

Article de recherche

Innocuité et efficacité d'un vaccin antirabique recombinant des virus de la vaccine et de la rage administré par voie orale au renard, au chien et au chat

J. Blancou¹, M. Artois¹, B. Brochier², I. Thomas², P.P. Pastoret²,
P. Desmettre³, B. Languet³ et M.P. Kiény⁴

¹ CNEVA, Laboratoire d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages, BP 9, 54220 Malzéville, France,

² Virologie, Immunologie et Pathologie des Maladies Virales. Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, 45, rue des Vétérinaires, B-1070 Bruxelles, Belgique,

³ Rhône Mérieux, 254, rue Marcel-Mérieux, 69342 Lyon Cedex 07, France,

⁴ Transgène S.A., 11, rue de Molsheim, 67000 Strasbourg, France

(reçu le 1-4-1988, accepté le 5-9-1988)

Résumé — Une des méthodes les plus prometteuses de contrôle de la rage des animaux sauvages semble être leur vaccination par distribution d'appâts contenant un vaccin antirabique. Le plus utilisé à ce jour est un virus rabique modifié (souche «SAD» ou dérivées). Mais il possède un certain pouvoir pathogène résiduel pour les espèces non cibles. Une alternative possible est l'emploi d'un vaccin obtenu par génie génétique incorporant dans le virus de la vaccine (souche Copenhague thermosensible ts 26) l'ADNc correspondant au gène codant pour la glycoprotéine G du virus de la rage (souche ERA). Nous avons administré différentes doses de ce vaccin par voie orale à 59 renards (*Vulpes vulpes*) puis titré leurs anticorps avant de les soumettre à une épreuve virulente mortelle pour tous les témoins. La résistance des renards est totale (8/8) dès qu'ils reçoivent une dose de vaccin de 10^7 unités formant plaques (UFP) et cette résistance reste totale (4/4) 18 mois après vaccination. Chez les chiens, la séroconversion de tous les animaux (4/4) n'est observée qu'à partir de $10^{9.6}$ UFP alors que chez les chats elle l'est à partir de 10^8 UFP. Ces chiens (4/4) et ces chats (3/4) ont résisté à l'épreuve 2 à 3 mois après leur vaccination. L'innocuité et l'efficacité du vaccin apparaissait donc satisfaisante chez ces espèces. Les avantages et inconvénients du vaccin sont discutés.

vaccin antirabique — vaccin recombinant — renard — rage — chien — chat — voie orale

Summary — Safety and efficiency of a vaccine against rabies (vaccinia-rabies recombinant virus) administered orally in fox, dog and cat. One of the most promising ways to control rabies in wildlife seems to be the distribution of bait containing an anti-rabies vaccine. So far, the most widely used vaccines were modified live viruses (SAD strain or derivatives). Nevertheless, these strains retain some pathogenicity for non-target species. A novel vaccine was proposed consisting of genetically modified vaccinia virus (strain Copenhagen, thermosensitive ts 26) expressing the foreign glycoprotein G for the rabies virus (strain ERA). Different doses of this recombinant virus were administered orally to 59 foxes (*Vulpes vulpes*) and their antibodies were titrated before challenge. Foxes (8/8) resisted 1 month after vaccination with 10^7 plaque forming units (PFU), or 4/4 after 18 months. Seroconversion among dogs was 4/4 after vaccination with $10^{9.6}$ PFU and 4/4

among cats after vaccination with 10^8 PFU. These dogs (4/4) and cats (3/4) resisted the challenge 2—3 months after vaccination. This vaccine thus appears to be potent and safe in these species. Its properties are discussed.

vaccine — rabies recombinant virus — fox — dog — cat

Introduction

La rage reste encore, de nos jours, une des zoonoses les plus redoutées dans le monde. Depuis quelques décennies son extension préoccupe la plupart des Services nationaux de santé animale et, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) la maintient au rang de ses priorités d'intervention pour deux raisons : 1) d'une part le nombre des cas de rage canine est en croissance régulière dans le monde, notamment en Afrique et en Asie; 2) d'autre part, la rage selvatique, véhiculée par le renard roux (*Vulpes vulpes*), le raton laveur (*Procyon lotor*), la mouffette (*Mephitis mephitis*) ou les chiroptères, poursuit son extension en Europe occidentale ou sur le continent nord américain.

Contre la rage vulpine les moyens employés en Europe, jusqu'à 1978, étaient essentiellement la réduction des populations de renards. Si cette méthode a, certainement, évité de très nombreux cas de rage des animaux domestiques, donc de l'homme, elle n'a presque jamais réussi à éviter la progression géographique de la maladie.

L'idée de vacciner les espèces inaccessibles à ces mesures de limitation de leurs populations a été émise dès 1961 aux Etats-Unis d'Amérique par Baer *et al.* (1971), puis étudiée dans d'autres pays, notamment en France (Blancou, 1979; Blancou *et al.*, 1985), en République Fédérale d'Allemagne (Schneider, 1985) et en Suisse (Steck *et al.*, 1982). C'est ce dernier pays qui osa réaliser, en 1978, la première distribution sur le ter-

rain d'appâts contenant du virus rabique vivant «Street Alabama Dufferin» (SAD) destinés aux renards.

Depuis cette date, tous les essais faits en Europe ont utilisé cette souche ou ses dérivés (ex : «SAD» ou E. Gaynor Rokitt-niki Abelseth (ERA) en Europe occidentale, «Vnukovo 32» en URSS). Ces «campagnes expérimentales» utilisant plus de 5 millions d'appâts (à raison de 12 à 15 km²) n'ont pas entraîné de cas de rage vaccinale et ont eu des résultats incontestables (Schneider, 1985). Ces derniers ont pu être jugés par le taux de séroconversion (70% en moyenne) des renards, et par la réduction spectaculaire du nombre de cas de rage dans les zones vaccinées (Steck *et al.*, 1982).

Mais un des obstacles à la généralisation de cette méthode reste encore la persistance du pouvoir pathogène, non négligeable, de la souche SAD pour certaines espèces animales non cibles (micromammifères, mustélidés, chats), qui pourrait permettre l'établissement d'un cycle de «rage vaccinale» chez ces espèces (Wachendorfer, 1976).

La recherche de vaccins plus sûrs a donc été poursuivie et encouragée, en particulier celle visant à l'emploi de la seule fraction immunisante du virus rabique (Organisation Mondiale de la Santé, 1987). Une de ces recherches, fondée sur les travaux antérieurs de Panicali et Paoletti (1982) sur les pox virus, aboutit en 1984 à l'obtention d'un virus recombinant de la vaccine (Kiény *et al.*, 1984). L'efficacité de ce vaccin fut démontrée sur renards adultes et juvéniles (Blancou *et al.*, 1986; Brochier *et al.*,

1988), puis sur raton laveur (Rupprecht *et al.*, 1986) et sur mouffettes (Tolson *et al.*, 1987).

Dans ce travail, nous rapporterons les résultats d'études complémentaires d'innocuité ou d'efficacité de ce vaccin sur le renard, et d'études préliminaires sur le chien et le chat.

Matériel et Méthodes

Animaux

Les 68 renards roux (*Vulpes vulpes*) utilisés, obtenus par déterrage des jeunes en zone indemne de rage, étaient des sujets mâles ou femelles, âgés de 9 à 12 mois au début des essais, et élevés dans les conditions précédemment décrites (Artois *et al.*, 1982).

Les chiens (beagles) et les chats (race commune) mâles ou femelles, âgés de plus de 6 mois, provenaient d'un élevage de laboratoire protégé.

Les souris utilisées pour le titrage des virus ou sérums étaient des femelles Swiss «OF1», âgées de 4 à 6 semaines, fournies par les Etablissements Iffa Credo (69210 L'Arbresle, France).

Vaccin

L'ADNc correspondant au gène codant pour la glycoprotéine G du virus de la rage (souche ERA) avait été cloné, puis inséré dans le génome du virus de la vaccine (souche Copenhague thermosensible ts 26), vecteur d'expression permettant d'obtenir la synthèse de quantité importante de matériel antigénique (Kiény *et al.*, 1984). Un virus recombinant «VVg RAB 26 D 3 187 XP» a ainsi pu être obtenu qui exprime la seule glycoprotéine G. Une suspension, liquide ou lyophilisée, de ce recombinant constitue la préparation vaccinale.

Virus d'épreuve

Chez les renards. Le stock viral «GS 7» a été préparé dans les conditions précédemment décrites à partir de glandes salivaires de renards de France naturellement enrégés (Blancou *et al.*, 1979).

Chez les chiens et les chats. Le stock viral de la souche «NY» a été préparé dans les conditions précédemment décrites (Soulebot *et al.*, 1982) à partir de glandes salivaires de chiens enrégés des Etats-Unis d'Amérique.

Chez les souris (pour titrage des sérums). C'est la souche «challenge virus standard» (CVS) qui a été utilisée sous forme d'une suspension de cerveau de souris infectées, inoculée par voie intracérébrale, après mélange avec différentes dilutions du sérum à tester et incubation 90 min à 37 °C.

Administration du vaccin aux animaux. Observations

Renards. Le vaccin a été administré soit sous forme liquide (dépôt direct sur la langue du renard, ou mise en capsule plastique elle-même cachée dans une tête de poule offerte à l'animal) soit sous forme lyophilisée (dépôt direct sur la langue).

Chiens et chats. Le vaccin, sous forme liquide, a été déposé directement dans la gueule de l'animal.

Tous les animaux ayant ingéré le vaccin ont été isolés et observés quotidiennement jusqu'à leur mort ou leur euthanasie. (Tous les effluents, objets ayant été en contact avec le vaccin ou cadavres des animaux en expérience ont été décontaminés ou incinérés).

L'innocuité du vaccin a été recherché par examen de l'état des muqueuses buccales et/ou l'état général des animaux (perte d'appétit ou apathie). L'observation s'est poursuivie de 1 à 18 mois chez les renards, 3 mois chez les chiens et 1 mois chez les chats.

Etude de la réponse immunitaire humorale

Tous les animaux en expérience ont subi une prise de sang le jour de la vaccination puis à intervalles réguliers après cette dernière. Les anticorps sériques ont été titrés par séroneutralisation sur souris, ou sur cellules («rapid fluorescent focus inhibition test»), selon les méthodes recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (Kaplan et Koprowski, 1974).

Epreuve des animaux

Renards. Ils ont été éprouvés 1 à 18 mois après vaccination par injection, dans les

muscles temporaux, d'une suspension de virus GS 7, titré aussitôt après utilisation (chaque animal a reçu $10^{3.3}$ doses létales 50% par voie intracérébrale/souris ($DL_{50}/ic/souris$)).

Chiens et chats. Ils ont été éprouvés par inoculation dans les muscles masséters (chien) ou cervicaux (chats) d'une suspension de virus NY titré aussitôt après utilisation. Chaque chien a reçu $10^{5.5}$ $DL_{50}/ic/souris$ et chaque chat $10^{6.1}$ $DL_{50}/ic/souris$.

Résultats

Les résultats des essais concernant l'innocuité de la vaccination (recherche de lésions éventuelles au point de contact du vaccin avec la muqueuse buccale, ou d'altération possible de l'état général) ou son efficacité (évaluation de la réponse immunitaire humorale et/ou de la résistance à l'épreuve) sont les suivants.

Chez les renards

Innocuité

Aucun des renards ayant ingéré le vaccin (soit directement, soit en appât) n'a présenté de réaction locale, macroscopiquement visible, de la muqueuse buccale dans les jours suivant l'ingestion. Aucune réaction générale clinique n'a été remarquée au cours d'observations allant de 1 à 18 mois.

Efficacité

Une réponse en anticorps neutralisants (déterminés 30 jours après dépôt direct dans la gueule de 32 renards adultes de vaccin sous forme liquide) apparaît chez tous les renards qui ont reçu 10^8 UFP de vaccin. Le taux de survie des animaux à une épreuve mortelle pour les témoins indique que la résistance conférée est proportionnelle à la dose de vaccin reçue

et totale quand les renards reçoivent 10^7 UFP de vaccin (Tableaux I et II).

Les résultats sont les mêmes lorsque le vaccin est déposé sous forme lyophilisée ou lorsqu'il est inclus dans un appât (Tableau III).

L'immunité conférée par ingestion de 10^8 UFP (forme liquide déposée directement dans la gueule) est totale jusqu'à 18 mois après l'ingestion (Tableau IV).

Chez les chiens et les chats

Innocuité

Les 12 animaux inoculés et les 8 animaux en contact avec eux n'ont présenté aucune réaction locale ou générale durant la période (1 à 3 mois) d'observation.

Efficacité

Une réponse en anticorps neutralisants apparaît chez tous les chiens ayant reçu au moins $10^{9.6}$ UFP et chez tous les chats ayant reçu 10^8 UFP. Six chiens mis en contact avec les chiens vaccinés n'ont pas développé d'anticorps. Les chiens ayant reçu $10^{9.6}$ UFP de vaccin ont tous résisté (4/4) à l'épreuve qui a tué les témoins (5/5) (Tableau V).

Quatre chats mis en contact avec les vaccinés ont présenté une légère réponse en anticorps. Mais l'épreuve virulente a entraîné la mort de ces 4 sujets ainsi que celle de 2 sujets témoins neufs. Par contre, un seul des 4 sujets vaccinés éprouvés a succombé (Tableau VI).

Discussion

L'innocuité du vaccin apparaît complète durant toute la période d'observation des animaux qui ont ingéré le vaccin, quelle

Tableau I. Titres en anticorps antiviral rabique déterminés 30 jours après dépôt direct dans la gueule de 16 renards adultes du vaccin recombinant (liquide) de la vaccine et effets de l'épreuve virulente.

N° du renard	Dose de vaccin (UFP)	Titre en anticorps	Effets de l'épreuve chez les renards vaccinés ^a
408	10 ⁴	1,35	S
427		0	S
428		0	M
429		0	M
416	10 ⁶	0,8	S
425		0,8	S
426		0	M
430		0	M
414	10 ⁸	2,33	S
431		2,61	S
433		2,61	S
451		2,75	S
437	10 ⁸ b	1,91	S
438		2,33	S
447		2,61	S
452		2,75	S

^a M = mort, S = survivant. Les renards ont été éprouvés par une dose de $10^{3.3} DL_{50}/ic/souris$ du virus vulpin sauvage. Les 4 renards témoins non vaccinés et éprouvés sont morts.

^b Les 4 renards ont subi des scarifications de la gueule avant le dépôt du vaccin.

que soit l'espèce considérée. Aucune lésion macroscopique n'a été observée chez les animaux autopsiés après avoir succombé à l'épreuve ou après avoir été euthanasiés.

Cette innocuité avait déjà été constatée chez toutes les espèces étudiées par Rupprecht (1986), Tolson (1987) et Brochier *et al.* (1988).

Les accidents de rage vaccinale rapportés avec les virus vaccins vivants modifiés de la rage (souche SAD) après administration orale expérimentale aux rongeurs, ou accidentelle au chat, n'ont pas été observés dans le cas du recombinant.

Le contact accidentel du virus recombinant avec les muqueuses oculaires ou nasales du renard n'entraîne pas de réaction adverse (observation non publiée des auteurs, concernant un essai sur 4 renards ayant reçu 10⁸ UFP par dépôt direct).

Testée sur un nombre d'espèces animales très supérieur à celui employé pour vérifier celle du vaccin SAD (actuellement utilisé en Europe), l'innocuité du vaccin recombinant apparaît donc actuellement satisfaisante pour les principales espèces européennes susceptibles de consommer, par accident, le vaccin destiné aux renards.

Tableau II. Titres en anticorps antivirus rabique déterminés 30 jours après dépôt direct dans la gueule de 16 renards adultes du vaccin recombinant (liquide) de la vaccine et effets de l'épreuve virulente.

N° du renard	Dose de vaccin (UFP)	Titre en anticorps (UI)	Effets de l'épreuve chez les renards vaccinés ^a
539	10 ⁶	0,08	M
547		0	M
552		0	S
556		2,31	S
542	10 ⁷	13,48	S
543		1,23	S
548		0	S
550		0,96	S
517	10 ⁸	0,46	S
534		6,07	S
537		1,93	S
541		0,08	S
523 ^c	Inconnu ^b	0,09	S
531		0	M
536		0	M
545		0	M

^a M = mort, S = survivant. Les renards ont été éprouvés avec une dose de $10^{3,3}$ DL₅₀/ic/souris de virus vulpin sauvage. Les 2 renards témoins non vaccinés et éprouvés sont morts.

^b Les 4 renards ont été mis en contact avec les renards vaccinés avec une dose de 10⁸ UFP.

^c Ce renard avait été mordu par un congénère vacciné aussitôt après leur mise en contact : ceci expliquerait la séroconversion chez ce sujet, non observée chez les 3 autres.

Si on compare l'efficacité du vaccin entre espèces, il semble bien que ce soit le renard qui réponde le mieux à l'administration par voie orale du vaccin qui lui procure une immunité de durée supérieure à l'espérance de vie moyenne des sujets vivant à l'état sauvage (1 à 3 ans). Chez cette espèce, l'immunité conférée est proportionnelle à la dose de vaccin ingérée. Il avait été démontré précédemment (Wiktor *et al.*, 1984; Blancou *et al.*, 1986) que l'immunité induite par la primo-vaccination n'empêchait nullement une réponse anamnétique après une seconde administration du vaccin.

L'emploi de ce vaccin recombinant en appâts, lors de campagnes d'immunisa-

tion des populations vulpines, apparaît donc comme capable de procurer les mêmes bénéfices que celui du vaccin SAD actuellement utilisé dans 8 pays européens (Pastoret *et al.*, 1987).

Parmi les avantages de ce vaccin, on peut signaler son caractère de stabilité thermique (supérieur à ceux des vaccins à virus rabique modifié) donc son incorporation possible à des formes galéniques très variées, plus économiques. Ses avantages de parfaite innocuité, quant à la valence rabique, sont incontestables. Ils restent à apporter la démonstration d'une innocuité aussi parfaite du virus de la vaccine (déjà confirmée sur 20 espèces

Tableau III. Titre en anticorps antiviral rabique déterminés 30 jours après dépôt direct dans la gueule de renards d'un vaccin lyophilisé, ou distribution d'appâts (tête de poule) dans lesquels était insérée une capsule plastique contenant le vaccin liquide, et résultats de l'épreuve virulente.

N° du renard	Dose de vaccin (UFP)	Titre en anticorps (UI)	Effets de l'épreuve chez les renards vaccinés ^a
645	10 ⁸	0,15	S
662		0	M
644		0,19	S
617		0,04	S
411	10 ⁸ (appâts)	1,07	M
412		11,63	S
420		2,61	S
423		2,19	S
424		1,49	S

^a M = mort, S = survivant. Les renards ont été éprouvés par une dose de $10^{3,3} \text{DL}_{50}/\text{ic}/\text{souris}$ de virus vulpin sauvage. Les 4 renards témoins non vaccinés et éprouvés sont morts.

animales autres que le renard) et son incapacité à se recombiner avec des pox virus existant déjà actuellement dans la nature. Mais la transmission horizontale du virus vaccin recombinant, d'un animal vacciné à un animal neuf, apparaît comme un phénomène très improbable. Elle ne pourrait, en pratique, se produire que si un sujet vacciné possédait encore du vaccin dans la gueule au moment du contact (morsure).

Les chiens et chats se vaccinent, semble-t-il, moins bien. Les chats vaccinés peuvent transmettre une quantité de virus suffisante (à des sujets en contact direct avec eux) pour entraîner une réponse sérologique spécifique, mais non protectrice. Ces résultats restent à confirmer par emploi de doses plus élevées de virus vaccins. Ils sont, quoi qu'il en soit, déjà suffisants pour encourager des essais complémentaires, en particulier chez les chiens, dont les individus errants pourraient bénéficier de la technique de vac-

nation orale, en pays tropicaux (Organisation Mondiale de la Santé, 1987).

Remerciements

Les auteurs remercient vivement Mesdames Jacqueline Bailly, Eveline Cain et Myriam Selve pour l'excellente aide technique apportée dans cette étude.

Références

- Artois M., Andral L., Dubreuil M. & George J. (1982) Contribution à l'étude de la biologie du renard roux (*Vulpes vulpes*). Note 1 : Elevage expérimental en captivité restreinte. *Rev. Méd. Vét.* 133, 249-262
- Baer G.M., Abelse M.K. & Debbie J.G. (1971) Oral vaccination against rabies. *Am. J. Epidemiol.* 93, 487-490
- Blancou J. (1979) Prophylaxie médicale de la rage chez le renard. *Rev. Méd. Vét.* 155, 733-741

Tableau IV. Titres en anticorps antiviral rabique déterminés de 1 à 18 mois après dépôt direct dans la gueule des renards d'un vaccin recombinant titrant 10^8 UFP (liquide) et suivi d'une épreuve virulente.

N° des renards	Titre en anticorps neutralisants (UI) dans les délais suivants après vaccination (mois)					Résultats de l'épreuve chez les renards vaccinés ^a
	1	3	6	12	18	
Epreuve 1 mois après vaccination						
509	2,3	—	—	—	—	S
516	0,8	—	—	—	—	S
538	2,3	—	—	—	—	S
544	0,8	—	—	—	—	S
86 M	1,21	—	—	—	—	S
86 F	1,49	—	—	—	—	S
Epreuve 6 mois après vaccination						
515	0	NT	0	—	—	M
519	1,36	NT	0,23	—	—	S
548	1,36	NT	0,69	—	—	S
549	1,36	NT	0	—	—	M
Epreuve 12 mois après vaccination						
401	0,87	0,04	0,03	0	—	S
402	2,49	0,46	0	0,08	—	S
404	0,46	0,03	0,01	0	—	S
406	24,5	1,12	0,17	0,19	—	S
Epreuve 18 mois après vaccination						
513	1,36	NT	0	0	0	S
518	7,38	NT	0,94	0,42	0,19	S
530	0,97	NT	0,04	0,03	0,03	S
533	1,36	NT	0,19	0,42	0,15	S

^a M = mort, S = survivant. Les renards ont été éprouvés avec une dose de $10^{3,3}$ DL_{50} /ic/souris d'un virus vulpin sauvage. Les 8 renards témoins non vaccinés (2 par groupe) et éprouvés sont morts.
NT = non titré.

Tableau V. Titres en anticorps antivirus rabique déterminés à différents temps après dépôt direct, dans la gueule de 8 chiens, de différentes doses de vaccin recombinant.

N° des chiens	Dose de vaccin (UFP)	Titre en anticorps neutralisants (UI) dans les délais suivants (jour) après vaccination			Résultats de l'épreuve virulente ^a
		7	14	28	
259	10 ^{8,6}	0	0	0	M
403		1,2	3,6	12,6	M
291		0	0	0	M
278		0	0	0	M
280	10 ^{9,6}	2,5	7,9	6,1	S
298		5,1	13,7	13,3	S
404		0,5	3	3,6	S
281		0,6	1,9	3,9	S

^a M = mort, S = survivant. Les chiens ont été éprouvés avec une dose de 10^{5,5} DL₅₀/ic/souris d'un virus canin (NY) 69 jours après vaccination. Deux chiens témoins mis en contact permanent avec les animaux ayant reçu 10^{8,6} UFP et 4 autres chiens en contact avec les animaux ayant reçu 10^{9,6} UFP n'avaient pas développé d'anticorps antivirus rabique après 28 jours de contact. Ils sont tous morts lors de l'épreuve virulente ainsi que 5 témoins neufs non vaccinés.

Tableau VI. Titres en anticorps antivirus rabique déterminés à différents temps après dépôt direct dans la gueule de 4 chats du vaccin recombinant, titres en anticorps aux mêmes dates chez 4 chats non vaccinés restés en contact avec eux, et résultats de l'épreuve virulente.

N° des chats	Titre en anticorps neutralisants (UI) dans les délais suivants (jours) après vaccination ou contact				Résultats de l'épreuve ^a
	10	21	28	71	
Vaccinés (10 ⁸ UFP)					
830	39	39	39	39	S
831	1,2	1,6	1	0,9	M
835	39	39	39	74	S
838	0,9	0,5	1,6	0,5	S
En contact avec les vaccinés					
828	0,5	0,7	0,5	0,9	M
832	0,3	0,3	0,3	0,6	M
833	0,5	0,7	0,4	0,5	M
845	0,5	0,5	0,4	1	M

^a M = mort, S = survivant. Les chats ont été éprouvés par une dose de 10^{6,1} DL₅₀/ic/souris d'un virus canin (NY) 115 jours après leur vaccination. Les 2 chats témoins non vaccinés et éprouvés sont morts.

- Blancou J., Aubert M.F.A., Andral L. & Artois M. (1979) Rage expérimentale du renard roux (*Vulpes vulpes*). 1. Sensibilité selon la voie d'infection et la dose infectante. *Rev. Méd. Vét.* 130, 1001-1015
- Blancou J., Schneider L.G., Wandeler A. & Pastoret P. (1985) Vaccination du renard roux (*Vulpes vulpes* L.) contre la rage par voie orale. Bilan d'essais en station expérimentale. *Rev. Ecol. Terre Vie* 40, 249-255
- 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 P. & Pastoret P.P. (1988) Use of recombinant vaccinia-rabies virus for oral vaccination of fox cubs (*Vulpes vulpes* L.) against rabies. *Vet. Microbiol.* 18, 103-108
- Kaplan M.M. & Koprowski H. (1974) In: *La rage. Techniques de laboratoire*, 3e edn. Organisation Mondiale de la Santé, Genève
- Kieny M.P., Lathe R., Drillien R., Spehner 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
- Organisation Mondiale de la Santé (1987) Report of discussions on oral rabies vaccines, Geneva 13 May 1987. Doc. VPH/87.71
- Panicali D. & Paoletti E. (1982) Construction of pox viruses 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
- 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
- Rupprecht C.E., Wiktor T.J., Johnston D.H., Hamir A.N., Dietzscheld B., Wunner W.H., Glickman L.T. & Kaprowski H. (1986) Oral immunization and protection of raccoons (*Procyon lotor*) with a vaccinia-rabies glycoprotein recombinant virus vaccine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 7947-7950
- Schneider L.G. (1985) Oral immunization of wildlife against rabies. *Ann. Virol. Inst. Pasteur* 136E, 161-165
- Soulebot J.P., Brun A., Chappuis G., Guillemin F. & Tixier G. (1982) Influence of the method of preparation, the route of inoculation, and the species. Comparison of the characteristics of the modified, fixed and wild strains. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 5, 71-78
- Steck F., Wandeler A., Bichsel P., Capt S. & Schneider L.G. (1982) Oral immunization of foxes against rabies. A field study. *Zentralbl. Veterinärmed.* 29B, 372-396
- Tolson N.D., Charlton K.M., Stewart R.B., Campbell J.B. & Wiktor T.J. (1987) Immune response in skunks to vaccinia virus recombinant expressing the rabies virus glycoprotein. *Can. J. Vet. Res.* 51, 363-366
- Wachendörfer G. (1976) Gegenwärtiger Stand der Vakzination von Füchsen gegen Tollwut. *Prakt. Tierarzt.* 12, 801-808
- Wiktor T.J., McFarlan R. & Reagan K. (1984) Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 7194