vaccins restent réels (Pépin et al., 1985) : la souche SAD est pathogène par voie orale pour certains mustélidés et rongeurs. Mais jusqu'ici aucun accident n'a été rapporté après la distribution de plus de 5 millions d'appâts en Europe occidentale. Mais ce problème pourrait être résolu par l'utilisation du vaccin utilisant la seule glycoprotéine ("Recombinant vaccine") (Blancou et al., 1986). En attendant, toutes les campagnes de vaccination restent, par prudence, de type expérimental (O.M.S., 1985).

Après la Suisse (1978), la RFA et l'URSS (1983), actuellement la Belgique, la France, l'Italie et le Luxembourg ont procédé à des essais sur des surfaces réduites (1000 à 3000 km² selon les pays) à partir de 1982 (Pastoret et al., 1987).

La présente note décrit les conditions de cet essai en France et ses premiers résultats.

II. ZONE D'ETUDE

a. Caractéristiques géographiques

En Lorraine, la zone de vaccination a été remodelée à l'occasion de chacune des campagnes de 1986 à 1987. A l'issue de cette période de mise au point, la zone couvre 1220 km² situés au nord des départements de Meurthe-et-Moselle (900 km²) et Moselle (320 km²). A défaut de barrières naturelles infranchissables le tracé s'appuie sur des routes à grande circulation et les frontières des pays riverains : Belgique, Luxembourg et R.F.A.

La zone s'étend donc sur 37 km avec une profondeur de 20 km en moyenne. L'est de la zone, jusqu'à Sierck, correspond au plateau lorrain avec une altitude moyenne de 300 m et une couverture boisée très importante.

En progressant vers l'ouest, on rencontre la vallée de la Moselle faiblement boisée et dont la surface agricole est principalement utilisée par les labours.

Plus à l'ouest, on trouve le "Pays Haut" lorrain avec une altitude moyenne de 300 m à 400 m : il s'agit d'un vaste plateau à relief monotone, exposé à tous les vents avec un climat rude. Ce plateau est compartimenté par des affluents de la Moselle : Crusnes et Chiers dans la zone de vaccination. La partie orientale est plutôt boisée, surtout en Moselle (33 %), moins en Meurthe-et-Moselle (25 %). L'activité agricole est plutôt orientée vers la culture que l'élevage : la surface en herbe représente 47 % de la superficie agricole utile et, en Moselle, plus de la moitié du terrain agricole est occupée par des labours.

Dans le Doubs, le secteur s'étend de Pontarlier à Villers-le-Lac sur 125 km². Le tracé est délimité par la frontière Suisse et la rivière Doubs. Cette rivière peut être franchie à gué, en été, en amont de la zone de vaccination. Le Nord et l'Est de celle-ci présentent un relief accidenté, les accès sont plus aisés dans la partie centrale et le Sud.

b. Situation épidémiologique

En Lorraine, la zone de vaccination peut être divisée en deux secteurs distincts de 1968 à 1977. La rivière Moselle fait office de frontière entre ces deux secteurs, canalisant la progression de la rage selon un axe orienté du Nord au Sud. Par la suite la situation épidémiologique est devenue plus confuse et a abouti à l'existence au début des opérations, de trois secteurs : l'autoroute A31 reliant Metz à Luxembourg, a constitué une limite nouvelle aux déplacements de la rage et a isolé un secteur central bien circonscrit par l'autoroute à l'Ouest, la rivière Moselle à l'Est et l'agglomération de Thionville au Sud.

En 1981/82, les cas sont nombreux dans la partie Ouest et en 83/84, dans la partie Centrale. La situation est calme sur l'ensemble du secteur en 1985, mais la rage sévit à nouveau en 1986 sur les bordures les plus à l'Est à l'Ouest de la zone.

Dans le Doubs, l'étroitesse de la zone ne permet pas de décrire l'évolution épidémiologique de façon indépendante. Le département a été atteint par la première vague de rage en 1974, avec un maximum absolu (jamais atteint depuis) en 1976. Lui succède une période presque "silencieuse" de 1977 à 1981. Un second maximum est atteint en 1982, les années qui suivent sont caractérisées par l'installation d'une rage enzootique jusqu'à la mise en place de la campagne. De l'autre côté de la frontière, la rage reste limitée à la zone frontalière, la vaccination orale ayant été mise en place.

III. V A C C I N S E T A P P A T S

En Lorraine, la souche vaccinale est la souche "SAD B19" produite sur cellules BHK21 clonées par le Laboratoire Vétérinaire Fédéral de Tübingen (R.F.A.). 1,8 ml de suspension vaccinale sont placés dans une capsule portant les mentions "Rage vaccin, Tollwut vakzine et Rabies vaccine" (Schneider, 1985). Le titre viral moyen est de 10⁹ DL50/I.C. souris par ml. Ce vaccin assure près de 100 % de protection, avec ce titre, en une seule prise chez le Renard adulte (ou en deux prises, chez les renardeaux, à 3 et 12 mois, dans des conditions expérimentales - Blancou et al., 1985). Des essais ont montré une stabilité satisfaisante du titre vaccinal, dans l'appât placé à l'extérieur, pendant au moins deux semaines (Pastoret et al., 1987).

L'appât est constitué d'un mélange de farine de poisson et de graisse qui dégage une forte odeur en se ramollissant à la température extérieure. 150 mg de Tétracycline, par appât, sont incorporés au mélange. Finalement, l'appât se présente sous forme de tablettes de couleur vert-brun de dimension : 4 x 4 x 1,4 cm.

Ces appâts sont stockés au congélateur (- 20 - 30° C) jusqu'au matin de leur distribution. Au cours de la journée, ils doivent être maintenus dans des glacières portatives, contenant des sachets eutectiques.

Dans le Doubs, le vaccin retenu a été celui utilisé en Suisse à partir de la souche "SAD/Berne" (Steck et al., 1982). Le liquide vaccinal est contenu dans une capsule elliptique glissée sous la peau d'une tête de poule où est également injecté la Tétracycline.

IV. D I S T R I B U T I O N

a. Principe

Chaque zone de distribution est subdivisée en "carrés" de 1 x 1 km, en s'appuyant sur le maillage kilométrique "Lambert" de la carte de France. Chacune des intersections de ce maillage figure sur la carte au 1/25000^e de l'Institut Géographique National (IGN). Divers secteurs sont affectés à des équipes qui doivent déposer les appâts en un délai déterminé.

b. Personnel

L'encadrement du projet est assuré par le personnel scientifique du Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages. L'organisation des équipes a été prise en charge par des garde-chefs de l'Office National de la Chasse et les Fédérations Départementales des Chasseurs où ceux-ci étaient affectés.

Les équipes de distributeurs étaient composées d'agents de l'Office National de la Chasse, de l'Office National des Forêts et de volontaires. Ces derniers étaient principalement des "chasseurs" en Meurthe-et-Moselle et Moselle, associés à des "naturalistes" (membres de la Fédération de Protection de la Nature) dans le Doubs. En outre, en Moselle, l'opération a bénéficié de l'appui de militaires du contingent, encadrés d'officiers et sous-officiers.

En 1986, pour une zone de 720 km² en Moselle 33 personnes ont assuré la distribution (21,8 km²/pers.), en quatre jours. Dans la pratique, l'effort demandé s'étant avéré excessif, les effectifs ont été renforcé en 1987 : 58 personnes pour 900 km² (15,5 km²/pers.) en Moselle et 25 pour 320 (12,8 km²/pers.) en Meurthe-et-Moselle, pour 3 journées de distribution.

Dans le Doubs des effectifs plus nombreux ont pu être mobilisés : 76 personnes ont traité 125 km² (1,6 km²/pers.) en un seul jour.

c. Matériel

Le matériel commun de surveillance se limite à un montage des diverses cartes du secteur, permettant le pointage quotidien de l'avance du travail. Il est ainsi possible d'ajuster l'effort, à la progression de la couverture de la zone. Les équipes rapides, ayant achevé les premières la dépose dans leur propre secteur, sont invitées à porter assistance aux équipes qui ont pris du retard.

Le matériel de chaque équipe se compose d'un sac (repéré par la lettre symbolisant le secteur correspondant) contenant :

- les photocopies quadrillées de la carte de la zone à traiter,
- des crayons feutres pour indiquer l'emplacement des appâts,
- des affiches d'informations pour le public, et des punaises,
- des gants (à usage unique ou de ménage)

En outre, l'équipe dispose d'une glacière pour conserver les appâts et, dans le cas où ceux-ci sont constitués de têtes de poule, de seaux.

d. Méthode

La campagne de distribution est précédée de réunions préparatoires. Celles-ci concernent tout d'abord les autorités administratives et locales ayant un rapport avec l'opération (Conseils généraux, Commissaires de la République, Services de l'Agriculture, Services Vétérinaires et de Santé, Gendarmerie etc...).

D'autres réunions sont organisées avec le personnel de distribution pour son information générale (hygiène et sécurité) et l'explication de la marche à suivre.

L'information du public est assurée par des circulaires aux maires des communes visées et des annonces ou articles dans la presse locale ou cynégétique.

La distribution proprement dite s'appuie sur le découpage de la zone en secteurs.

En Lorraine, les secteurs faisaient en moyenne : 33,33 km² en Moselle et 26,6 km² en Meurthe-et-Moselle. Ceux-ci ne mesuraient que 7 km² dans le Doubs. Les équipes étaient constituées de deux personnes en Lorraine et trois dans le Doubs.

Les règles de pose des appâts peuvent être résumées de la façon suivante : emploi de 15 appâts par carré de 1 x 1 km en localisant (grossièrement) chaque emplacement sur la photocopie de carte dans les endroits propices au passage des renards. Le centre des forêts et les zones habitées sont systématiquement évités.

V. METHODES DE CONTROLE

Le contrôle porte sur l'enlèvement des appâts et la surveillance des renards provenant de la zone (Brochier et al., 1987 ; Wolff et al., 1987). Parallèlement des investigations sont en cours sur les espèces non cibles, les Rongeurs en particulier (Kalpers et al., 1987).

a. Disparition des appâts

Chaque équipe devait choisir et baliser un emplacement d'appât par carré de 1 x 1 km. Le balisage était réalisé à l'aide d'un ruban de signalisation routière blanc et rouge. Chaque site de contrôle était signalé sur la photocopie de la carte utilisée par chaque équipe et remise au CNER PAS à la fin de l'opération.

En 1986 et 1987, des agents du Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages, de l'Office National de la Chasse, de l'Entente Interdépartementale de Lutte contre la Rage, des Services

Vétérinaires Départementaux ou encore des volontaires, sont retournés sur le terrain pour examiner l'emplacement de dépôt des "appâts témoins" signalés par des bandes de signalisation. Les contrôles ont été réalisés une, puis deux semaines après la fin de la distribution (dans quelques cas, après 4, 8 et 15 jours). Chaque emplacement était vérifié avec soin dans le souci de repérer l'appât ou la capsule que celui ci devait contenir.

b. Examen des renards

L'objectif fixé au contrôle était d'obtenir 1 renard/10 km² de zone traitée afin de réaliser le diagnostic de rage (et le typage de la souche), de rechercher le colorant dans le périoste, de titrer les anticorps sériques, enfin d'en déterminer le sexe et l'âge.

Le diagnostic de rage et le titrage des anticorps sont effectués au CNER PAS, la mise en évidence de la Tétracycline est faite à l'Institut Pasteur du Brabant pour ce qui concerne la Lorraine et à Berne pour ce qui concerne le Doubs.

c. Surveillance des Rongeurs

Celle-ci s'effectue au laboratoire et sur le terrain. C'est ainsi que des lignes de pièges standard ont été posées après la vaccination en 1986. Les rongeurs capturés ont été examinés pour le diagnostic de rage. Divers spécimens vivant ont également reçu le vaccin administré par voie buccale puis ont été gardés en observation.

VI. R E S U L T A T S

Ceux-ci portent sur le nombre d'appâts distribués, la prise de ces derniers, la fréquence des renards ayant consommé un appât, la sensibilité des rongeurs, enfin le coût des opérations. Les modifications de la situation épidémiologique ne peuvent être évoquées sérieusement à l'heure où cette communication est rédigée.

a. Nombre d'appâts

En 1986 : 9200 appâts ont été déposés en Moselle, soit une moyenne de 13 par km². En Mai et Septembre 1987, le nombre d'appâts employés en Lorraine a été de 16.800 et 3.200 dans le Doubs.

b. Prise des appâts

Ceux-ci sont rassemblés dans le tableau I.

Il est impossible de savoir exactement dans quelles circonstances un appât a disparu de l'endroit où il avait été déposé. La seule certitude concerne l'échec certain de l'entreprise. Celle-ci est attestée par la proportion d'appâts retrouvés intacts ou de capsules retrouvées pleines et débarrassées de l'enrobage attractif. Le taux d'échec passe de 39 à 34 p. cent de une semaine à quinze jours après la distribution. Une majorité d'appâts doit donc, en principe avoir été prise par des animaux.

c. Fréquence des renards immunisés

A l'heure où ce rapport est rédigé 31 renards, seulement, ont pu être examinés en provenance des zones de vaccination de Lorraine et du Doubs et, il n'y a pas plus de vingt spécimens pour lesquels tous les résultats sont disponibles (Tétracycline et Anticorps). 9 renards (sur 31) étaient enrégés ; mais comme il est probable que la plupart des renards suspects de rage sont envoyés au laboratoire pour analyse, cet échantillon ne peut être comparé de façon valable aux renards tués à la chasse ou dans le cadre du contrôle des populations. Deux de ces renards portaient des traces de Tétracycline et avaient donc consommé un appât (la consommation du vaccin est intervenue en période d'incubation ou bien l'appât a été consommé mais le vaccin n'a pas été absorbé).

Tableau I : Bilan de l'enlèvement des appâts 4, 8 et 15 jours après la pose

Dept.	Mois	Année	Nb. sites recherchés	Nb. sites contrôlés	Appâts emp. ou non retr.	Appâts retr. intacts ou rongés	Capsules retrouvées intactes	Capsules retrouvées vide ou perc.

Résultats à J + 4								
Doubs	Mai	1987	-	150	-	64	-	-
M. et Mos.	Mai	1987	55	55	31	18	0	6

Résultats à J + 8								
Moselle	Octobre	1986	62	47	20	14	3	10
Doubs	Mai	1987	-	115	-	62	-	-
M. et Mos.	Mai	1987	55	55	37	7	2	9
Moselle	Mai	1987	26	24	10	7	2	5

Doubs	Sep.	1987	21	21	4	13	0	4
M. et Mos.	Sep.	1987	44	38	15	19	3	1
Moselle	Sep.	1987	44	36	11	15	1	9

Résultats à J + 15								
Moselle	Octobre	1986	67	59	23	21	8	7
Doubs	Mai	1987	17	17	14	2	-	1
M. et Mos.	Mai	1987	55	55	39	5	2	9
Moselle			149	133	58	48	5	22
Doubs	Sep.	1987	21	21	6	10	0	5
M. et Mos.	Sep.	1987	41	35	18	6	3	8
Moselle*	Sep.	1987	15	15	3	4	3	5
Moselle**	Sep.	1987	43	37	19	6	5	7

* même secteur que J 8

* autres secteurs

Parmi les 15 renards non enrégés, six portaient la Tétracycline et des anticorps à un titre décelable. Trois renards avaient consommé un appât mais n'avaient pas d'anticorps, quatre autres n'avaient pas consommé d'appât, enfin deux renards possédaient des anticorps mais aucune trace de Tétracycline n'a pu être révélée dans le périoste (il s'agit dans ce cas d'animaux immunisés spontanément ou plutôt d'animaux vaccinés mais dont la Tétracycline n'a pu être mise en évidence en raison d'une quantité consommée insuffisante).

d. Tests sur rongeurs

Aucun des rongeurs (40 Apodemus sp., 5 Microtus arvalis et 1 Chlethrionomys glareolus) capturés sur la zone de vaccination orale de Moselle à l'automne 1987 n'étaient porteur d'un virus rabique (Artois et al., 1987).

Trois mulots (Apodemus sp.) et quatre campagnols terrestres (Arvicola terrestris) ont reçu 0,3 ml de vaccin. Un lot de 4 animaux a reçu le vaccin SAD/Berne et les autres le vaccin SAD B19. Un des campagnols terrestres inoculés avec la souche SAD/Berne est mort 16 jours après. Cette souche a été réisolée de son encéphale mais non des glandes salivaires. 35 jours après l'inoculation, le virus-vaccinal n'a pu être réisolé des autres rongeurs qui n'ont, auparavant, manifesté aucun symptôme (l'espèce A. terrestris est un Rongeur souterrain qui se nourrit exclusivement de racines et, en principe, ne doit pas consommer l'appât).

e. Financement

Le coût prévisionnel annuel (2 campagnes), au km² a été estimé de la façon suivante (en Francs français) :

appâts 30 x 1,8 D.M. (environ 6 F.F.)	180
personnel et véhicules	54
petit matériel	10
contrôles et diagnostic	55

	299

soit environ 300 F/km². Le bilan financier global fait état, en réalité d'une somme supérieure qui est d'environ 370 F/km².

VII. C O N C L U S I O N

Dans l'état actuel de l'essai de vaccination orale en France, il n'est pas encore possible de porter un jugement sur son impact épidémiologique. Les travaux réalisés montrent néanmoins que cette technique est applicable en France. Des améliorations sensibles peuvent être apportées pour augmenter son efficacité et en simplifier le déroulement. Un plus grand nombre d'analyses doit cependant être effectué pour permettre de juger de l'impact des mesures prises sur les renards. Enfin, la troisième campagne qui reste à accomplir dans certains secteurs des zones de vaccination devra conforter un bilan qui semble, en première analyse, satisfaisant.

B I B L I O G R A P H I E

- Artois M., Chillaud T., Maillot E., Rigal P., Blancou J. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en France. Ann. Méd. Vét. 131, 457-462.
- Baer G.M., Abelseth M.K. and Debbie J.G. 1971. Oral vaccination of foxes against rabies. Am.J. Epidem. 93 : 487-490.

- Blancou J., Schneider L.G., Wandeler A.L., Pastoret P.P. 1985. Vaccination du renard roux (Vulpes vulpes L.) contre la rage par voie orale. Bilan d'essais en station expérimentale. Rev. Ecol. Terre et Vie, vol. 40
- Blancou J., Kiény M.P., Lathe R., Lecocq J.P., Pastoret P.P., Soulebot J.P., and Desmettre P. 1986. Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. Nature, 322, 373-375.
- Brochier B., Iokem A., Ginter A., Lejeune E., Costy F., Marchal A., Preharpre D., Couvreur J.M., Dufey J., Kalpers J., Leonard M., Bauduin B., Desmecht M., Schneider L.G., Pastoret P.P. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en Belgique. Contrôles d'efficacité et d'innocuité chez le renard roux (Vulpes vulpes L.). Ann. Méd. Vét. 131, 463-472.
- Kalpers J., Brochier B., Lejeune E., Quiroga Fernandez S., Kabemba M., Bauduin B., Leonard M., Pastoret P.P. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en Belgique. Contrôles d'innocuité chez les rongeurs et les insectivores. Ann. Méd. Vét. 131, 473-478.
- Organisation Mondiale de la Santé, 1985. Meeting on coordination of rabies control in Europe. Strasbourg 3-4 January 1985.
- Pastoret P.P., Frisch R., Blancou J., Wolff F., Brochier B., Schneider L.G. 1987. Campagne internationale de vaccination antirabique du renard par voie orale menée au grand-duché de Luxembourg, en Belgique et en France. Ann. Méd. Vét., 131, 441-447.
- Pepin M., Blancou J., Aubert M.F.A., Barrat J., Coulon P., and Flamand A. 1985. Oral immunization against rabies with an avirulent mutant of the CVS strain: evaluation of its efficacy in fox (Vulpes vulpes) and its infectivity in seven other species. Ann. Inst. Pasteur/Virol., 136 E, 65-73.
- Schneider L.G., 1985. Oral immunization of wildlife against rabies. Ann. Virol./Inst. Pasteur, 136 E.
- Steck F., Wandeler A., Bichsei P. Capt S., Haeliger U. and Schneider L. 1982. Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5, 165-171.
- Wachendörfer G., 1976. Gegenwärtiger Stand der Vakzination von Füchsen gegen Tollwut. Prakt. Tierarzt. 57, 801-808.
- Wolff F., Krier A., Brochier B., Schneider L.G. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée au grand-duché de Luxembourg. Contrôles d'efficacité chez le renard roux (Vulpes vulpes L.) Ann. Méd. Vét. 131, 449-456.

R E M E R C I E M E N T S

Les auteurs tiennent à remercier les personnes ayant assuré la distribution des appâts sur le terrain : Gardes de l'Office National de la Chasse, Agents de l'Office National des Forêts, volontaires et militaires. Cette opération n'aurait pu réussir sans l'appui des organismes officiels concernés et l'aide directe des Fédérations des Chasseurs de Moselle, du Doubs et de Meurthe-et-Moselle.

LA RAGE EN YUGOSLAVIE

M. Radovanovic

Federal committee for Agriculture
Belgrade. Yougoslavie

En comparaison avec les années précédentes, la situation épidémiologique a été un peu plus favorable en 1986. Cela est vrai aussi bien quant à l'étendue territoriale de la rage que quant au nombre de cas individuels constatés.

En 1986 des cas de rage ont été constatés sur le territoire de la Yougoslavie dans 134 communes, ce qui représente 28% du nombre total (514 communes), ou 17 communes de moins qu'en 1985. La part relative de communes touchées par la rage est la plus grande en RPS de Voïvodine et en RS de Croatie, puis en RS de Slovénie. Les données montrent que dans ces régions septentrionales de la Yougoslavie, il est question exclusivement de la rage sylvatique, constatée surtout chez le renard.

Le plus grand nombre de cas a été diagnostiqué en Croatie (267), puis en Slovénie (117) et en Voïvodine (84). La fréquence est moindre en Bosnie-Herzégovine (29) et en Serbie (2). Parmi les 499 animaux atteints de rage, seulement 30 sont des animaux domestiques, dont 11 chiens, 11 chats, 2 bovins, 2 chèvres, 2 porcs et 1 cheval. Parmi les animaux sauvages atteints de rage, les renards sont de loin les plus nombreux (460 cas ou 98%) alors que les 2% restants englobent des blaireaux, des sangliers, des chevreuils et des chats sauvages.

Les données des 9 premiers mois de 1987 montrent que la situation épidémiologique se maintient objectivement au niveau de l'année 1986, aussi bien quant à l'étendue du territoire touché par la rage, que quant au nombre relatif d'animaux domestiques et sauvages atteints du virus rabique.

Ce qui est dans une certaine mesure inquiétant, c'est le nombre relativement important de cas de contagion de chiens et de chats, d'autant plus que la vaccination des chiens est obligatoire et que dans les milieux urbains les chats sont aussi vaccinés dans une forte proportion. Malgré le programme annuel de vaccination des chiens, où environ 1.200.000 chiens sont vaccinés, il en reste un certain nombre de non-vaccinés, et il est facile de faire le rapport avec le danger de contagion par la rage pour les hommes que cela représente, bien que les sept dernières années il n'y ait pas eu de cas de rage chez l'homme.

Des examens complets du virus rabique en Yougoslavie ont montré que ces dernières années sur le territoire yougoslave il s'agit surtout de rage de type sylvatique, à savoir la rage européenne du renard. Néanmoins, un peu avant on a déjà montré la présence sur le territoire yougoslave de la rage classique urbaine. Cela d'autant plus que même sur le territoire de la Voïvodine, région typique de rage sylvatique, les souches de rage urbaine classique ont été détectées sur de nombreux isolats.

Nous avons prévu pour la période à venir d'effectuer à titre expérimental des vaccinations orales de renards, sur des parties limitées du territoire de la RS de Slovénie et de la RS de Croatie.

Par ailleurs, sur tout le territoire de la Yougoslavie sont systématiquement appliquées les mesures classiques d'éradication de la rage : la place centrale est donnée à la réduction systématique du nombre excédentaire de renards, vaccination régulière annuelle des chiens, vaccination des chats en milieu urbain, élimination des chiens et chats errants, vaccination des autres types d'animaux (bovins et ovins) si ils sont dirigés vers

des pâturages dans des régions contaminées par la rage

Tableau Cas de rage en Yougoslavie
dans la période d'après-guerre

ANNEE	NOMBRE DE CAS
1946	1422
1947	1610
1948	1210
1949	1055
1950	802
1951	601
1952	705
1953	792
1954	796
1955	430
1956	279
1957	81
1958	139
1959	144
1960	73
1961	89
1962	154
1963	203
1964	54
1965	19
1966	19
1967	4
1968	2
1969	5
1970	12
1971	61
1972	110
1973	115
1974	243
1975	106
1976	57
1977	152
1978	311
1979	421
1980	933
1981	2118
1982	1276
1983	1149
1984	1603
1985	833
1986	499
1987 (do 30. IX)	372

COMPTE-RENDU DE LA REUNION DES RESPONSABLES SANITAIRES
DES DIFFERENTS PAYS PRESENTS AU SYMPOSIUM DE BRUXELLES.

L. Hallet

Ministère de l'Agriculture, Administration de
l'élevage et du service vétérinaire - Inspection vétérinaire.
Manhattan office Tower, 6ème étage, 21 Avenue du Boulevard,
B-1210 Bruxelles

Après avoir entendu les diverses communications relatives à la vaccination des renards par voie orale qui se succédèrent toute la journée du mardi 17/11/87, les responsables sanitaires des différents pays participants se sont réunis.

Etaient présents : le Docteur P. BOITEUX, de France;
le Docteur K. BOGEL, de l'O.M.S.;
le Docteur R. FRISCH, grand-duché de
Luxembourg;
le Docteur CH. RIGGENBACH, de Suisse;
le Docteur L. SCHNEIDER, de R.F.A.;
le Docteur T. GAEDE, du Danemark;
le Docteur J. BLANCOU, de France;
le Docteur L. HALLET, de Belgique.

Le Professeur P.P. PASTORET préside la réunion et sollicite l'avis de chaque participant concernant leurs intentions pour l'avenir, au sujet de la mise en place dans leur pays d'un programme de vaccination des renards par voie orale.

La France est très intéressée par la méthode; elle poursuivra des vaccinations frontalières en accord avec les pays concernés (Belgique - grand-duché de Luxembourg - Suisse). Pour l'étendre à d'autres régions, la France est confrontée à des problèmes de coût : prix des vaccins et frais pour la mise en place des appâts.

Le grand-duché de Luxembourg est très satisfait de trois campagnes de vaccination; aucun cas de rage n'a été constaté au cours des quatre derniers mois. Une campagne de vaccination sera encore organisée en 1988 et si les résultats obtenus sont confirmés, la vaccination sera arrêtée.

Le Dr. FRISCH signale qu'il constate une certaine lassitude parmi les poseurs d'appâts qui sont tous bénévoles.

Le Danemark a connu deux épizooties de rage vulpine (1970-1980) et a obtenu l'éradication par la réduction des populations de renards. Actuellement le Danemark n'est pas contaminé par le virus vulpin et considère de ce fait que la vaccination des renards n'est pas utile. Par contre, en ce moment, le Danemark connaît la rage des chauve-souris.

La Suisse a été le premier pays à utiliser la vaccination par voie orale des renards. Actuellement la situation est bonne si ce n'est le long de la frontière française où subsistent quelques cas. Le coût des vaccinations est élevé mais la Suisse considère que le problème concerne autant la Santé Publique que les Services vétérinaires et que les frais des campagnes

doivent être pris en charge par le budget de ces deux départements.

La méthode de lutte par la vaccination sera officialisée par un décret lequel rendra la vaccination des renards par voie orale obligatoire dès qu'un cas de rage vulpine sera déposé dans un canton.

R.F.A.: le Dr. SCHNEIDER des laboratoires de Tübingen signale qu'il coordonne les campagnes de vaccination dans les différents Länder de son pays. Chaque Länder prend en charge les coûts de la vaccination. Les résultats sont bons dans toutes les régions qui ont vacciné. La vaccination sera étendue à toutes les régions contaminées. La R.F.A. sera confrontée avec le problème des régions frontalières des pays de l'Est où la vaccination n'est pas pratiquée.

Le Dr. SCHNEIDER signale que des essais de dépôt des vaccins par avion ont été tentés. Cette méthode pourrait à l'avenir se révéler intéressante.

Les Pays Bas sont peu concernés par le problème de la rage vulpine. Toutefois, le pays ne s'opposerait pas à la vaccination si celle-ci était nécessaire notamment aux frontières belges et allemandes.

La Belgique a procédé également à trois campagnes de vaccination en collaboration avec le grand-duché de Luxembourg, la France et la R.F.A. Les résultats épidémiologiques se révèlent très encourageants. Les services vétérinaires vont étudier la possibilité d'étendre les zones de vaccination à l'entière des régions contaminées (Sud de la Meuse) afin de tenter d'éradiquer la rage.

Le Dr. BOEGEL représentant de l'O.M.S. se réjouit des résultats obtenus par les campagnes de vaccination des renards par voie orale. En Suisse, en Italie, en R.F.A., au grand-duché de Luxembourg, en Belgique, en Autriche et en France. Il souhaite qu'en 1988 et 1989 la vaccination soit également pratiquée par les pays de l'Est et notamment la R.D.A. et la Tchécoslovaquie.

Le Dr. BOEGEL demande également que la C.E.E. coordonne les programmes de vaccination afin d'obtenir au plus tôt l'éradication de la rage vulpine dans toute la communauté.

Le Dr. BLANCOU du Centre de Recherche de la rage à Nancy informe les participants qu'une réunion des chefs des différents services vétérinaires sera organisée du 8 au 10 juin 88 à Annecy en France afin d'étudier les différents problèmes que posent la vaccination des renards et d'envisager les décisions à prendre.

Un échange de vue entre les participants a abordé le problème des coûts de la vaccination des renards par voie orale. La plupart des pays qui pratiquent la vaccination estiment que les coûts de la vaccination des renards sont de loin inférieurs aux coûts de la rage en général à savoir l'indemnisation et la perte des animaux abattus par ordre, les frais de vaccination des humains contaminés, les frais de transport des cadavres suspects vers le Laboratoire, les primes à la destruction des renards, les frais de laboratoire, etc...

D'autre part, la méthode permettrait d'atteindre l'éradication de la rage après trois ou quatre campagnes de vaccination.

Studies on pathogenicity in mice of rabies virus strains
used for oral vaccination of foxes in Europe.

Hélène Leblois & Anne Flamand

Laboratoire de Génétique des Virus, CNRS, 91198 GIF/YVETTE Cédex, FRANCE.

Pathogenicity of two strains used for oral vaccination of foxes (i.e. SAD_{B19} and ERA swiss) has been compared to that of the parental ERA strain. Series of dilutions of the three viruses have been injected intracerebrally (IC) or intramuscularly (IM) or administered orally to adult mice whose mortality has been subsequently recorded for 3 weeks (figure 1).

By the IC route the pathogenic power of the 3 strains is comparable. By the IM route, ERA swiss is as pathogenic as the parental strain while SAD_{B19} is attenuated. With oral administration, the residual pathogenicity of the 3 strains is comparable and far from negligible although this route of contamination probably represents a major risk for rodents (Table 1).

With the prospect of a massive oral vaccination of foxes throughout Europe, we suggest that the safety of the strains used as live vaccine should be improved. This objective could be fulfilled by the introduction of a mutation at arginine 333 of the viral glycoprotein. This mutation can be selected from both strains by selecting mutants resisting neutralization by appropriate monoclonal antibodies (Coulon *et al.*, 1982 and 1983 ; Dietzschold *et al.*, 1983 ; Seif *et al.*, 1985). The substitution of arginine 333 renders the virus avirulent for mice (figure 2), dogs (Ben Mansour, personal communication), foxes and several species of rodents isolated in the field (Pepin *et al.*, 1985). The immunogenic and protective power of a CVS avirulent derivative is similar to that of the parental strain for mice (Pepin *et al.*, 1985). An avirulent derivative of SAD_{B19} has also been isolated in Tübingen using the same approach. When given orally to foxes the virus induced excellent seroconversion and protected all animals against a subsequent infection with a field rabies virus (Schneider *et al.*, 1983). Unfortunately this strain has not been used in field trials.

Comparative studies of the inocuity for target and non target species as well as the immunogenic and protective power of SAD_{B19}, ERA swiss and their avirulent derivatives are lacking at the moment. Such studies should be undertaken as soon as possible; they should also include the vaccinia-rabies recombinant vaccine. **Impartial comparison of advantages and inconvenients of strains available for oral vaccination of foxes would greatly facilitates the choice of european countries.**

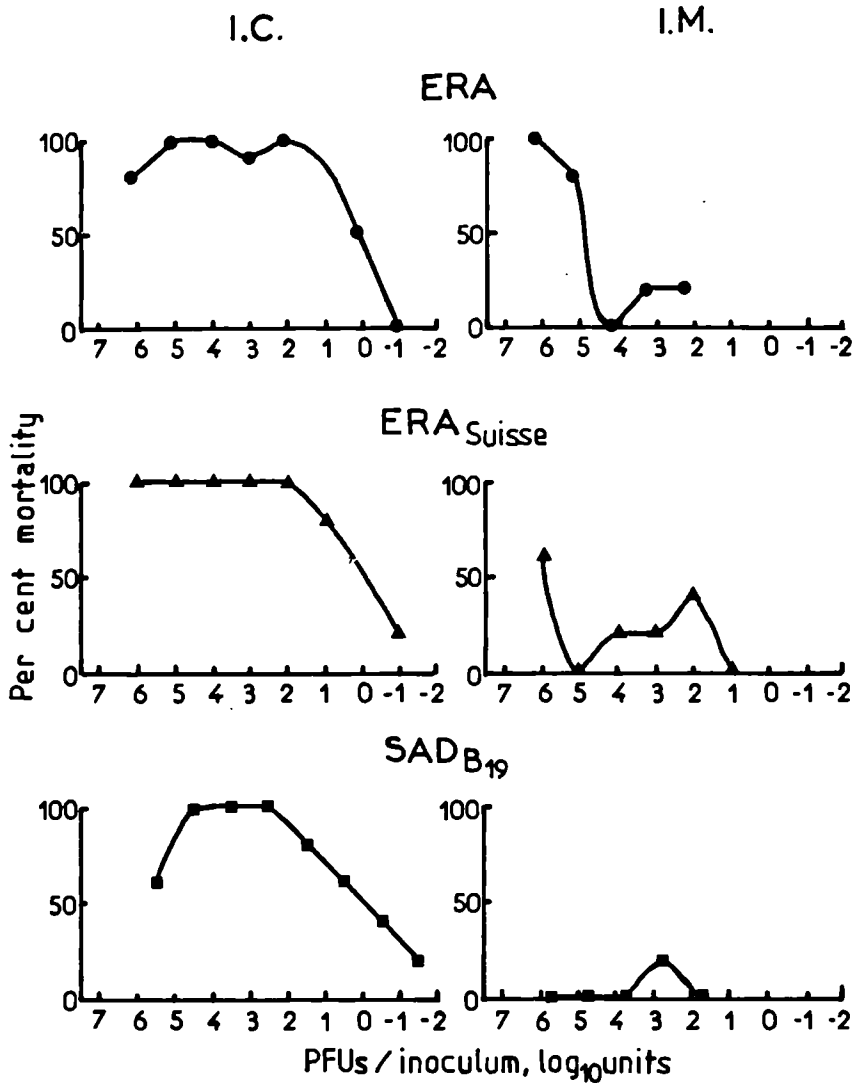


Figure 1: Mortality of adult mice infected by the intracerebral (IC) or intramuscular (IM) route with ERA, ERA swiss or SAD_{B19}. ERA swiss and SAD_{B19} have been isolated from baits; after one cycle of multiplication in BSR cells, the virus has been titrated in CER cells. Each point corresponds to five inoculated mice. Animals received 30µl intracerebrally or 50µl in the masseter muscle of various dilutions of the virus.

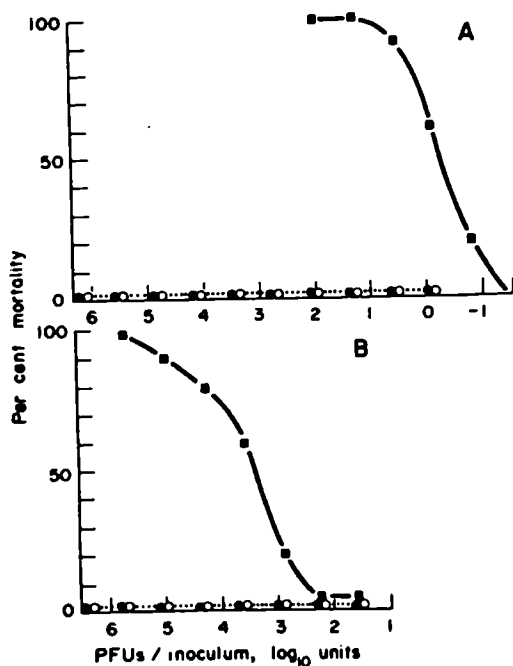


Figure 2 : Survival of adult mice infected by the intracerebral(A) or intramuscular(B) route with CVS(■) or avirulent mutants(○)(●). Avirulent mutants have the substitution arginine→glutamine in position 333 of the viral glycoprotein. Animals received 30μl intracerebrally or 50μl in the masseter muscle of various dilutions of the virus (reproduced from Coulon *et al.*,1983).

Virus	dose per animal	mortality.
ERA	2.5×10^6	2/4
	2.5×10^5	1/4
ERA swiss	10^6	1/4
	10^5	0/4
SAD _{B19}	7.5×10^5	2/4
	7.5×10^4	0/4

Table 1 : Mortality of mice after oral administration of ERA, ERA swiss or SAD_{B19}. Each animal received 50 μl of viral suspension.

References

- Coulon, P., Rollin, P.E. and Flamand, A. Molecular basis of rabies virus virulence. II. Identification of a site on the CVS glycoprotein associated with virulence. *J. Gen. Virol.* 1983, **64**, 693.
- Coulon, P., Rollin, P., Blancou, J. and Flamand, A. Avirulent mutants of the CVS strain of rabies virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1982, **5**, 117.
- Dietzschold, B., Wunner, W.H., Wiktor, T.J., Lopes, A.D., Lafon, M., Smith, C.L. and Koprowski, H. Characterization of an antigenic determinant of the glycoprotein that correlates with pathogenicity of rabies virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983, **80**, 70.
- Pepin, M., Blancou, J., Aubert, M.F.A., Barat, J., Coulon, P. and Flamand, A. Oral immunization against rabies with an avirulent mutant of the CVS strain: evaluation of its efficacy in fox (*Vulpes vulpes*) and its infectivity in seven other species. *Ann. Inst. Pasteur/Virologie*, 1985, **136E**, 65.
- Seif, I., Coulon, P., Rollin, P.E. and Flamand, A. Rabies virulence: effect on pathogenicity and sequence characterization of rabies virus mutations affecting antigenic site III of the glycoprotein. *J. Virol.* 1985, **53**, 926.
- Schneider, L. G., Cox, J.H., Wandeler, A. I., Blancou, J. and Meyer, S. Application of monoclonal antibodies for epidemiological investigations and oral vaccination studies. III. Oral rabies vaccine. Meeting "Rabies in the Tropics", Tunis, 1983.

VIRUS DE LA VACCINE RECOMBINANTS : DES VACCINS DE NOUVELLE GENERATION

J.P. LECOQ, R. DRILLIEN, M.P. KIENY

TRANSGENE S.A.
11 rue de Molsheim
67085 STRASBOURG Cedex, France

RESUME

La construction de virus de la vaccine recombinants a ouvert la voie à la mise au point de vaccins vivants de nouvelle génération. La protection obtenue dans le cas de la rage est spectaculaire et permet d'envisager l'éradication de la maladie. Des résultats récents obtenus dans le cas de la rougeole mais surtout lors d'essais de vaccination antitumorale confirment l'énorme potentiel des virus de la vaccine recombinants.

De plus, le principe de recombinaison peut être étendu à d'autres poxvirus comme le Fowlpox, ce qui augmente considérablement l'intérêt de ce type de vaccin.

Depuis le 17 mai 1794, date de la première "vaccination" par Jenner, on peut véritablement dire que le virus de la vaccine fait une "carrière" exceptionnelle :

- son utilisation massive chez l'homme a permis l'éradication de la variole en 1979 ;
- sous forme de virus recombinants, il entre par la grande porte dans cette nouvelle génération de vaccins vivants où, là aussi, il fait figure de pionnier.

Après avoir rappelé les différentes propriétés du virus, nous décrivons ici des exemples récents démontrant l'énorme potentiel des recombinants dans le domaine des vaccins.

LE VIRUS DE LA VACCINE : PROPRIETES GENERALES

Le virus de la vaccine fait partie de la famille des poxviridae et appartient au genre Orthopoxvirus ; il est ainsi apparenté au virus de la variole humaine ainsi qu'au virus de la variole bovine et au virus de la variole du singe.

Bien qu'il soit pratiquement établi que les premières vaccinations aient été basées sur un virus d'origine bovine, le virus de la vaccine

qui est parvenu jusqu'à nous est toujours d'une origine mystérieuse. En effet, grâce aux techniques de la biologie moléculaire, il a été démontré récemment que le génome du virus de la vaccine se différencie nettement de ceux des virus de la variole bovine (cowpox) et de la variole humaine. Certains pensent que le virus de la vaccine serait directement dérivé du virus de la variole équine (horsepox) aujourd'hui disparu, mais dont on sait qu'il fut utilisé au XIX^{ème} siècle pour immuniser contre la variole.

Mais le virus de la vaccine ne pourrait être en fait qu'un hybride résultant de la recombinaison entre le virus de la variole humaine et d'autres poxvirus animaux ; cette hypothèse est peut être la plus vraisemblable. En effet, lorsqu'on lit les nombreux rapports des historiens de l'époque, on est frappé par le fait que les "vaccinateurs" n'hésitaient jamais, lorsque le vaccin ne "prenait" plus, à mélanger des virus d'origine différente, notamment humains ; de plus, lorsque les préparations de vaccins étaient épuisées ou non disponibles, ils retournaient directement à un animal malade (y compris le cheval) et y prélevaient du virus.

Ainsi, lorsqu'on évoque le danger potentiel de recombinaison entre le virus de la vaccine et d'autres virus animaux apparentés, il peut être utile de souligner que, durant deux siècles, l'homme, probablement sans le savoir, a facilité la recombinaison entre différents poxvirus sans qu'aucun virus nouveau présentant un caractère pathogène pour le règne animal ne soit jamais apparu. Tout cela peut expliquer ainsi pourquoi le virus de la vaccine n'a jamais pu être détecté dans la nature et pourquoi aucun réservoir animal n'a été identifié.

Le virus de la vaccine est un virus à ADN dont la répllication est exclusivement cytoplasmique. Cette propriété est très utile pour le généticien, puisqu'elle lui permet d'intégrer directement dans les recombinants l'ADNc de la protéine qu'il souhaite exprimer ; l'expérience est ainsi fortement facilitée du point de vue technique (pas besoin d'introns et de constructions complexes).

Le génome du virus est relativement long et compte environ 180 kilobases. Une partie de ce génome (\pm 20 kb) ne semble pas nécessaire à la viabilité du virus ce qui permet de substituer certains gènes viraux par plusieurs gènes étrangers (vaccins polyvalents).

Un grand nombre des 150 à 200 gènes que comporte le génome du virus de la vaccine est impliqué dans la réplication de l'ADN, la transcription ou dirigent la synthèse des constituants du virion. L'ADN viral purifié n'est pas infectieux et les généticiens doivent mettre en oeuvre plusieurs astuces techniques afin de réaliser la construction et la sélection des recombinants.

VIRUS DE LA VACCINE RECOMBINANTS

La construction d'un virus de la vaccine recombinant est basée sur une double recombinaison in vivo entre un plasmide portant un gène étranger fonctionnel et l'ADN du virus. Toutes les méthodes permettant l'isolement des recombinants ont été largement décrites par ailleurs (Panicali et al., 1982 ; Smith et al., 1983 ; Kieny et al., 1984) et nous y renvoyons le lecteur intéressé.

Nous nous limiterons ici à mentionner les principales propriétés des virus recombinants. Ces caractéristiques sont particulièrement attrayantes pour la conception de nouveaux vaccins :

- faculté du virus à se multiplier sur de très nombreux systèmes cellulaires
- stabilité génétique
- stabilité thermique
- multiplicité des espèces animales réceptives
- simplicité d'administration
- prix de revient peu élevé
- possibilité de construire des vaccins polyvalents : plusieurs gènes (en théorie ± 20) peuvent être intégrés fonctionnellement dans le génome du virus.
- rappels de vaccinations tout à fait possibles
- élaboration de différents types de vaccins
 - . vivants (administration par voie orale notamment !)
 - . tués
 - . sous-unités (le virus de la vaccine est un très bon vecteur d'expression)

Il est important de rappeler ici que le virus de la vaccine peut, dans de rares cas, provoquer des complications post-vaccinales chez certains sujets porteurs d'eczéma ou immunodéprimés. L'incidence de ces complications, dont la plus sérieuse est l'encéphalite post-vaccinale, est extrêmement faible (1-2 cas/million vaccinations). Cependant, on

peut s'interroger sur les conditions de préparation des vaccins aux cours des dernières décennies. Récoltés par raclage des lésions cutanées chez la génisse, les préparations vaccinales n'étaient pas à l'abri de contamination virale, bactérienne ou fongique potentiellement responsables de certaines complications. Il est donc permis d'espérer que la multiplication du virus sur culture cellulaire, techniques qui n'ont jusqu'ici été que rarement utilisées pour ce virus, devrait grandement améliorer l'innocuité des préparations vaccinales.

De plus, il est actuellement possible d'éliminer par délétions certains gènes associés à la pathogénicité résiduelle du virus et d'autre part de réduire la spécificité d'hôte de ce même virus.

Ainsi, bien que le virus de la vaccine lui-même soit actuellement considéré comme relativement inoffensif, des modifications moléculaires des recombinants pourraient dans un avenir proche garantir leur totale innocuité et permettre d'étendre ainsi l'utilisation du vaccin dans le règne animal et probablement à l'homme.

DES VACCINS DE NOUVELLE GENERATION

1) La vaccination anti-rabique : "une grande première"

Nous avons démontré dès 1984 qu'un virus de la vaccine recombinant exprimant la glycoprotéine rabique conférait aux animaux de laboratoire, suite à une simple scarification, une immunité antirabique remarquable (Kiery et al., 1984 ; Wiktor et al., 1984 ; Lecocq et al., 1985 ; Lathe et al., 1985).

Les expériences menées récemment par les équipes des Docteurs Pastoret à Liège, Blancou à Nancy et Koprowski à Philadelphie ont démontré clairement que ce même vaccin, délivré par voie orale, était totalement approprié à la vaccination des animaux sauvages tels que le renard et le raton-laveur (Blancou et al., 1986 ; Rupprecht et al., 1986).

Le détail de ces expériences, ainsi que l'élaboration d'un premier essai du vaccin recombinant sur le terrain seront décrits par ailleurs au cours de ce symposium (Brochier et al., Blancou et al., Pastoret et al., voir ce volume).

Les résultats obtenus dans la lutte contre la rage avec un virus de la vaccine recombinant sont tout à fait spectaculaires et nous ont encouragés à construire d'autres virus recombinants pour lutter contre des

maladies pour lesquelles les méthodes classiques de vaccination présentent encore des limitations ou sont totalement inefficaces.

2) Un nouvel avenir pour les vaccins contre les morbillivirus (rougeole, ...)

Malgré une utilisation massive du vaccin atténué contre la rougeole, cette maladie reste encore une cause importante de mortalité infantile en Afrique et plus généralement dans le Tiers-Monde. Le vaccin actuel, en effet, n'a pas les propriétés uniques qui ont fait le succès total du vaccin antivariolique : thermostabilité, facilités de production et d'administration et prix de revient peu élevé.

Nous avons donc entrepris la construction de virus de la vaccine recombinants exprimant les antigènes de surface du virus de la rougeole. En collaboration avec F. Wild, les ADNc codant pour les protéines HA et F ont été isolés, caractérisés et intégrés séparément dans le génome du virus de la vaccine.

Des animaux de laboratoire inoculés avec une dose unique de ces virus recombinants développent rapidement la synthèse d'anticorps séro-neutralisants. De plus, des souris vaccinées résistent totalement lorsqu'elles sont soumises à l'épreuve d'un virus de la rougeole virulent (souche SSPE adaptée à la souris) (Drillien et al., in press).

Il reste bien entendu à confirmer cette protection chez les primates mais il est permis de penser que ces excellents résultats obtenus sur animaux de laboratoire ouvrent la voie à la mise au point de nouveaux vaccins contre les morbillivirus (CDV, RVV et PPRV).

3) Vers une immunité anti-tumorale

Lorsque l'on parle de vaccins anti-tumeurs, on a toujours l'impression de rêver. Néanmoins, des résultats récents obtenus par R. Lathe en collaboration avec notre laboratoire (Lathe et al., 1987), indiquent clairement qu'une immunité anti-tumorale efficace peut être obtenue chez l'animal ; ces résultats, obtenus dans un modèle rat - virus du polyome, en utilisant comme vaccins des virus de la vaccine recombinants exprimant les antigènes T du virus du polyome, permettent d'espérer que des vaccins similaires contre des virus tumorigènes comme les papillomes, pourraient être mis au point assez rapidement.

La voie vers les vaccinations anti-tumorales en général nous semble désormais ouverte.

CONCLUSIONS

Au travers de ces quelques pages, nous espérons avoir convaincu définitivement le lecteur de l'énorme potentiel vaccinal des virus de la vaccine recombinants.

Il est cependant important de souligner que la réintroduction de virus de la vaccine sous forme de recombinants devra se faire progressivement et selon un schéma garantissant la plus grande innocuité pour l'homme et l'animal.

Les autorisations délivrées récemment par les autorités de santé belges pour un premier essai sur le terrain (Pastoret et al., ce volume) sont dans ce contexte extrêmement importantes et marquent, sans aucun doute, l'avènement de vaccins de nouvelle génération.

La première génération de vaccins recombinants sera sans aucun doute constituée de poxvirus variés. En effet, des résultats récents obtenus notamment dans notre laboratoire indiquent qu'il est possible de construire également des virus de la peste aviaire recombinants (fowlpox). De tels virus recombinants auraient un intérêt immédiat pour la vaccination de la volaille pour laquelle il faut rappeler le besoin absolu de vaccins polyvalents à dose unique.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient tous leurs collaborateurs qui ont participé aux projets décrits dans cette revue. Ils sont particulièrement reconnaissants à R. Lathe dont les idées et suggestions sont à la base de nombreuses expériences décisives.

REFERENCES

- Panicali, D. and Paoletti, E. 1982. Construction of poxviruses as cloning vectors : insertion of the thymidine kinase gene from HSV into the DNA of infectious vaccinia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 4927-4931.
- Smith, G., Mackett, M. and Moss, B. 1983. Infectious vaccinia virus recombinants that express HBV surface antigen. *Nature*, 302, 490.
- Kierny, M.P., Lathe, R., Drillien, R., Spehner, D., Skory, S., Schmitt, D., Wiktor, T., Koprowski, H. and Lecocq, J.P. 1984. Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. *Nature*, 312, 163-166.

- Wiktor, T., McFarlan, R., Reagan, K., Dietzschold, D., Curtis, P., Wunner, W., Kieny, M.P., Lathe, R., Lecocq, J.P., Mackett, M., Moss, B. and Koprowski, H. 1984. Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 7194-7198.
- Lecocq, J.P., Kieny, M.P., Lemoine, Y., Drillien, R., Wiktor, T., Koprowski, H. and Lathe, R. 1985. New rabies vaccines : recombinant DNA approaches. in "Words Debt to Pasteur" (H. Koprowski and S.A. Plotkin eds.) Alan R. Liss, Inc., N.Y., p. 259-271.
- Lathe, R., Kieny, M.P., Lecocq, J.P., Drillien, R., Wiktor, T., Koprowski, H. 1985. Immunisation against rabies using a vaccinia-rabies recombinant virus expressing the surface glycoprotein. in "Modern Approaches to Vaccines : Molecular and Chemical Basis of Resistance to Parasitic, Bacterial and Viral Diseases" (Lerner, Chanock and Brown, eds) Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, p. 157-162.
- Blancou, J., Kieny, M.P., Lathe, R., Lecocq, J.P., Pastoret, P.P., Soulebot, J.P. and Desmettre, P. 1986. Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. Nature, 322, 373-375.
- Rupprecht, C.E., Wiktor, T.J., Johnston, D.H., Hamin, A.N., Dietzschold, B., Wunner, W.H., Glickman, L.T., Koprowski, H. 1986. Oral immunization and protection of raccoons (*Procyon lotor*) with a vaccinia rabies glycoprotein recombinant virus vaccine. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 7947.
- Drillien, R., Spehner, D., Kirn, A., Giraudon, P., Buckland, R., Wild, F. and Lecocq, J.P. Protection of mice from fatal measles encephalitis by vaccination with vaccinia virus recombinants encoding either the hemagglutinin or fusion protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, in press.
- Lathe, R., Kieny, M.P., Gerlinger, P., Clertant, P., Guizani, I., Cuzin, F. and Chambon, P. 1987. Tumor prevention and rejection with recombinant vaccinia. Nature, 326, 878-880.

VACCINATION DES RENARDS CONTRE LA RAGE AVEC LE VIRUS
RECOMBINANT VACCINE-RAGE

J. Blancou*, P.P. Pastoret**, B. Brochier**, M.P. Kieny****,
Ph. Desmettre*** et M. Artois*

* Ministère de l' Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation, Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages, B.P.9, 54220 Malzéville, France.

** Chaire de Virologie-Immunologie et Pathologie des Maladies Virales, Faculté de Médecine Vétérinaire, ULg, B-1070 Bruxelles, Belgique.

*** Rhône-Mérieux, 254 rue Marcel Mérieux, 69342 Lyon, France.

**** TRANSGENE S.A., 11 Rue de Molsheim, 67085 Strasbourg Cedex, France.

RESUME

La vaccination par voie orale des animaux sauvages contre la rage n'a été réalisable, à ce jour, qu'en utilisant un vaccin "vivant" capable de se répliquer dans l'organisme pour compenser la faible quantité d'antigène rabique réellement ingérée. Ce vaccin est donc en général constitué par une souche de virus rabique atténué par passage in vivo, in ovo ou in vitro sur cellules hétérologues. Ce sont les virus dérivés de la souche SAD (ex. : FRA, Vnukovo, SAD/B19) qui se sont montrés les plus efficaces dans ce but.

Une autre approche développée depuis 1984, consiste à introduire un gène codant pour la glycoprotéine du virus rabique (ERA) dans celui du virus de la vaccine (souche "Copenhagen") en sorte que ce virus exprime cet antigène rabique immunogène lors de sa répllication.

Les résultats obtenus à ce jour sont extrêmement prometteurs chez plusieurs espèces animales dont le renard roux (Vulpes vulpes). C'est chez cette dernière espèce que les expérimentations ont été les plus développées tant en ce qui concerne l'innocuité, que l'efficacité de l'administration par différentes voies, et à différentes doses. Les essais réalisés sur plus de 150 sujets ont permis de conclure à l'innocuité de l'administration du recombinant par toutes les voies (y compris les voies oculaire et nasale), à l'absence de diffusibilité de la souche et à son efficacité pendant au moins 18 mois après une seule prise de 10^{7,2} U.F.P.

Ce sont les essais de ce vaccin sur le terrain qui permettront de vérifier si ce recombinant peut constituer une alternative intéressante au vaccin SAD actuel.

INTRODUCTION

La vaccination par voie orale, contre quelque maladie que ce soit, a toujours été très difficile du fait de la dégradation des fractions antigéniques du vaccin au cours de leur passage dans l'estomac ou l'intestin. La vaccination antirabique est une des rares exceptions à cette règle du fait que le virus vaccin semble se répliquer dans la région oro-pharyngée. Cette vaccination est particulièrement efficace chez le Renard, à condition que ce dernier ingère une quantité suffisante de virus rabique "vivant". L'ingestion de virus inactivé n'entraîne qu'une production minime (ou nulle) d'anticorps. Les virus rabique vivants, à la fois immunogènes par voie orale et sans danger pour le Renard sont nombreux, généralement dérivés de souches déjà utilisées pour vacciner les animaux domestiques par voie orale : Flury, SAD, ERA, Vnukovo. Quelques-uns ont été développés dans le but précis de vacciner les renards : "Ts", "Av01", "Tag" (in Pépin et al., 1985). Mais

tous ces vaccins peuvent être l'objet d'une même critique : ils utilisent un virus rabique encore vivant. Ce dernier est obtenu soit par passage en série sur espèces (ou cellules) hétérologues, soit par sélection de mutants naturels, ou de mutants obtenus en présence d'anticorps monoclonaux. Quel que soit le vaccin choisi, une réversion vers la souche parentale originale, ou une déviation du pouvoir pathogène du virus vaccin vers une espèce non cible ("rage de laboratoire") ne peuvent être formellement exclues.

C'est la raison pour laquelle plusieurs équipes de recherche se sont orientées vers les techniques de génie génétique en vue d'obtenir un vaccin où ne serait retenue que la "sous-unité" antigénique du virus, la glycoprotéine rabique. D'abord étudiée aux USA (Wiktor et al., 1984) puis reprise et développée en Europe (Kieny et al., 1984), c'est la technique d'incorporation du gène de la glycoprotéine dans le virus de la vaccine qui s'est révélée la plus efficace lors des essais sur animaux sous le nom général de "recombinant vaccine-rage".

ETUDE EXPERIMENTALE DU VACCIN RECOMBINANT CHEZ LE RENARD

Le vaccin recombinant a été utilisé chez le Renard lors d'études expérimentales menées dans deux stations européennes, Nancy et Bruxelles, dans les conditions suivantes (Blancou et al., 1986) :

1. Le vaccin recombinant vaccine-rage

Il a été obtenu, en 1984, des laboratoires Transcène à Strasbourg où il avait été construit selon le principe appliqué dès 1982 par Panicoli et Paoletti à l'insertion de divers gènes dans le virus de la vaccine (Brown et al., 1986). Des études similaires, ou antérieures, ont été également conduites dans les laboratoires du Wistar Institute à Philadelphie. Les exposés de J.P. Lecocq et M.P. Kieny donnent tous les détails de la construction du recombinant utilisé dans les essais européens. Plusieurs lots différents de vaccin recombinant ont été étudiés, utilisant tous la même glycoprotéine (extraite de la souche ERA) insérée dans la même souche du virus de la vaccine ("Copenhague") cultivée sur cellules "Vero" et titrée en unités formant places (UFP).

2. Les renards

Tous les renards roux (Vulpes vulpes) utilisés dans les essais étaient des animaux sauvages mâles ou femelles capturés au terrier en zone indemne de rage. Au moment des essais ils étaient âgés de 9 à 12 mois.

3. Evaluation de l'immunité conférée par le vaccin recombinant

L'immunité conférée par le vaccin recombinant a été évaluée par titrage des anticorps rabiques spécifiques selon la méthode de séroneutralisation sur souris (Kaplan et Koprowski, 1974) puis par épreuve directe des renards avec une souche sauvage de virus vulpin mortelle pour tout animal non vacciné à la dose utilisée (3000 DJ50 intracérébrale/souris).

Les résultats des essais réalisés depuis 1985 concernent l'innocuité de la vaccination, les conditions de l'immunisation et la cinétique de l'immunité conférée.

4. L'innocuité du vaccin recombinant chez le Renard

Aucun des renards utilisés dans les essais n'a présenté de troubles locaux ou généraux après l'administration du virus recombinant, que cette administration soit réalisée par voie sous-cutanée, oculaire, nasale ou orale. Seule l'inoculation intradermique provoque une lésion locale bénigne qui rétrocède spontanément en 72 heures.

5. Les conditions de l'immunisation du Renard par le recombinant

L'immunisation du Renard peut être obtenue après administration du recombinant par voie intradermique, sous-cutanée ou orale (tableau 1). La quantité de vaccin (mesurée en UFP) nécessaire pour immuniser les renards a été déterminée par voie orale (tableau 2) : elle doit être de 10 UFP au moins pour protéger 100% des animaux.

6. Cinétique de l'immunité conférée au Renard par le recombinant

Elle a été déterminée chez des renards vaccinés par voie orale et éprouvés à intervalle régulier 1, 6, 12 et 18 mois après la vaccination (tableau 3).

EMPLOI DU VACCIN RECOMBINANT SUR LE TERRAIN

Les résultats précédents indiquent que le vaccin recombinant présente des caractères d'innocuité et d'efficacité égaux, voire supérieurs à ceux du vaccin SAD actuellement utilisé en Europe chez le Renard.

En ce qui concerne les autres espèces animales non cibles des essais très complets ont été réalisés, et sont encore en cours, en Belgique, au Canada, en France et aux USA (voir exposé de B. Brochier). Ils ont confirmé que le recombinant était inoffensif pour ces espèces, et qu'il pouvait également protéger correctement certaines d'entre elles jusqu'ici impossibles à immuniser avec le vaccin SAD (ex. mouffette américaine). La décision d'utiliser le vaccin recombinant comme alternative aux vaccins SAD actuels dépendra des conclusions définitives de tous ces essais en station, et de celles d'essais limités qui pourraient être réalisés sur le terrain en zones protégées dans les conditions recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (Anonyme, 1985).

Voies d'administration (dose de virus)	Résultat de l'épreuve par 9000 DL50/IM/Renard (Nombre d'animaux survivants/évalués)
intradermique (10 ⁸ UFP)	2/2
sous-cutanée (10 ⁸ UFP)	2/2
(10 ⁴ UFP)	1/4
orale (10 ⁶ UFP)	2/4
directe (10 ⁸ UFP)	8/8
orale en appât (10 ⁸ UFP)	4/5
Néant (Témoins)	0/6

TABLEAU 1 : Etude de l'immunité conférée par le vaccin recombinant administré par différentes voies au Renard.

Quantité de virus administrée	Résultats de l'épreuve par 9000 DL50/IM/Renard (Nombre d'animaux survivants/évalués)
10 ⁶ UFP	8/10
10 ⁷ UFP	10/10
10 ⁸ UFP	10/10
Néant (témoins)	0/10

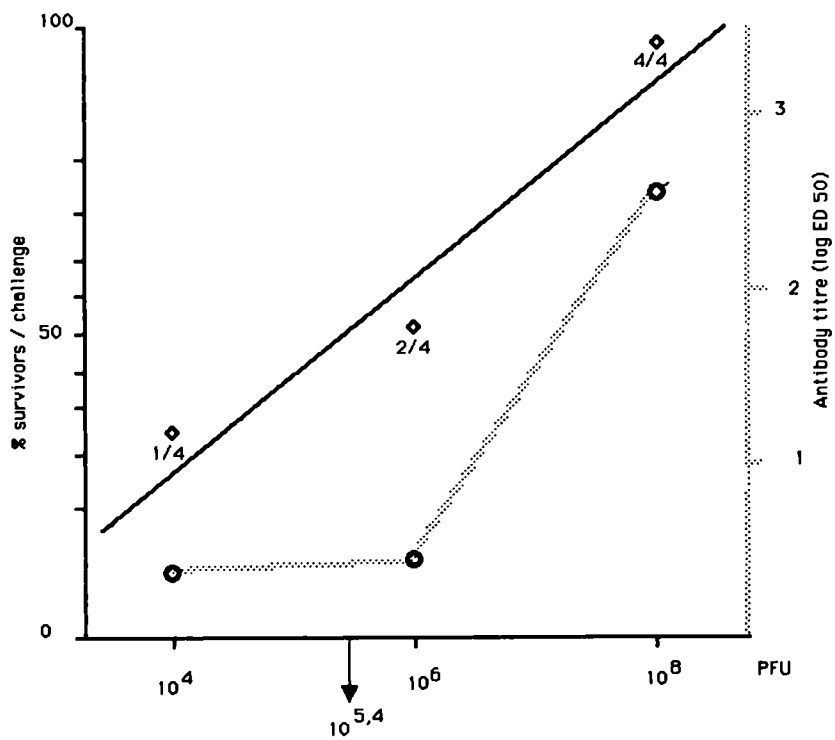
TABLEAU 2 : Etude de la relation entre la dose de vaccin recombinant administrée par voie orale et le taux de protection conféré au Renard.

Délai entre la vaccination et l'épreuve	Résultats de l'épreuve par 9000 DL50/IM/Renard (Nombre d'animaux survivants/évalués)
1 mois	4/4
6 mois	4/4
18 mois	4/4
Néant (témoins) contact avec les vaccinés	0/2
sans contact avec les vaccinés	0/2

TABLEAU 3 : Durée de l'immunité conférée au Renard par administration orale de 10^{7,2} UFP de vaccin recombinant.

FIGURE 1

Antibody titre and resistance to challenge
of foxes vaccinated with recombinant



REFERENCES

- Anonyme, 1985. Des formes recombinantes du virus de la vaccine utilisées comme vecteurs viraux vivants pour des antigènes vaccinaux. Memorandum d'une réunion OMS/USPHS/NIBSC. Bull. O.M.S., 63, 681-688.
- Blancou, J., Kieny, M.P., Lathe R., Lecocq, J.P., Pastoret, P.P., Soulebot, J.P. and Desmettre, P. 1986. Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. Nature, 322, 373-375.
- Brown, F., Schild, G.C. and Ada, G.L. 1986. Recombinant vaccinia viruses as vaccines. Nature, 319, 549--550.
- Kaplan, M.M. et Koprowski, H. 1974. La rage. Techniques de laboratoire, 3è ed. (Organisation Mondiale de la Santé, Genève). 379 p.
- Kieny, M.P., Lathe, R., Drillien, R., Spehner, D., Skory, S., Schmitt, D., Wiktor, T., Koprowski, H. and Lecocq, J.P. 1984. Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. Nature, 312, 163-166.
- Pépin, M., Blancou, J., Aubert, M.F.A., Barrat, J., Coulon, p. and Flamand, A. 1985. Oral immunization against rabies with an avirulent mutant of the CVS strain : evaluation of its efficacy in fox (*Vulpes vulpes*) and its infectivity in seven other species. Ann. Inst. Pasteur/Virol., 136E, 65-73.
- Wiktor, T.J., McFarlan, K.J., Reagan, K.J., Dietzschold, B., Curtis, P.J., Wunner, W.H., Kieny, M.P., Lathe, R., Lecocq, J.P., Mackett M., Moss B. and Koprowski, H. 1984. Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. Proc. Nat. Acad. Sci., 81, 7194-7198.

INNOCUITE DU VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE CHEZ
QUELQUES ESPECES NON-CIBLES

B. Brochier*, B. Languet**, J. Blancou***, I. Thomas*,
M.P. Kieny****, J.P. Lecocq****, P. Desmettre**, P.P. Pastoret*

* Fo.Re.Ra. Service de Virologie,
Faculté de Médecine vétérinaire, U.Lg.,
45 Rue des Vétérinaires, 1070 Bruxelles, Belgique

** Rhône-Mérieux, Laboratoire IFFA,
254 Rue Marcel Mérieux, 69007 Lyon, France

*** C.N.E.R.P.A.S. Ministère de l'Agriculture,
BP 9, 54220 Malzéville, France

**** Transgène S.A.,
11 Rue de Molsheim, 67000 Strasbourg, France

RESUME

L'innocuité du virus recombinant vaccine-rage a été testée en station expérimentale chez quatre espèces domestiques (bovin, mouton, chien, chat), cinq espèces sauvages (blaireau, sanglier, corneille noire, buse variable et faucon crécerelle) et deux espèces de laboratoire (furet et souris). Après inoculation, ces animaux n'ont montré aucune réaction locale et/ou générale quelles que soient la voie d'administration et la dose utilisées. De plus, ces essais ont démontré l'absence de transmission horizontale du virus recombinant vaccine-rage à des animaux neufs maintenus en contact étroit avec des sujets vaccinés.

INTRODUCTION

L'innocuité et l'activité protectrice du virus recombinant vaccine-rage (VVTG_gRAB) ont déjà été démontrées chez trois espèces sauvages cibles de la vaccination antirabique : le renard roux (Blancou et al., 1986; Brochier et al., 1987), le raton laveur (Wiktor et al., 1985; Rupprecht et al., 1986) et la mouffette rayée (Tolson et al., 1987).

L'innocuité de ce virus a également été prouvée chez le lapin et la souris (Wiktor et al., 1984 et 1985). Cependant, d'autres espèces animales, sauvages ou domestiques, sont susceptibles de consommer les appâts vaccinaux distribués dans la nature. Cette concurrence dans la prise d'appâts exercée par les espèces non-cibles a pu être montrée au cours de contrôles réalisés à la suite des campagnes de vaccination du renard utilisant une souche atténuée du virus rabique. Certains critères d'identification d'espèces (empreintes, excréments, traces de crocs dans la capsule vaccinale,...) ont permis de certifier que des chiens, des mustélidés et des micromammifères avaient ingéré du liquide vaccinal (Kalpers et al., 1987; Artois et

al., 1987). La recherche de tétracycline dans les os a également pu démontrer que des appâts avaient été consommés par des fouines (Martes fouina, L.) (Brochier et al., 1987).

La vaccination antirabique à l'aide du virus recombinant vaccine-rage écarte définitivement les dangers liés à l'utilisation d'une souche atténuée du virus rabique.

Néanmoins, les problèmes théoriques de sécurité posés par l'emploi d'un virus vivant (requis pour l'administration par voie orale) persistent avec le virus orthopox recombinant. Il convient donc de s'assurer de la totale innocuité de ce dernier en démontrant notamment son absence de pathogénicité résiduelle tant chez les espèces non-cibles que chez les espèces cibles.

La présente contribution rapporte les résultats des tests d'innocuité VVTG_gRAB réalisés chez 5 espèces sauvages européennes dont le comportement alimentaire est opportuniste et généraliste. Quatre espèces domestiques et deux espèces de laboratoire ont également été testées.

METHODES

ANIMAUX

Les espèces animales ainsi que le nombre d'individus, par espèce, inoculés à l'aide du VVTG_gRAB sont mentionnés dans les tableaux 1 et 2. Les sujets utilisés comme témoins non inoculés ne sont pas repris dans ces mêmes tableaux.

VIRUS ET PROTOCOLE DE VACCINATION

La souche 26D3 du virus recombinant vaccine (souche Copenhagen)-rage (glycoprotéine de la souche atténuée ERA du virus rabique) a été utilisée comme vaccin antirabique (Kieny et al., 1986). Les voies d'administration utilisées chez les différentes espèces sont données aux tableaux 1 et 2. Les titres des suspensions virales servant d'inoculum sont exprimées en DICT₅₀. Les administrations par voie orale ont été réalisées par dépôt direct de l'inoculum sur la muqueuse buccale. Les animaux ont été inoculés au Jour 0.

SURVEILLANCE

Après inoculation, les animaux ont été soumis à une période d'observation d'une durée minimale de 28 jours (tableaux 1 et 2). Durant celle-ci, l'état de santé (symptômes généraux et locaux) des animaux a été surveillé quotidiennement. Une attention particulière fut portée à toute apparition éventuelle de lésions de type "pox" au niveau des téguments ou/et de la muqueuse buccale.

TEST DE DIFFUSION

L'excrétion éventuelle du virus recombinant a été testée en maintenant des animaux neufs en contact étroit (témoins "contact") avec des individus vaccinés par voie orale. La recherche d'anticorps antirabiques et antivaccinaux a été effectuée chez ces animaux non vaccinés afin de pouvoir mettre en évidence une transmission horizontale directe ou indirecte du virus. Ce test de diffusion du virus a été pratiqué dans 5 espèces : le blaireau, le sanglier, le furet, le chat et le chien. Les nombres d'individus utilisés comme témoins "contact" sont repris dans les tableaux 1 et 2.

TABLEAU 1 Récapitulatif des tests d'innocuité pratiqués chez les espèces sauvages européennes

ESPECE	NOMBRE D'ANIMAUX	ADMINISTRATION DU RECOMBINANT VOIE	DOSE (DICT 50)	DUREE D'OBSERVATION EN JOURS	TEST DE DIFFUSIBILITE
BLAIREAU (Meles meles)	6	orale	$10^{8.3}$	45	2 animaux "contact"
SANGLIER (Sus scrofa)	4	orale	$10^{8.3}$	60	2 animaux "contact"
CORNEILLE NOIRE (Corvus corone)	16	orale	10^8	28	-
BUSE VARIABLE (Buteo buteo)	6	orale	10^8	60	-
FAUCON CRECERELLE (Falco tinnunculus)	2	orale	10^8	60	-

TABLEAU 2 Récapitulatif des tests d'innocuité pratiqués chez les espèces domestiques et de laboratoire

ESPECE	NOMBRE D'ANIMAUX	ADMINISTRATION DU RECOMBINANT		DUREE D'OBSERVATION EN JOURS	TEST DE DIFFUSIBILITE
		VOIE	DOSE (DICT 50)		
CHIEN	4	orale	$10^{8.6}$	69	2 animaux "contact"
	4	orale	$10^{9.6}$	69	-
	3	sous cutanée	$10^{4.6}$	69	-
	3	sous cutanée	$10^{6.6}$	69	-
	3	sous cutanée	$10^{6.6}$	69	-
CHAT	4	orale	10^8	115	4 animaux "contact"
	3	sous cutanée	10^4	52	-
	3	sous cutanée	10^6	52	-
	3	sous cutanée	10^8	52	-
BOVIN	2	Intra dermique	$2 \cdot 10^8$	35	-
	1	Intra musculaire	10^8	35	-
	1	sous cutanée	10^8	35	-
MOUTON	4	orale	$10^{7.3}$	90	-
FURET	2	orale	10^8	28	2 animaux "contact"
	2	orale	10^9	28	-
SOURIS	20	orale	$10^{2.5}$	14	-
	20	orale	$10^{4.5}$	14	-
	20	orale	$10^{6.5}$	14	-

RESULTATS

Au cours de la période d'observation, aucune mortalité n'a été relevée chez les animaux inoculés. Durant cette même période, l'état de santé de ces derniers est resté normal (absence de signe clinique et de lésion de type "Pox").

Une légère réaction locale de courte durée a cependant été observée chez les bovins vaccinés par les voies intramusculaire et intradermique.

Aucune séroconversion envers le virus de la rage ou le virus de la vaccine n'a pu être détectée chez les individus neufs maintenus en contact étroit avec les sujets vaccinés par voie orale.

DISCUSSION

Les résultats obtenus à la suite de ces essais démontrent l'absence de pathogénicité du virus recombinant vaccine-rage chez le blaireau, le sanglier, la corneille noire, la buse variable, le faucon crécerelle, le furet, le chien, le chat, le bovin, le mouton (Soria Baltazar et al., 1987) et la souris de laboratoire. Il semble donc que l'utilisation de cette souche modifiée du virus de la vaccine est dépourvue de risque.

L'obtention du VVTG_gRAB a impliqué la déficience en gène thymidine kinase du virus de la vaccine. Cette modification génomique du virus parental représente un important facteur d'atténuation et, par là, une garantie supplémentaire d'innocuité.

Les essais menés chez la souris démontrent la supériorité du virus recombinant en matière de sécurité puisque les souches atténuées SAD du virus rabique, administrées par voie orale, restent pathogènes dans cette espèce (Schneider et Cox, 1983).

L'excrétion du VVTG_gRAB accompagnée de transmission horizontale à des animaux neufs n'a pas pu être mise en évidence chez 5 espèces. Cette observation permet d'écarter les risques potentiels d'ordre épidémiologique encourus par l'usage d'un vaccin constitué d'une souche recombinée d'orthopox.

BIBLIOGRAPHIE

- Artois, M., Chillaud, T., Maillot, E., Rigal, P., Blancou, J. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en France. Contrôles d'efficacité chez le renard et d'innocuité chez les micromammifères. Ann. Méd. Vét., 131, 457-462.
- 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., Iokem, A., Ginter, A., Lejeune, E., Costy, F., Marchal, A., Péharpré, D., Couvreur, J.M., Dufey, J., Kalpers, J., Léonard, M., Bauduin, B., Desmecht, M., Schneider, L.G., Pastoret, P.P. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en Belgique. Contrôles d'efficacité et d'innocuité chez le renard roux (Vulpes vulpes, L.); Ann. Méd. Vét., 131, 463-472.
- Brochier, B., Languet, B., Blancou, J., Kieny, M.P., Lecocq, J.P., Costy, F., Desmettre, P., Pastoret, P.P. Use of a recombinant vaccinia-rabies virus for oral vaccination of fox cubs (Vulpes vulpes, L.) against rabies. Vet. Microbiol. (soumis pour publication).
- Kalpers, J., Brochier, B., Lejeune, E., Quiroga Fernandez, S., Kabemba, M., Bauduin, B., Leonard, M., Pastoret, P.P. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en Belgique. Contrôles d'innocuité chez les rongeurs et les insectivores. Ann. Méd. Vét., 131, 473-478.
- 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.
- Rupprecht, C.E., Wiktor, T.J., Johnston, D.H., Hamin, A.N., Dietzschold, B., Wunner, W.H., Glickman, L.T., Koprowski, H. 1986. Oral immunization and protection of raccoons (Procyon lotor) with a vaccinia-rabies glycoprotein recombinant virus vaccine. Proc. Nat. Acad. Sci., 81, 7194-7198.
- Schneider, L.G., Cox, J.H. 1983. Ein Feldversuch zur oralen immunisierung von Füchsen gegen die Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland.

- Tierärztl. Umschau., 38, 315-324.
- Soria Baltazar, R., Blancou, J., Artois, M. 1987. Résultats de l'administration par voie orale au mouton de deux vaccins contenant un virus de la rage modifié (SAD B19) ou un recombinant du virus de la vaccine et de la rage (187 XP). Ann. Méd. Vét., 131, 481-486.
- Tolson, N.D., Charlton, K.M., Stewart, R.B., Campbell, J.B., Wiktor, T.J. 1987. Immune response in skunks to a vaccinia virus recombinant expressing the rabies virus glycoprotein. Can. J. Vet. Res., 51, 363-366.
- Wiktor, T.J., Kieny, M.P., Lecocq, J.P., Koprowski, H. 1984. Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. Proc. Nat. Acad. Sci., 81, 7194-7198.
- Wiktor, T.J., Mac Farlan, B., Dietzschold, B., Rupprecht, C., Wunner, W.H. 1985. Immunogenic properties of vaccinia recombinant virus expressing the rabies glycoprotein. Ann. Inst. Pasteur/virol., 136E, 405-411.

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 km² 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 km²). 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°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 μ 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 km² 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., Schwerts, 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.

CONFERENCE DE PRESSE DU 18 NOVEMBRE 1987

COMMUNIQUE:

LA VACCINATION DU RENARD POUR
LE CONTROLE DE LA RAGE

Conférence de presse donnée à l'issue d'un symposium sur ce sujet organisé conjointement par le Fo.Re.Ra. et la Commission des Communautés européennes, à l'Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique, 1040 Bruxelles, les 17 et 18 novembre 1987.

Fo.Re.Ra. Service de Virologie-Immunologie et Pathologie des maladies virales,
Faculté de médecine vétérinaire, U.Lg.,
45, Rue des Vétérinaires, B-1070 Bruxelles, Belgique.

Un symposium vient de se tenir les 17 et 18 novembre 1987 dans les locaux de l'Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique sur la vaccination antirabique du renard pour le contrôle de la rage. Ce symposium était organisé par le Fo.Re.Ra., regroupant le département de Virologie-Immunologie de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège (Professeur P.-P. Pastoret) et l'Institut Pasteur du Brabant à Bruxelles (Professeur F. De Meuter), en collaboration avec la Commission des Communautés européennes.

Le programme de ces journées a été élaboré par un comité international composé de:

J. Blancou et M. Artois (France), F. Wolff (grand-duché de Luxembourg), P.-P. Pastoret, B. Brochier, I. Thomas et F. Costy (Belgique).

La rage, une maladie virale qui atteint tous les animaux à sang chaud, se transmet au sein de la faune sauvage (en Europe de l'Ouest, principalement le renard) et, à l'homme, par l'intermédiaire des animaux domestiques comme les bovins.

Les tentatives de contrôle de la maladie par la vaccination du renard à l'aide d'une souche modifiée du virus rabique semblent prometteuses.

En septembre 1986, la première campagne internationale de vaccination du renard contre la rage a été organisée par plusieurs pays européens (grand-duché de Luxembourg, France, Belgique) et coordonnée par le Fo.Re.Ra. (Fonds pour la recherche contre la Rage), avec l'aide des centres collaborateurs de l'O.M.S., en particulier le laboratoire de Tübingen en Allemagne de l'Ouest. Le vaccin utilisé était la souche modifiée SAD/B19 du virus rabique développé par le laboratoire de Tübingen et présenté sous forme d'appâts; la campagne était contrôlée selon les normes édictées par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.).

En Belgique, ces campagnes de vaccination ont encore été organisées à deux reprises en 1987 grâce à l'appui financier du Ministère de la Région wallonne pour l'Agriculture et l'Environnement (Ministre Daniel Ducarme) et au Secrétariat d'état à l'Agriculture et aux Communautés européennes (Ministre Paul De Keersmaeker).

Les premiers résultats obtenus après ces premières campagnes sont extrêmement encourageants: le procédé est simple, inoffensif et surtout efficace. La technologie nécessaire à la vaccination antirabique du renard est donc disponible et a fait ses preuves dans plusieurs pays de la Communauté européenne.

Il a dès lors paru intéressant d'organiser un symposium sur la vaccination antirabique du renard ouvert à toutes les personnes intéressées afin de confronter les résultats des premières campagnes organisées dans les différents pays européens, qu'ils appartiennent ou non à la Communauté. En effet, la Suisse, pays étranger à la Communauté européenne a joué un rôle de pionnier dans ce domaine et il était extrêmement intéressant de connaître les résultats de 10 ans de lutte par cette méthode dans ce pays.

C'est pourquoi la première journée du symposium a été essentiellement consacrée à des exposés généraux sur la situation de la rage en Europe, la biologie du renard son principal vecteur et la vaccination.

L'après-midi a été consacrée à l'exposé des résultats des campagnes menées dans les différents pays européens. La journée a été suivie d'une réunion des principaux responsables sanitaires des pays de la communauté; ils ont fait le bilan des opérations menées jusqu'à présent afin de décider d'une probable extension des mesures de vaccination sur l'ensemble des territoires contaminés des pays concernés dans la Communauté européenne.

La rage est en effet une maladie qui préoccupe gravement les responsables de la Communauté car, en plus du danger qu'elle représente pour l'homme, elle est une entrave permanente à la libre circulation des personnes entre les différents pays membres. En effet, certains pays (dont les représentants étaient invités au titre d'observateurs) sont actuellement indemnes de la maladie et entendent le rester; c'est pourquoi ils imposent des contraintes sur la circulation des animaux de compagnie.

Les conclusions de cette réunion seront présentées aux autorités compétentes des différents pays concernés.

La méthode actuelle de vaccination antirabique du renard a fait ses preuves mais est encore susceptible d'évoluer. Il existe en effet un nouveau candidat vaccin, le virus recombinant de la vaccine qui contient le gène qui code pour la glycoprotéine du virus de la rage.

Les résultats obtenus grâce à l'emploi de ce nouveau vaccin ont été présentés au cours de la seconde journée du symposium.

La mise au point de ce nouveau vaccin résulte de travaux entrepris dans le cadre d'une collaboration internationale entre la Belgique, la France et les Etats-Unis.

C'est-à-dire:

- 1) le département de Virologie-Immunologie et Pathologie des maladies virales de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège (Belgique);
- 2) le centre national d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages de Malzéville (Nancy, France);
- 3) la société TRANSGENE de Strasbourg (France);
- 4) le WISTAR Institute of anatomy and Biology de Philadelphie (U.S.A.);
- 5) la société RHONE-MERIEUX de Lyon (France).

En effet, le laboratoire TRANSGENE ayant produit grâce aux techniques de l'ingénierie génétique, un recombinant du virus de la vaccine qui contient le gène qui code pour la glycoprotéine du virus de la rage, ce virus a été étudié, en station expérimentale, comme vaccin administrable par voie orale chez le renard.

Il s'est révélé extrêmement efficace et parfaitement inoffensif. Des expériences pratiquées en Belgique ont en outre montré qu'il était parfaitement toléré par les autres espèces non-cibles qui peuvent également consommer du vaccin dans la nature, comme le sanglier et le blaireau.

La protection conférée au renard par cette vaccination excède 18 mois.

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 de virus rabique, actuellement utilisées sur le terrain.

Ce nouveau vaccin vient d'être essayé, pour la première fois, sur le terrain, en Belgique.

Le Fo.Re.Ra. a en effet obtenu du Conseil supérieur d'Hygiène belge, l'autorisation de procéder à des premiers essais de vaccination antirabique du renard par voie orale à l'aide de virus recombinant vaccine-rage sur le terrain.

Ces premiers essais ont débuté le 24 octobre dernier sur le terrain militaire de Marche, à cheval sur les provinces de Luxembourg et de Namur, grâce à l'autorisation et à la collaboration des autorités militaires compétentes. Ces essais préliminaires font actuellement l'objet d'une surveillance étroite afin de répondre aux souhaits exprimés par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.).

L'Europe se place ainsi à la tête de l'utilisation des techniques biologiques issues des plus récents progrès de l'ingénierie génétique, afin de tenter de résoudre un problème vieux comme le monde.

A l'issue de cette seconde journée, le Professeur Pastoret a tiré les conclusions techniques et tenté de dégager les perspectives de la méthode au niveau européen.

SYMPOSIUM ORGANISE SOUS LE HAUT PATRONAGE DE :

- **Monsieur le Ministre Paul de KEERSMAEKER,**
Secrétaire d'Etat à l'Agriculture et aux Affaires européennes;
- **Monsieur le Ministre Daniel DUCARME,**
Ministère de l'Agriculture et de l'Environnement, région wallonne;
- **Monsieur le Ministre Michel HANSENNE,**
Ministre de l'Emploi et du Travail;
- **Monsieur le Ministre-Président Melchior WATHELET,**
Exécutif régional wallon;
- **Monsieur ROELANDTS-DUVIVIER,** député européen;
- **Monsieur Jacques PLANCHARD,** Gouverneur de la Province de Luxembourg;
- **Monsieur le Professeur Arthur BODSON,** Recteur de l'Université de Liège;
- **Monsieur le Professeur Léon SIMAR,** Vice-Recteur de l'Université de Liège;
- **Monsieur le Professeur Louis POUPLARD,** Doyen de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège;
- **Monsieur le Professeur Valère BIENFET,** Président de l'association européenne des vétérinaires;
- **Monsieur Jacques DE BRUYN,** vétérinaire-colonel,
Etat-Major du service médical des forces armées belges;
- **Monsieur le Docteur Jacques STENUIT,** Co-Président de l'entente nationale pour la protection de la nature;
- **Monsieur Jean-Pierre d'HUART,** Directeur de la Conservation, WWF Belgium;
- **Monsieur Edgar KESTELOOT,** Président des réserves naturelles et ornithologiques de Belgique;
- **Monsieur le Docteur Raoul HENS,** Président de la Société vétérinaire pour la protection animale;
- **Monsieur le Professeur Xavier MISONNE,** Directeur de l'Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique;
- **Monsieur Alain QUINTART,** chef du service éducatif de l'Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique.

LISTE DES PARTICIPANTS

BELGIQUE-BELGIUM

ANTOINE Hubert
 Directeur du département de Virologie
 Centre d'économie rurale
 1 Rue du Carmel
 5406 Marloie
 084/31.31.36.

ARENDT Josy
 Docteur en Médecine Vétérinaire
 33 Rue de Dieckirch
 6700 Arlon

BIENFET Valère
 Président de la
 Fédération Vétérinaire Européenne
 41 Avenue Fonsny
 1060 Bruxelles
 02/538.29.63.

BIRONT Patrick
 Directeur du département vétérinaire
 de l'Institut Mérieux Bénélux
 13 Avenue Jules Bordet
 1140 Bruxelles
 02/242.48.84.

BROCHIER Bernard°
 Docteur en Médecine Vétérinaire,
 vice-Président du Fo.Re.Ra.
 Fo.Re.Ra.
 Institut Pasteur du Brabant
 28 Rue du Remorqueur
 B-1040 Bruxelles
 02/230.73.75. ext. 183

CAREME Ludo
 10 De Grunnelaan
 3030 Heverlee
 016/23.96.78.

CHRISTOPHE Claude
 Journaliste
 63 Chaussée de Dinant
 5198 Anhée
 082/61.14.27.

CORNETTE Maurice
 Praticien Vétérinaire
 24 Rue de Verviers
 4020 Liège
 041/42.14.12.

COSTY Françoise
 Directeur du service de la rage
 Institut Pasteur du Brabant
 28 Rue du Remorqueur
 1040 Bruxelles
 02/230.73.75.

CROHAIN Claude
 Secrétaire Général
 Ministère de l'Agriculture
 1 Rue Marie-Thérèse
 1040 Bruxelles
 02/211.06.11.

DE BRUYN Jacques
 Comonel vétérinaire
 Etat-Major du Service Médical (MSV)
 Quartier Reine Elisabeth
 Rue d'Evere
 1140 Bruxelles
 02/243.30.67.

DEMEUTER Frans°
 Directeur de l'Institut Pasteur
 du Brabant
 28 Rue du Remorqueur
 B-1040 Bruxelles
 02/230.73.75.

DUFÉY Jacques
 Inspecteur Vétérinaire
 2 Avenue du Berceau
 6530 Thuin
 071/59.03.38.

DUHAUT Robert
 Inspecteur Vétérinaire
 Manhattan Office Tower, 6ème étage
 21 Avenue du Boulevard
 1210 Bruxelles
 02/211.72.90.

ENGELS Ir.
 Studiecentrum bestrijding biologische
 plagen
 44 Havenstraat
 3500 Hasselt

EVARD Georges
Inspecteur vétérinaire
Ministère de l'Agriculture
Service de l'Inspection vétérinaire
Manhattan Office Tower
21 Avenue du Boulevard
1210 Bruxelles
02/211.72.96.

FONTAINE Ignace°
Inspecteur général
Ministère de l'Agriculture
Manhattan Office Tower
21 Avenue du Boulevard
B-1210 Bruxelles
02/211.75.10.

GARSOUX Jean
Médecin Vétérinaire Militaire
90 Avenue du Roi Albert
1080 Bruxelles
02/465.17.50.

GINTER Annita
Docteur en Médecine Vétérinaire
11 Avenue de la Dame
5100 Jambes
084/31.31.36.

HALLET Léon
Inspecteur en Chef Directeur
Manhattan Office Tower
21 Avenue du Boulevard
1210 Bruxelles
02/211.73.14.

HENS Raoul
Médecin vétérinaire
Président de la SVPA
41 Avenue Fonsny
1060 Bruxelles
02/647.86.99.

LEMOINE Pierre Edouard
Chef de Section, Contrôle des Vaccins
Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie
14 Rue Juliette Wytman
1050 Bruxelles
02/642.50.56.

LEVEAU Tania
Technicienne
Fo.Re.Ra.
Service de Virologie-Immunologie et
Pathologie des Maladies
virales
Faculté de Médecine vétérinaire, U.Lg.
45 Rue des Vétérinaires
1070 Bruxelles
02/522.58.25.

LIBOIS Roland
Docteur en Sciences Zoologiques
Institut de Zoologie de l'Université
de Liège
22 Quai Van Beneden
4020 Liège
041/43.49.18.

LOMBA M.
Médecin Vétérinaire Agréé
2 Groynne
5220 Andenne
085/84.14.76.

MARCHAL André
Docteur en Médecine Vétérinaire,
Chef de Laboratoire
Institut Pasteur du Brabant
28 Rue du Remorqueur
1040 Bruxelles
02/230.73.75.

MATHOLET Paul
Inspecteur Vétérinaire
604 Chaussée de Marche
5101 Erpent
081/30.31.14.

MEES Georges
Conservateur
Faculté de Médecine vétérinaire de
l'Université de Liège
282 Chaussée de Neerpède
1070 Bruxelles
02/523.33.20.

MICHEL Gilles
Etudiant en Médecine vétérinaire
17 Romont
5271 Modave
085/41.17.45.

MIGNON Bernard
 Etudiant en Médecine vétérinaire
 7 Rue Rossini
 1070 Bruxelles

MORSOMME Joseph
 Inspecteur Vétérinaire,
 Chef de Service
 2 Rue du Carmel
 5406 Marloie-Waha
 084/31.16.51.

MUYS Marinette
 Secrétaire
 Fo.Re.Ra.
 Service de Virologie-Immunologie et
 Pathologie des Maladies virales
 Faculté de Médecine vétérinaire, U.Lg
 45 Rue des Vétérinaires
 1070 Bruxelles
 02/522.58.25.

NYABENDA Jean
 Service de tuberculisation
 Institut Pasteur du Brabant
 28 Rue du Remorqueur
 1040 Bruxelles
 02/230.73.75.

PAQUOT Anne
 Fo.Re.Ra.
 Institut Pasteur du Brabant
 28 Rue du Remorqueur
 1040 Bruxelles
 02/230.73.75. ext. 183

PASTORET Paul-Pierre°
 Professeur, Président du Fo.Re.Ra.
 Faculté de Médecine vétérinaire, U.Lg
 Service de Virologie-Immunologie et
 Pathologie des Maladies virales
 Rue des Vétérinaires, 45
 B-1070 Bruxelles
 02/522.58.25.

PEHARPRE Daniel
 Technologue
 Institut Pasteur du Brabant
 28 Rue du Remorqueur
 1040 Bruxelles
 02/230.73.75. ext. 185

POUPLARD Louis
 Doyen de la Faculté
 de Médecine vétérinaire, U.Lg.
 Rue des Vétérinaires 45
 1070 Bruxelles
 02/522.73.05.

RYELANDT Etienne
 Serdat (bibliothèque Royale
 Albert 1er)
 120 Avenue Maréchal Joffre
 1190 Bruxelles
 02/347.10.04.

SCANLAN William Anthony
 Veterinary Counsellor
 Australian Embassy
 6/8 Rue Guimard
 1040 Bruxelles
 02/231.05.00. ext. 703

SCHWERS Anne
 Assistante IRSIA
 Service Virologie-Immunologie et
 Pathologie des Maladies virales
 Faculté de Médecine Vétérinaire, U.Lg
 45 Rue des Vétérinaires
 1070 Bruxelles
 02/522.58.25.

STENUIT Jacques
 Médecin-Neurologue
 Co-Président de l'Entente Nationale
 pour la Protection de la Nature
 Rue de Perk, 20
 1960 Sterrebeek
 02/731.03.27.

THOMAS Isabelle
 Docteur en Médecine vétérinaire
 Fo.Re.Ra.
 Institut Pasteur du Brabant
 28 Rue du Remorqueur
 1040 Bruxelles
 02/230.73.75. ext. 183

THOMAS René
 Professeur à L'université libre
 de Bruxelles
 Département de biologie moléculaire
 Rue des Chevaux
 1640 Rhode-Saint-Genèse

VIATOUR Pierre
Inspecteur Vétérinaire Stagiaire
56b Avenue Hanlet
4802 Verviers
087/22.24.30.

WITTEBROOD Marcel
Fo.Re.Ra.
Institut Pasteur du Brabant
28 Rue du Remorqueur
1040 Bruxelles
02/230.73.75. ext. 183

ZANKER Susanne
Etudiante en Médecine Vétérinaire
8 Place Anneessens
1000 Bruxelles
02/511.32.15.

ZYGRAICH Nathan
Directeur Scientifique,
firme Norden Europa
Avenue Boulenger 49
1180 Uccle
02/374.76.52.

DENMARK-DANEMARK (DK)

GAEDE Tommy
Senior Veterinary Officer
The Danish Veterinary Service
Frederiksgade, 21
1265 Copenhagen K
01.11.48.88.

PEDERSEN K.B.+
State Veterinary Institute for
virus Research
Lindholm
22904 Vetssderk
4771 Kalvenhave

FEDERAL REPUBLIC OF GERMANY REPUBLIQUE FEDERALE D'ALLEMAGNE

BARTH Rudolph
Head Rabies Vaccine Production
Behringwerke AG
Postfach 11 40
3550 Marburg
06421/39.22.64.

COX J.H.°+
Researcher
Federal Research Center for
Virus Diseases of Animals
P.O. Box 1149
7400 Tübingen
0049/70.71.60.31.

SCHNEIDER Lothar G.°
Head of rabies center
Federal Research Center for
Virus Diseases of Animals
P.O. Box 1149
7400 Tübingen
0049/70.71.60.31.

SEIDLER Michael-Jürgen°
Veterinär Oberrat
Staatlicher Tierseuchen
Bekämpfungsdienst Niedersachsen
17 eintrachtweg
3000 Hannover 1
0511/106.33.07.

FRANCE

ARTOIS M. °+
Ministère de l'Agriculture
Centre National d'Etudes sur la Rage
Domaine de Pixérécourt b9
54220 Malzeville
0033/83.29.26.08.

AUBERT André°+
Ministère de l'Agriculture
Centre National d'Etudes sur la Rage
Domaine de Pixérécourt b9
54220 Malzeville
0033/83.29.26.08.

AUBERT Michel
Laboratoires Virbac
BP 27
06511 Carros Cedex
0033/93.29.02.02.

BLANCOU Jean°+
Directeur
Ministère de l'Agriculture
Centre National d'Etudes sur la Rage
Domaine de Pixérécourt b9
54220 Malzeville
0033/83.29.26.08.

BOITEUX Paul
Adjoint en Chef
Service Vétérinaire de la Santé
et de la Protection Animale
175 Rue du Chevaleret
75646 Paris Cedex 13
00331/45.84.13.13.

BOURHY Hervé
Chef de Laboratoire
Laboratoire de Diagnostic de la Rage
du Centre National de Référence
pour la Rage
Institut Pasteur
25 Rue du Docteur Roux
75724 Paris Cédex 15
00331/45.68.87.50.

DICK André
Directeur
4 Impasse des Jardins
67700 Saverne
0033/88.79.12.77.

FLAMAND Anne°
Directeur de Laboratoire
Laboratoire de Génétique des Virus
Centre National de la Recherche
Scientifique
91190 Gif sur Yvette
00331/69.07.78.28. poste 320 ou 384

KARST Christian
Docteur en Médecine vétérinaire
(chef de produit biologique)
Laboratoires Virbac
BP 27
06511 Carros Cedex
0033/93.29.02.02.

KIENY Marie-Paule°
Transgène
11 Rue de Molsheim
67082 Strasbourg Cedex
0033/88.22.24.90.

LANCELOT Renaud
IEMVT
10 Rue Pierre Curie
94704 Maisons-Alfort Cedex
0033/43.68.88.73.

LECOCQ Jean-Pierre°
Transgène
11 Rue de Molsheim
67082 Strasbourg Cedex
0033/88.22.24.90.

LANGUET Bernard
Rhône-Mérieux-Laboratoire IFFA
254 Rue Marcel Mérieux
69007 Lyon
0033/78.72.95.21.

LE BLOIS Hélène
Laboratoire de Génétique des Virus
Centre National de Recherches
Scientifiques
91190 Gif sur Yvette
00331/69.07.78.28.

NOVAREZE Maryse
27 les Vergers du Ruquet
59530 Villers-Pol
0033/27.49.44.45.

PILET Charles°+
Professeur
Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7 Avenue du Général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort
00331/43.96.71.00.

PRAVE Michel
Professeur
Service des Maladies Contagieuses
Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
BP 31
69752 Charbonnières Cédex
0033/78.87.00.84. poste 721

GRAND DUCHE DE LUXEMBOURG
GRAND DUCHY OF LUXEMBOURG

FRISCH Raymond°
Ministère de l'Agriculture
et de la Viticulture
Rue d'Anvers 89 bp 1403
Luxembourg
00352/47.84.57.

KRIER Ady+
Ingénieur Principal,
Chef de Service
Direction des Eaux et Forêts,
Service Chasse et Pêche
34 Avenue de la Porte Neuve BP 411
2014 Luxembourg-Ville
00352/460.225.

WOLFF Frank°+
Laboratoire vétérinaire de l'Etat
54 Avenue Gaston Diderich
2014 Luxembourg
00352/47.86.60.

GREECE-GRECE

PAPADOPOULOS O.+
Professeur
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Microbiology
and Infectious diseases
Aristotelian University
54006 Thessaloniki

IRELAND-IRELANDE

LENIHAN Patrick+
Senior Veterinary Research Officer
Department of Agriculture
Veterinary Research Laboratory
Abbotstown, Castleknock
Dublin 15
003531/213.041.

ITALY-ITALIE

BALBO Teresio°+
Faculté de Médecine Vétérinaire
52 Via Mizza
Torino
003911/650.90.53.

CASTRUCCI G.+
Facolta di Medicina Veterinaria
Istituto di Malattie Infettive
Profilassi e Polizia Veterinaria
4 Via San Constanzo
06100 Perugia

NETHERLANDS-PAYS-BAS

HAAGSMA Jan
Head Rabies Research Unit,
including Diagnostic Examinations
Central Veterinary Institute
15 Edelheweg
0219 PH Lelystad
03200/73.911.

HORZINEK Marian+
Professeur
Vakgroep Virologie
Faculteit der Diergeneeskunde
Rijksuniversiteit te Utrecht
Postbus 80164
3508 TD

OSTERHAUS Albert+
Rijksinstituut voor volksgezondheid
en Milieu Hygiene
Postbus 1
3720 BA Bilthoven

PORTUGAL-PORTUGAL

MATUAS AGUAS°
Laboratorio Nacional de Investigacao
Veterinaria
701 Est de Benfria
1500 Lisbonne

SPAIN-ESPAGNE

CARMENES°
Department of Animal Pathology
and Health
Veterinary Faculty of Leon
Leon

SWEDEN-SUEDE

ENGVALL Anders
Assistant Professor
Department of Epizootiology
National Veterinary Institute
75007 Uppsala
018/16.90.00.

SWITZERLAND-SUISSE

BOGEL K. °
Head of Veterinary Public Health
Division and Communicable Diseases
Organisation Mondiale de la Santé
1211 Genève 27
0041/22.91.26.88.

BRUCKNER Lukas
Head of the Vaccine Control
Department
Federal Vaccine Institute
74 Hagenaustrasse
4025 Basel
004161/578.282.

KAPPELER Andreas °
Universität Bern
Tollwutzentrale. Institut für
Veterinär-Virologie
122 Langasstrasse
3012 Bern

RIGGENBACH Christophe
Directeur suppléant
Office vétérinaire fédéral
Schwartztsenburgstrasse 161
3097 Liebefeld
031/59.84.98.

UNITED KINGDOM-ROYAUME UNI

BOSTOCK Christopher
Head Molecular Biology Division
Institute for Animal Disease Research
Pirbright Laboratory
Pirbright, Woking, Surrey
GU 24 ONF, UK
0483/23.24.41.

Mc DONALD David °+
Animal Behaviour Research
Group Department of Zoology
South Parks Road
Oxford OX 3PS

KING Arthur
Institute for Animal Disease Research
Pirbright Laboratory
Pirbright, Woking Surrey
GU 24 ONF, UK
0483/23.24.41.

MARRIOTT Martin
Senior Veterinary Officer
Head Office
Ministry of Agriculture, Fisheries
and Food
Hook Rise Tolworth Surbiton Surrey
KT6 7NF
01/337.66.11.

YUGOSLAVIA-YOUGOSLAVIE

RADOVANOVIC M.
Federal Committee for Agriculture
Belgrade

COMMISSION DES COMMUNAUTES
EUROPEENNES

CAFFREY J.
Direction générale de
l'Agriculture
(DG VI)
200 Rue de la Loi
1049 Bruxelles
02/235.11.11.

CONNELL J.
Direction générale de
l'Agriculture
(DG VI)
200 Rue de la Loi
1049 Bruxelles
02/235.11.11.

KLEPSCH Andreas
DXII
200 Rue de la Loi
1049 Bruxelles
02/235.32.10

° conférenciers et présidents
de séance
+ invités CEE

Commission of the European Communities
Commission des Communautés européennes

**EUR 11439 — Vaccination to control rabies in foxes
La vaccination antirabique du renard**

Edited by:

Édité par: *P. P. Pastoret, B. Brochier, I. Thomas, J. Blancou*

Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities
Office des publications officielles des Communautés européennes

1988 — VI, 140 pp. — 16.2 × 22.9 cm

Agriculture series — Série Agriculture

EN-FR

ISBN 92-825-8377-5

Cat.: CD-NA-11439-2A-C

This publication comprises the proceedings of a technical forum to report recent advances in the control of rabies by vaccination. The main sections of the programme were (i) sylvatic rabies in Europe, (ii) prevention of rabies through fox vaccination, (iii) oral vaccination of foxes in different European countries and (iv) vaccinia virus as a vector.

The technical conclusions indicate the important progress made and some of the actions envisaged to achieve the goal of control. Rabies is a problem for agriculture, the environment, tourism and the internal Community market and efforts are needed to remove the danger. The meeting was organized by the Commission and a team lead by Professor P. P. Pastoret, University of Liège, Belgium.

La publication comprend les actes d'un forum technique consacré aux progrès enregistrés récemment en matière de lutte contre la rage par la vaccination. Le programme comportait essentiellement les sujets suivants: 1) la rage des forêts en Europe, 2) la prévention de la rage par la vaccination des renards, 3) la vaccination orale des renards dans différents pays européens et 4) le virus de la vaccination en tant que vecteur.

Les conclusions qui en ont été tirées au niveau technique montrent que des progrès importants ont été faits et mentionnent quelques-unes des actions envisagées pour venir à bout de la maladie. La rage pose des problèmes pour l'agriculture, l'environnement, le tourisme ainsi que pour le marché interne communautaire, et des efforts doivent être entrepris pour supprimer le danger. Le forum avait été organisé par la Commission et par une équipe dirigée par le professeur P. P. Pastoret, de l'université de Liège, Belgique.

**Venta y suscripciones · Salg og abonnement · Verkauf und Abonnement · Πωλήσεις και συνδρομές
Sales and subscriptions · Vente et abonnements · Vendita e abbonamenti
Verkoop en abonnementen · Venda e assinaturas**

BELGIQUE / BELGIE

Moniteur belge / Belgisch Staatsblad
Rue de Louvain 40-42 / Leuvensestraat 40-42
1000 Bruxelles / 1000 Brussel
Tél. 512 00 26
CCP / Postrekening 000-2005502-27

Sous-dépôts / Agentschappen

**Librairie européenne /
Europese Boekhandel**
Rue de la Loi 244 / Wetstraat 244
1040 Bruxelles / 1040 Brussel

CREDOC

Rue de la Montagne 34 / Bergstraat 34
Bte 11 / Bus 11
1000 Bruxelles / 1000 Brussel

DANMARK

Schultz EF-publikationer

Montergade 19
1116 København K
Tlf: 01 14 11 95
Telefax: 01 32 75 11

BR DEUTSCHLAND

Bundesanzeiger Verlag

Braite Straße
Postfach 10 80 06
5000 Köln 1
Tel. (02 21) 20 29-0
Fernschreiber ANZEIGER BONN 8 882 595
Telefax: 20 29 27B

GREECE

G.C. Eleftheroudakis SA

International Bookstore
4 Nikis Street
105 63 Athens
Tel. 322 22 55
Telex 219410 ELEF

Sub-agent for Northern Greece

Molho's Bookstore

The Business Bookshop
10 Tsimiski Street
Thessaloniki
Tel. 275 271
Telex 412885 LIMO

ESPAÑA

Boletín Oficial del Estado

Trafalgar 27
28010 Madrid
Tel. (91) 446 60 00

Mundi-Prensa Libros, S.A.

Castelló 37
28001 Madrid
Tel. (91) 431 33 99 (Libros)
431 32 22 (Suscripciones)
435 36 37 (Dirección)
Télex 49370-MPLLE
Telefax: 34-1-1275 3998

FRANCE

Journal officiel

**Service des publications
des Communautés européennes**
26, rue Dasaix
75727 Paris Cedex 15
Tél. (1) 40 58 75 00

IRELAND

Government Publications Sales Office
Sun Alliance House
Molesworth Street
Dublin 2
Tel. 71 03 09

or by post

**Government Stationery Office
EEC Section**
6th floor
Bishop Street
Dublin 8
Tel. 78 16 66

ITALIA

Licosa Spa

Via Lamarmora, 45
Casella postale 552
50 121 Firenze
Tel. 57 97 51
Telex 570466 LICOSA I
CCP 343 509

Subagent:

Libreria scientifica Lucio de Biasio -AEIOU
Via Meravigli, 16
20 123 Milano
Tel. 80 76 79

Herder Editrice e Libreria

Piazza Montecitorio, 117-120
00 186 Roma
Tel. 67 94 628/67 95 304

Libreria giuridica

Via 12 Ottobre, 172/R
16 121 Genova
Tel. 59 56 93

**GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG
et autres pays / and other countries**

**Office des publications officielles
des Communautés européennes**

2, rue Mercier
L-2985 Luxembourg
Tél. 49 92 81
Télex PUBOF LU 1324 b
CCP 19190-81
CC bancaire BIL B-109/6003/200
Sogenal 61-490226-96-26

Abonnements / Subscriptions

Messageries Paul Kraus
11, rue Christophe Plantin
L-2339 Luxembourg
Tél. 49 98 881
Télex 25 15
CCP 49242-63

NEDERLAND

Staatsdrukkerij- en uitgeverijbedrijf

Christoffel Plantijnstraat
Postbus 20014
2500 EA 's-Gravenhage
Tel. (070) 78 98 80 (bestellingen)

PORTUGAL

**Imprensa Nacional
Casa da Moeda, E. P.**

Rua D. Francisco Manuel de Melo, 5
1092 Lisboa Codex
Tel. 69 34 14
Telex 15328 INCM

Distribuidora Livros Bertrand Lda.

Grupo Bertrand, SARL
Rua das Terras dos Vales, 4-A
Apart. 37
2700 Amadora CODEX
Tel. 493 90 50 - 494 87 88
Telex 15798 BERDIS

UNITED KINGDOM

HMSO Books (PC 16)

HMSO Publications Centre
51 Nine Elms Lane
London SWB 6DR
Tel. (01) 211 77 02

Sub-agent:

Alan Armstrong & Associates Ltd
Arkwright Road
Reading, Berks RG2 0SQ
Tel. (0734) 75 17 69
Telex B49937 AALTD G

TURKIYE

Dünya süper web ofset A.Ş.

Narlıbahçe Sokak No. 15
Cağaloğlu
Istanbul
Tel: 512 01 90
Telex: 23822 dsvo-tr

UNITED STATES OF AMERICA

**European Community Information
Service**

2100 M Street, NW
Suite 707
Washington, DC 20037
Tel. (202) 862 9500

CANADA

Renouf Publishing Co., Ltd

61 Sparks Street
Ottawa
Ontario K1P 5R1
Tel. Toll Free 1 (800) 267 4164
Ottawa Region (613) 238 8985-6
Telex 053-4938

JAPAN

Kinokuniya Company Ltd

17-7 Shinjuku 3-Chome
Shinjuku-ku
Tokyo 160-91
Tel. (03) 354 0131

Journal Department

PO Box 55 Chitose
Tokyo 156
Tel. (03) 439 0124

NOTICE TO THE READER

All scientific and technical reports published by the Commission of the European Communities are announced in the monthly periodical '**euro abstracts**'. For subscription (1 year: ECU 76.50) please write to the address below.

AVIS AU LECTEUR

Tous les rapports scientifiques et techniques publiés par la Commission des Communautés européennes sont signalés dans le périodique mensuel «**euro abstracts**». Pour souscrire un abonnement (1 an: ECU 76,50), prière d'écrire à l'adresse ci-dessous.

Price (excluding VAT) in Luxembourg: ECU 11.25
Prix au Luxembourg, TVA exclue:



OFFICE FOR OFFICIAL PUBLICATIONS
OF THE EUROPEAN COMMUNITIES
OFFICE DES PUBLICATIONS OFFICIELLES
DES COMMUNAUTÉES EUROPÉENNES

L-2985 Luxembourg

ISBN 92-825-8377-5



9 789282 583777