

## EXPERIENCE DE VACCINATION ANTIRABIQUE DU RENARD PAR VOIE ORALE COORDONNEE ENTRE PLUSIEURS PAYS EUROPEENS ET PERSPECTIVES D'UTILISATION DU VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE

P.-P. PASTORET<sup>1</sup>, J. BLANCOU<sup>2</sup>, B. BROCHIER<sup>1</sup>, I. THOMAS<sup>1</sup>, A. PAQUOT<sup>1</sup>,  
J. DEBRUYN<sup>1</sup>, F. COSTY<sup>1</sup>, F. WOLFF<sup>3</sup>, M. P. KIENY<sup>4</sup>, B. LANGUET<sup>5</sup>, J. P.  
LECOQC<sup>4</sup>, PH. DESMETTRE<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Fo.Re.Ra., Département de Virologie-Immunologie et Pathologie des maladies virales, Faculté de Médecine vétérinaire, U.Lg., 45 Rue des Vétérinaires, B-1070 Bruxelles, Belgique; <sup>2</sup> Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des animaux sauvages, B.P. 9, F-54220 Malzéville, France; <sup>3</sup> Laboratoire de Médecine vétérinaire de l'Etat, 54 Avenue Gaston Diderich, L-1420 Luxembourg, grand-duché de Luxembourg; <sup>4</sup> Transgène S.A., 11 Rue de Molsheim, F-67000 Strasbourg, France; <sup>5</sup> Rhône-Mérieux, Laboratoire IFFA, B.P. 7009, 254 Rue Marcel Mérieux, F-69342 Lyon Cedex 07, France.

**Abstract.** Campaigns of fox vaccination against rabies were carried out in Belgium, grand-duchy of Luxembourg and France in September 1986, June and September 1987. The SAD B19 attenuated strain of rabies virus, contained in baits (Tübingen baits) was used as vaccine. Baits were distributed at a range density of 11 to 15 baits per km<sup>2</sup>. First results are very encouraging. A recombinant vaccinia virus harbouring the rabies virus glycoprotein gene has been developed. This recombinant virus can be given to the fox by the oral route and protects it against rabies virus challenge; it is also innocuous for the fox and other non-target European species. A first trial of fox vaccination against rabies using this recombinant vaccinia-rabies virus has been carried out in Belgium, on a military domain, in October 1987.

**Key words:** rabies, fox vaccination, recombinant vaccinia-rabies virus.

### INTRODUCTION

En tant que méthode de lutte contre la rage sylvatique, la vaccination antirabique du renard a été envisagée depuis plus de 25 ans (Baer, 1975) et a été mise au point en station expérimentale (Blancou *et al.*, 1985; Blancou *et al.*, 1986). Depuis 1978, les essais sur le terrain initiés par le Professeur Steck et effectués en Suisse ont permis d'évaluer l'efficacité et l'innocuité de la souche atténuée SAD du virus rabique. La progression de la rage a pu être arrêtée et des foyers ont pu être éteints; une surveillance rigoureuse n'a pas pu mettre en évidence d'effets secondaires indésirables et les tentatives d'isolement du virus vaccinal chez les micromammifères ont toujours échoué (Steck *et al.*, 1982).

Les campagnes de vaccination menées de 1983 à 1986 en République Fédérale d'Allemagne ont montré que le vaccin développé par le laboratoire fédéral de Tübingen (souche SAD B19 du virus rabique) répondait également aux exigences d'une vaccination menée dans la nature.

En 1986, les campagnes de vaccination ont couvert plus de 20% du territoire de l'Allemagne de l'Ouest. Des campagnes similaires ont été entreprises en Italie en 1984 et 1985 avec la même souche que celle utilisée en République Fédérale d'Allemagne.

Une réunion tenue en Novembre 1985 dans les locaux de la Commission des Communautés Européennes a permis de mettre sur pied un projet européen de vaccination antirabique du renard.

#### COORDINATION DES CAMPAGNES

En 1985, le Département de Virologie-Immunologie et Pathologie des maladies virales de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège a constitué avec le Service de la Rage de l'Institut Pasteur du Brabant à Bruxelles, une A.S.B.L. (Association Sans But Lucratif) intitulée Fo.Re.Ra. (Fonds pour la Recherche contre la Rage) (Pastoret *et al.*, 1987). Le Fo.Re.Ra. a coordonné le projet de vaccination commun à la Belgique, à la France, à l'Allemagne et au grand-duché de Luxembourg, en étroite collaboration avec les autorités compétentes, le Centre de Tübingen et selon les directives formulées par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.).

La réalisation de ce projet a impliqué une collaboration étroite entre, d'une part, des organisations nationales comme le Fonds pour la Recherche contre la Rage, le Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des animaux sauvages (France, sous la direction des Services vétérinaires nationaux et en collaboration avec l'Entente interdépartementale de lutte contre la Rage), l'Administration des Services vétérinaires du grand-duché de Luxembourg avec ses divisions de l'Inspection vétérinaire et du laboratoire de Médecine vétérinaire et le Centre de surveillance et de recherche sur la rage à Tübingen, sous les auspices de l'O.M.S.

Ainsi, une première campagne de vaccination, menée à titre expérimental, a-t-elle eu lieu en septembre-octobre 1986 au grand-duché de Luxembourg, en Belgique et en France. Deux autres campagnes ont été réalisées en Juin et en Septembre 1987. Ces périodes de l'année ont été choisies pour des raisons biologiques, climatologiques et cynégétiques (sortie du terrier et dispersion des renardeaux, température optimale pour la stabilité de l'enrobage graisseux de l'appât et la stabilité du vaccin). Les opérations menées en 1986 ont couvert l'ensemble du territoire grand-ducal (2586 km<sup>2</sup>) ainsi que les régions limitrophes situées en Belgique (1900 km<sup>2</sup>) et en France (720 km<sup>2</sup>), ce qui représente une superficie totale de 5206 km<sup>2</sup>. En Belgique et en France, la vaccination a donc été effectuée en zone frontalière sur une profondeur de 15 à 25 km en vue de constituer une ceinture immunitaire

(incomplète) autour du grand-duché de Luxembourg. Environ quinze appâts/km<sup>2</sup> ont été répartis sur le terrain.

Cette première campagne menée en 1986 a été suivie de deux autres, l'une menée en Juin 1987, l'autre en septembre. En juin 1987, les mêmes zones que celles de 1986 ont été vaccinées. En septembre, la zone de vaccination a été étendue en Belgique vers le nord, de façon à rejoindre la frontière allemande et de ceinturer complètement le grand-duché de Luxembourg, car des campagnes de vaccination similaires ont été organisées en Allemagne le long des frontières grand-ducale et belge à la même époque.

## ORGANISATION DES CAMPAGNES AU NIVEAU NATIONAL

### *Grand-duché de Luxembourg*

Avec une superficie n'atteignant pas 2600 km<sup>2</sup> et dont les trois cinquièmes se trouvent à une distance inférieure à 10 km d'une frontière, le grand-duché de Luxembourg risquait en permanence une réintroduction de la rage à partir des régions voisines si elles n'étaient pas vaccinées. La réussite des opérations sur le territoire présupposait que des campagnes similaires soient organisées simultanément dans les régions frontalières des pays voisins. Le financement de la campagne a été entièrement assuré par des moyens budgétaires provenant du Ministère de l'Agriculture et l'organisation a été placée sous la responsabilité directe des Services vétérinaires et des Eaux et Forêts. La distribution des appâts a été intégralement confiée aux locataires des lots de chasse dont la motivation et l'engagement ont été exemplaires.

### *Belgique*

La campagne de vaccination a été soutenue par les ministères nationaux et régionaux ayant l'Agriculture dans leurs attributions. La campagne a été organisée et exécutée par le Fo.Re.Ra. avec le concours des services de l'inspection vétérinaire, des agents de l'administration des eaux et forêts et des chasseurs.

### *France*

Les campagnes de vaccination ont été réalisées entièrement aux frais de l'Etat, sur le budget du Ministère de l'Agriculture. La distribution des appâts sur le terrain a été effectuée par les gardes de l'Office National de la chasse, des gardes de l'Office national des Forêts, le personnel des services vétérinaires et des chasseurs volontaires. La responsabilité de la surveillance technique des opérations et des prélèvements de contrôle était confiée au Centre National d'Etudes sur la Rage et la pathologie des animaux sauvages. L'Entente interdépartementale de lutte contre la Rage a également collaboré à la préparation et à l'organisation de la campagne, en étroite liaison avec l'Office National de la Chasse et l'Office National des Forêts.

## République Fédérale d'Allemagne

Lorsque l'Allemagne a participé aux opérations menées dans les pays frontaliers (Septembre 1987), son organisation était similaire à celle adoptée pour les autres zones vaccinées sur le territoire.

### RÉSULTATS DES PREMIÈRES CAMPAGNES

Les résultats préliminaires obtenus après la première campagne coordonnée de vaccination ont été publiés séparément (Frisch *et al.*, 1987; Artois *et al.*, 1987; Brochier *et al.*, 1987; Kalpers *et al.*, 1987) et font l'objet d'une autre publication du même volume pour ce qui concerne la Belgique (Hallet, 1988). La totalité des résultats des campagnes menées en 1987 ne sont pas encore disponibles mais sont d'ores et déjà extrêmement encourageants. La rage est en nette régression au grand-duché de Luxembourg et dans la zone vaccinée de Belgique.

### LE VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE

Le virus de la vaccine, utilisé dans la lutte contre la variole, a permis son éradication.

Dès 1982, grâce aux techniques d'ingénierie génétique, les groupes de Paoletti à New York (Panicali *et al.*, 1982) et de Moss au NIH (Smith *et al.*, 1983) ont démontré qu'il était possible d'intégrer, dans le génome du virus de la vaccine, un gène étranger fonctionnel (Lecocq et Kieny, 1985). Le génome du virus de la vaccine est en effet du DNA bicaténaire de grande taille (180 kb) dont la répllication est cytoplasmique; cette dernière propriété permet d'intégrer dans le génome du virus des cDNA fonctionnels sans avoir à y ajouter des introns. Cette technique a été appliquée pour insérer le cDNA de gène codant pour la glycoprotéine du virus de la rage au niveau du gène codant pour la thymidine kinase du virus de la vaccine. Un virus recombinant de la vaccine exprimant la glycoprotéine rabique a été sélectionné (Kieny *et al.*, 1984) et ses propriétés immunogènes ont été étudiées (Kieny *et al.*, 1984; Wiktor *et al.*, 1984). On a ainsi rapidement pu démontrer que des animaux de laboratoire auxquels du virus recombinant avait été administré présentaient, après 14 jours, un taux élevé d'anticorps spécifiques de la glycoprotéine rabique et étaient protégés contre une inoculation d'épreuve réalisée à l'aide d'une souche sauvage du virus rabique.

Ce vaccin a été utilisé chez le renard, par voie orale, et s'est révélé extrêmement efficace et parfaitement inoffensif (Blancou *et al.*, 1986). Il est également efficace chez le renardeau (Brochier *et al.*, 1988, accepté pour publication) et parfaitement inoffensif pour les espèces non-cibles testées jusqu'à présent, dont le sanglier (*Sus scrofa*) et le blaireau (*Meles meles*) (Pastoret et Brochier, 1987). En outre il ne se transmet pas entre les animaux.

Le virus recombinant offre donc, contrairement aux souches atténuées utilisées jusqu'à présent, l'avantage d'une totale innocuité; il est en outre d'une grande stabilité.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE DE VACCINATION ANTIRABIQUE DU RENARD PAR VOIE ORALE, DANS LA NATURE, À L'AIDE DU VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE

Le virus recombinant vaccine-rage s'étant montré extrêmement efficace tout en étant parfaitement inoffensif tant pour l'espèce-cible (renard) que pour les espèces non-cibles, une première expérience de vaccination antirabique du renard, par voie orale, a été menée sur le terrain, en Belgique, à l'aide du virus recombinant. Cette expérience s'est déroulée sur le terrain militaire de Marche (Province de Luxembourg), à l'abri du public, dans une zone d'enzootie rabique, les 24 et 25 octobre 1987.

REFERENCES

- ARTOIS M., CHILLAUD R., 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.
- BAER G. M. (1975). Wildlife vaccination. In: *The Natural History of Rabies, volume 2.* (G. M. Baer. Ed.). Academic Press, New York, pp. 261.
- 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.
- BLANCOU J., SCHNEIDER L. G., WANDELER A. I., 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 Vie)* 40: 249.
- BROCHIER B., IOKEM A., GINTER A., LEJEUNE E., COSTY F., MARCHAL A., PEHARPRE D., COUVREUR J. M., DUFÉY F., 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.
- BROCHIER B., LANGUET B., BLANCOU J., KIENY M. P., LECOCQ J. P., COSTY F., DESMETTRE PH., PASTORET P. P. (1987). Use of recombinant vaccinia-rabies virus for oral vaccination of fox cubs (*Vulpes vulpes*) against rabies. *Vet. Microbiol.* (in press).
- FRISCH R., WOLFF F., KRIER A., BROCHIER B., SCHNEIDER L. G. (1987). Première campagne de vaccination 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.
- HALLET L. (1988). Lutte contre la rage vulpine en Belgique: première campagne de vaccination des renards par voie orale. *Parasitologia* 30: 00-00.
- KALPERS J., BROCHIER B., LEJEUNE E., QUIROGA FERNANDEZ S., KABEMBA M., BAUDUIN B., LÉONARD 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 insectivores. *Ann. Méd. Vét.* 131: 473-478.
- 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.
- LECOCQ J. P., KIENY M. P. (1985). La biologie moléculaire du virus rabique. *Ann. Méd. Vét.* 129: 249-261.
- 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.

- 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.
- PASTORET P. P., BROCHIER B. (1987). La vaccination antirabique du renard par voie orale. *Rev. Méd. Brux.* 8: 246-249.
- SMITH G., MACKETT M., MOSS B. (1983). Infectious vaccinia virus recombinants that express HBV surface antigen. *Nature* 302: 490.
- STECK F., WANDELER A., BICHSEL P., CAPT S., SCHNEIDER L. G. (1982). Oral immunization of foxes against rabies. A field study. *Zbl. Vet. Med.* 29: 372.
- WIKTOR T., MCFARLAN R., REAGAN K., DIETZSCHOLD D., CURTIS P., WUNNER W., KIENY M. P., LATHE R., LECOCQ J. P., MACKETT M., MOSS B., KOPROWSKI H. (1984). Protection from rabies by a vaccinia virus glycoprotein gene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 81: 7194.