

CONSERVATION

Dissémination volontaire du virus recombinant vaccine-rage (VVTGgRAB, souche 187XP 26D3) sur le terrain dans le cadre d'un projet d'éradication de la rage vulpine en Belgique

CAMPAGNES DE VACCINATION ANTIRABIQUE DU RENARD
PAR VOIE ORALE A L'AIDE DU VACCIN RECOMBINANT
NOVEMBRE 1989 • AVRIL 1990 • NOVEMBRE 1990

PROTOCOLE EXPERIMENTAL
RESULTATS

(Etat d'avancement des travaux en juin 1990)

par

BROCHIER B.¹, ZANKER S.¹, BAUDUIN B.¹, LANGUET B.², CHAPPUIS G.²,
DESMETTRE P.², COSTY F.³, HALLET L.⁴ et P.P. PASTORET¹

SUMMARY :

Deliberate release of the vaccinia-rabies virus (VVTGgRAB, strain 187XP 26D3) for the oral vaccination of foxes against rabies in Belgium.

A large-scale field trial using the recombinant vaccinia-rabies virus started in Belgium in November 1989. Twenty-five thousand similar baits each containing 10^8 TCID₅₀ of VVTGgRAB were dropped by helicopters in a 2200 km² area in south Belgium. This campaign has been repeated in April 1990. After the baiting campaign, both efficacy and innocuity of the method were monitored in the field as well as in laboratory. A field control of the bait uptake has shown that 96 % of the baits were either consumed or at least removed by animals after 30 days. After the first vaccination campaign, 23 adult foxes, 33 cats, 9 dogs, 10 stone martens, 1 badger, 1 wild cat and 24 rodents were collected within the treated area for postmortem examination, rabies diagnosis and tetracycline (biomarker) detection. No pox-like lesion could be detected in any specimen.

Seventeen of the 23 (74 per cent) collected foxes were found to be tetracycline positive. The biomarking is also helpful for the detection of bait consuming nontarget species. Tetracycline was detected in feral cats, dogs and stone martens (*Martes foina*).

After the second vaccination campaign, 10 of the 12 (83 %) collected foxes were tetracycline positive. This result can be considered as an excellent score.

¹ Département de Virologie-Immunologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, 45, rue des Vétérinaires, B-1070 BRUXELLES, Belgique.

² Rhône-Mérieux, LYON, France.

³ Institut Pasteur du Brabant, BRUXELLES, Belgique.

⁴ Inspection vétérinaire, Ministère de l'Agriculture, BRUXELLES, Belgique.

INTRODUCTION

Cet essai s'inscrit dans le cadre d'un programme national d'éradication de la rage reposant sur 3 campagnes successives de vaccination antirabique du renard dans la zone contaminée en Belgique. L'efficacité de deux types d'appât-vaccins sera comparée. La souche atténuée SAD B19 du virus rabique (vaccin allemand) est distribuée manuellement sur 8 000 km² et le virus recombinant vaccine-rage (vaccin RHONE - MERIEUX) est distribué sur 2 200 km². Le protocole de l'essai utilisant le virus recombinant a été établi selon les recommandations de l'OMS et en accord avec la proposition de règlement de la Commission des Communautés européenne.

Le projet global de lutte contre la rage par la vaccination du renard est mené conjointement par :

- les **Services de l'Inspection Vétérinaire, Ministère de l'Agriculture** (Ministre P. De Keersmaeker);
- l'**Administration des Eaux et Forêts, Ministère de la Région Wallonne pour l'Environnement** (Ministre E. Hismans);
- le « **Fonds pour la Recherche contre la Rage** » (FO.RE.RA., A.S.B.L. réunissant le **Service de la Rage de l'Institut Pasteur du Brabant et le Service de Virologie de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège**).

La prise en charge financière du programme est assurée par :

- le Ministère de l'Agriculture (Ministre P. De Keersmaeker), le Ministère de la Région Wallonne pour l'Environnement (Ministre E. Hismans) et la Communauté Européenne (projet BAP).

Les deux expériences réalisées précédemment sur le terrain à l'aide du vaccin recombinant ont démontré l'innocuité du procédé. Il reste à juger de son efficacité par trois campagnes successives réalisées à grande échelle.

1. ZONE ET DATES DE VACCINATION

La campagne de vaccination antirabique du renard à l'aide du vaccin recombinant vaccine-rage est menée sur un territoire d'environ **2 200 km²** situé dans la province de Luxembourg en Belgique. Cette zone recouvre les 25 entités communales suivantes : *Léglise, Attert, Messancy, Musson, Etalle, Habay, Meix-devant-Virton, Rouvroye, Florenville, Vaux-sur-Sûre, Martelange, Arlon, Aubange, Saint Léger, Virton, Tintigny, Chiny, Bastogne, Neufchâteau, Herbeumont, Bertrix, Libramont, Fauvillers*. Les communes de Neufchâteau, Libramont, Herbeumont et Bertrix constituaient la zone d'essai en 1988. Le territoire proposé est donc un élargissement de celle-ci vers le Sud et l'Est de façon à couvrir la moitié sud de la province. Les délimitations de cette zone sont administratives (limites d'entités communales au Nord) ou politiques (frontière belgo-luxembourgeoise à l'Est et belgo-française au Sud) (voir **fig. 1**).

La distribution des appâts vaccinaux doit être effectuée en novembre 1989, en avril 1990 et en automne 1990 (dates à préciser).

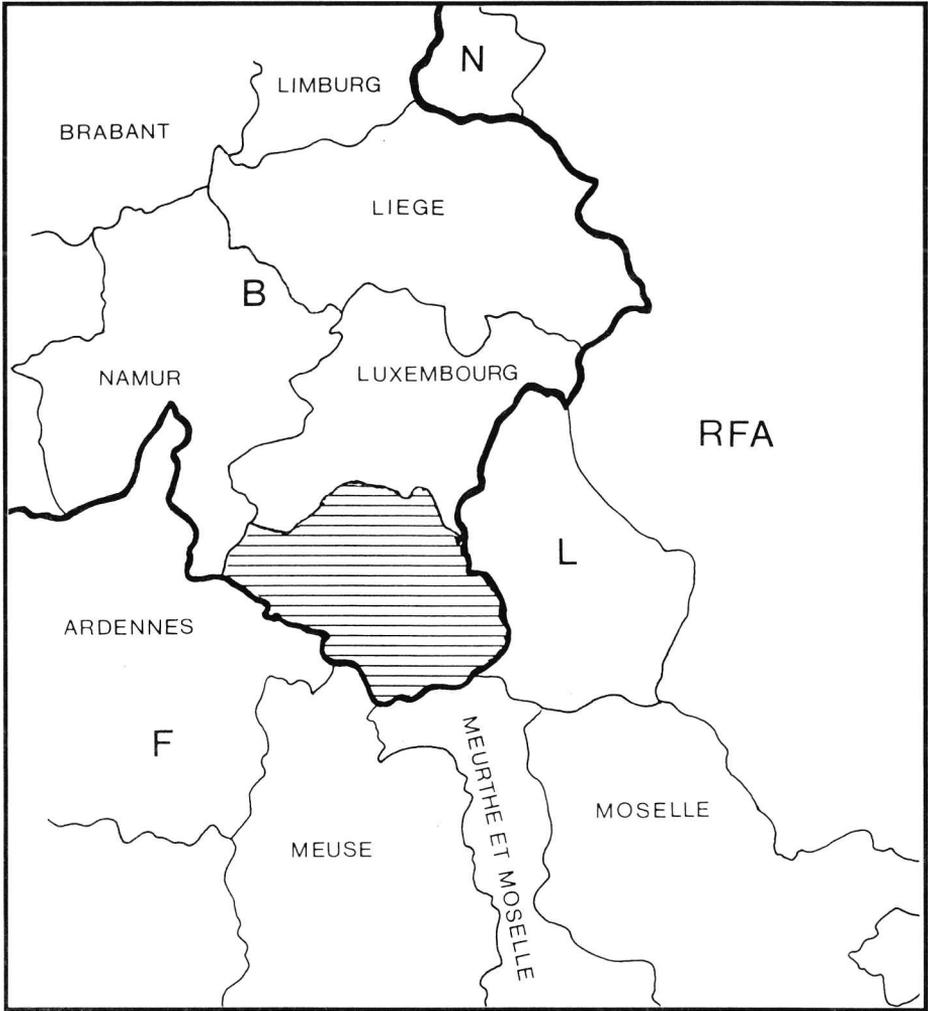


Figure 1. Zone traitée à l'aide du vaccin recombinant.

2. APPAT-VACCIN

La substance appétente et attractive, constituant l'appât proprement dit, est un mélange de 75 % de farine de poisson, de 15 % d'huile de poisson et de 10 % d'un polymère synthétique utilisé comme liant. La tétracycline, utilisée comme marqueur biologique de prise, a été additionnée à ce mélange à raison de 150 mg/ appât. L'appât ainsi formé est un parallépipède de consistance ferme, de nature hydrophobe, dont les dimensions sont 5 X 3 X 2 cm et dont le poids est de 40 g. Il enrobe un sachet en plastique renfermant 108 DICT 50 de VVTGgRAB (sous un volume de 2,5 ml). Le liquide vaccinal est constitué de tampon physiologique additionné de gentamycine (0,05 mg/ml). L'appétence et l'immunogénicité de ce système d'appât-vaccin ont été testées en juillet 89 sur des renards maintenus en station expérimentale. Au cours de cet essai, il a été démontré que l'ingestion volontaire de cet appât protège 90 % (16/18) des animaux contre une inoculation d'épreuve.

En comparaison avec l'appât vaccin allemand (SAD B19), le système appât RHONE-MERIEUX — vaccin recombinant présente les avantages suivants :

- thermostabilité du vaccin et de l'appât (stockage sans congélation, résistance aux conditions climatiques, possibilité de vacciner à n'importe quel mois de l'année, aucune nécessité de placer les appâts à l'ombre ou sous des feuilles).

L'activité de ce système vaccinal est donc garantie quelles que soient les conditions de terrain;

- résistance aux agents physiques (lumière) et mécanique (possibilité de largage aérien);
- absence de pathogénicité pour certaines espèces non-cibles, y compris les rongeurs;
- meilleure efficacité de la prise par renard (pas de rejets de capsules intactes à l'inverse du système d'appât allemand).

CAMPAGNES DE DISTRIBUTION SUR LE TERRAIN : NOVEMBRE 1989 • AVRIL 1990

1. INFORMATION DES AUTORITES LOCALES ET DU PUBLIC

Comme précédemment, l'information des autorités et de la population locale a été prise en charge par les Services de l'Inspection Vétérinaire du Ministère de l'Agriculture. Une lettre circulaire a été adressée :

- aux Bourgmestres des communes concernées;
- au Gouverneur de la Province de Luxembourg;
- aux Commandants de District de Gendarmerie;
- aux Docteurs en Médecine;
- aux Docteurs en Médecine Vétérinaire;
- à la direction des hôpitaux et établissements de soins et de santé;
- à la direction des jardins d'enfants, écoles et instituts d'enseignement;
- à la direction des aires de camping - caravanning;
- aux organisations de jeunesse.

Environ 2000 affiches informatives ont été placardées aux endroits fréquentés par le grand public ainsi que dans chaque village de la zone.

L'opération menée en novembre 1989 a fait l'objet de deux reportages télévisés (RTL - RTBF), de plusieurs émissions radiophoniques (RTBF) et d'articles de presse. L'opération menée en avril 1990 a fait l'objet d'un article de presse (LE SOIR) et d'un reportage télévisé (télévision danoise).

2. LIVRAISON ET STOCKAGE DU VACCIN

Novembre 1989

Vingt-cinq mille doses (24 960) de vaccin recombinant vaccine-rage (souche 26D3-187XP- lot 5U48) ont été produites et conditionnées en appâts par le laboratoire Iffa (RHONE-MERIEUX). Après livraison en Belgique, le stock d'appâts vaccinaux (78 boîtes isothermes contenant 320 doses) a été immédiatement transféré dans une chambre froide (> 0° C et < 12° C) située au domicile de Monsieur Bernard Bauduin à Juseret (commune de Vaux sur Sûre).

Dix doses de vaccins du lot 5U48 ont été soumises à un contrôle (Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Ministère de la Santé publique) avant la distribution sur le terrain.

Avril 1990

Trente-deux mille sept cent nonante-huit doses de vaccin recombinant vaccinage (souche 26D3-187XP- lots 9 RLV 0A-011, 0 RLV OB-021 et 0 RLV 0C-031) ont été produites et conditionnées en appâts par le laboratoire Iffa (RHONE-MERIEUX). Après livraison en Belgique (24/10/89), le stock d'appâts vaccinaux (103 boîtes isothermes contenant 320 doses) a été immédiatement transféré dans une chambre froide ($> 0^{\circ} \text{C}$ et $< 12^{\circ} \text{C}$) située au domicile de Monsieur Bernard Bauduin à Juseret (commune de Vaux sur Sûre).

Dix doses de vaccins des trois lots ont été soumises à un contrôle (Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Ministère de la Santé publique) avant la distribution sur le terrain.

3. DISTRIBUTION AERIENNE DES APPATS SUR LE TERRAIN

Agenda :

Novembre 1989

La première campagne a débuté le jeudi 2 novembre 1989 et s'est terminée le 15 novembre 1989.

Autorisations :

- A la suite de la requête du Ministère de l'Agriculture, l'Administration de l'aéronautique a donné à la compagnie Abatros l'autorisation de largage dans le secteur défini;
- l'autorisation de survoler le camp militaire d'Arlon (domaine de Lagland) a été accordée par le Colonel Breveté d'Etat Major M. Dieu (sous-section relations extérieures — ETAT MAJOR DE LA FORCE TERRESTRE);
- une demande d'autorisation d'atterrissage sur certains terrains de football situés dans la zone a été introduite par les Services de l'Inspection Vétérinaire (2 circonscriptions) auprès des autorités communales concernées. Les bourgmestres de ces communes ont répondu favorablement par lettre écrite.

Avril 1990

Les opérations ont débuté le lundi 2 avril 1990 et se sont terminées le 7 avril 1990.

Cette période de l'année est particulièrement favorable pour les raisons suivantes :

- comme la densité de population vulpine atteint son minimum annuel, on vaccine un pourcentage plus élevé de renards;
- la concurrence exercée par les espèces non-cibles est réduite vu que, premièrement la densité de population des espèces sauvages a également atteint son minimum annuel et, deuxièmement, on opère après la saison de chasse (réduction du nombre de sangliers et de chiens compétiteurs dans la prise d'appâts);
- le faible nombre d'herbivores domestiques au pâturage permet de traiter correctement les prairies;
- comme l'opération se déroule avant la flambée de croissance végétale, le largage aérien des appâts est plus efficace (moins de pertes).

Assurances :

- Trois polices d'assurances destinées à couvrir les risques inhérents aux opérations ont été prises. Les preneurs sont la Compagnie aérienne ABATROS AIR ACADEMY, le FORERA et RHONE-MERIEUX.
- Les précautions suivantes sont prises pour les personnes qui manipulent les appâts-vaccins et les dépouilles d'animaux récoltés pour contrôle de laboratoire :
 - vaccination préventive contre la rage + sérologie annuelle;
 - vaccination préventive contre le tétanos;
 - port de gants jetables lors des autopsies d'animaux sauvages;
 - suivi sérologique pour les infections à Hantavirus et pour les infestations à *Ecchinococcus multilocularis*.

Organisation de la distribution aérienne :

La distribution des appâts a été effectuée par voie aérienne à l'aide d'un hélicoptère biplace de type ROBINSON R22 (Compagnie privée ABATROS — Grimbergen). Trois personnes de l'équipe scientifique se sont relayées pour le largage des appâts sur le terrain. A cet effet, un caisson de largage pouvant contenir un maximum de 900 appâts a été adapté à l'appareil. Seuls les villes, les villages, les axes routiers, les plans d'eau et l'intérieur des gros massifs forestiers (forêts d'Anlier, de Rulles et de Bouillon) n'ont pas été traités. La répartition des appâts sur la zone de 2 200 km² a été effectuée à raison de 11,5 par km² en moyenne. Chaque séance de vol (environ une heure à une heure et demi) a permis de couvrir un territoire d'environ 30 - 50 km² à l'aide de 800 appâts. Chacun de ces secteurs a préalablement été défini sur carte d'Etat-Major à l'échelle 1/50 000e et délimité par des axes linéaires facilement repérables (routes, lignes à haute tension, chemins de fer et rivières). Par la suite le pilote a établi des plans de vol plus précis et permettant 2 (avril 1990) ou 3 (novembre 1989) passages par km². Certains biotopes ont été mieux traités que d'autres; ainsi, les lisières, les bords de cours d'eau, les boqueteaux et les haies ont été favorisés à l'inverse des gros massifs forestiers et champs cultivés. De plus, les appâts ont été placés à une distance minimale de 200 mètres des habitations humaines et de 50 mètres des routes asphaltées.

La zone à traiter a été survolée à une altitude de 60 à 100 mètres et à une vitesse de 70 à 90 miles/heure. Ce vol à basse altitude permet un largage relativement précis et aucun accident consécutif au largage d'appâts n'a été déploré.

Les aires d'atterrissage requises pour l'approvisionnement en carburant et en appâts furent les terrains de football des villages de *Mageret, Amberloup, Clochimont, Bercheux, Witry, Neuwillers, Nevraumont, Herbeumont, Chiny, Rossignol, Tintigny, Louftemont, Tontelange, Rachecourt, Vance, Saint Léger et Meix devant Virton*. L'atterrissage sur ces terrains a été autorisé par lettre écrite par les bourgmestres des communes concernées suite à la requête des services de l'inspection vétérinaire des deux circonscriptions compétentes.

Chaque nuit, l'hélicoptère a été entreposé à l'aérodrome civil de Saint-Hubert [(heures d'ouverture et de fermeture : 9 - 17 heures (novembre 1989) et 9 - 20 heures (avril 1990)]. Le pilote était logé dans un hôtel à Saint-Hubert.

Equipe de sol :

L'équipe de sol était composée de 1 ou 2 personnes (en plus de celle chargée du largage aérien des appâts) véhiculées par deux voitures. Cette équipe assurait d'une part le ravitaillement en appâts et en carburant et d'autre part se chargeait du placardage d'avis publics dans la zone survolée.

Durée de l'opération :

Celle-ci a été directement liée aux conditions météorologiques.

Novembre 1989

Il fut possible d'effectuer un maximum de 5 séances de vol (d'1 heure) par jour. Au total, la distribution de 23 000 doses sur 2 200 km² a duré 65 heures réparties sur 12 jours.

Avril 1989

Il fut possible d'effectuer un maximum de 7 séances de vol (d'1 à 1.30 heure) par jour. Au total, la distribution de 25 400 doses sur 2 200 km² a duré 45 heures réparties sur 6 jours.

4. CONTROLES ET SURVEILLANCE

4.1. Contrôles d'efficacité sur le terrain

THERMOSTABILITE DU VIRUS ET RESISTANCE DE L'APPAT AUX FACTEURS CLIMATIQUES ET BIOLOGIQUES

Méthode :

Au jour 0, 18 appâts ont été séquestrés dans une cage suspendue afin de les rendre inaccessibles aux animaux. Les températures minimales nocturnes et maximales diurnes ont été enregistrées quotidiennement du jour 0 au jour 30. Quatre appâts ont été prélevés aux jours 0, 4, 8, 15, 30 et 180 pour être directement conservés à -70° C. Le titre viral est déterminé par une technique de titrage en microméthode sur culture de cellules VERO. Avant congélation, les propriétés attractives (consistance, odeur et aspect) des appâts ont été évaluées.

Résultats :

Etude en cours

CONTROLE SUR LE TERRAIN DE LA PRISE D'APPATS

Méthode :

Ce contrôle a été effectué à la suite de la première campagne de vaccination (novembre 1989).

Les relevés de la prise d'appâts par les animaux ont été réalisés dans une zone couvrant 5 km² de terrain. Au jour 0, 73 appâts vaccinaux furent déposés sur ce territoire (15 appâts/km²). Chaque appât a été contrôlé aux jours 4, 8, 15 et 30. 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.

Résultats :

Tableau I. Nombres d'appâts consommés ou emportés.

Jour 0	Jour 4	Jour 8	Jour 15	Jour 30
72 appâts	17/72	32/72	59/72	69/72
	24 %	44 %	82 %	96 %

Discussion :

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus lors de l'essai terrain mené en 1988 et confirment le pouvoir attractif de l'appât utilisé.

Dans les conditions climatiques locales, les appâts perdent en général leur propriétés attractives après un mois de séjour sur le terrain. Comme le montrent ces résultats, ce délai d'un mois correspond à la prise de la plupart (96 %) des appâts distribués. La durée d'activité du vaccin et du pouvoir appétent de l'appât utilisé correspondent donc aux délais de consommation par les animaux.

4.2. Contrôle d'efficacité et d'innocuité en laboratoire

1. RECOLTE DE PRELEVEMENTS

Méthode :

Les agents techniques de l'Administration des Eaux et Forêts et les chasseurs ont été sollicités pour la récolte de renards (tués ou trouvés morts) et d'autres animaux sauvages ou domestiques (trouvés morts). Les vétérinaires praticiens locaux ont également été invités à fournir des dépouilles de chiens et de chats. Ces animaux ont été soit directement transmis au Fo.Re.Ra., soit acheminés à l'Institut Pasteur du Brabant par les soins des Services de l'Inspection Vétérinaire (Circonscription du Dr Bertholet).

Des captures de renards vivants ont été réalisées en 1990 par une équipe de déterreurs. Cette technique de capture nous permettra de disposer de renardeaux de moins d'un mois. Il sera possible d'étudier la transmission de l'immunité spécifique. Des micromammifères seront capturés vivants à l'aide de pièges de type INRA. Ceux-ci seront posés à proximité (distance maximale de 10 mètres) de 4 x 20 appâts séquestrés dans des cages et rendus inaccessibles aux grands prédateurs.

Résultats :

- Récolte de renards adultes :

Vingt-trois renards adultes ont été récoltés dans la zone de vaccination durant la période **du 1^{er} janvier au 1^{er} avril 1990**, soit après la première campagne de distribution d'appâts vaccinaux.

Douze renards adultes ont été récoltés dans cette même zone durant la période **du 1^{er} avril au 12 juin 1990**, soit après la seconde campagne de distribution d'appâts.

- Récolte de renardeaux non sevrés :

Au mois d'avril, **9 renardeaux âgés de 10 à 15 jours** appartenant à trois nichées différentes ont été capturés par déterrage au terrier.

- Récolte de renardeaux sevrés :

Dix sept renardeaux de 1 à 2 mois ont été obtenus durant la période **du 1^{er} mai au 12 juin 1990**.

Il convient de signaler que la collecte de renards s'est révélée plus difficile qu'auparavant et ce pour les deux raisons suivantes : • suppression en 1989 de la prime de 500 FB octroyée par le Ministère de l'Agriculture pour la destruction de renards; • surcharge de travail des agents techniques de l'Administration des Eaux et Forêts à la suite des dégâts forestiers occasionnés par les tempêtes.

- Récolte de carnivores domestiques :

De novembre 1989 à juin 1990, 33 chats et 9 chiens ont été acheminés à l'Institut Pasteur par les soins des Services de l'Inspection vétérinaire.

- Récolte de carnivores sauvages autres que le renard :

De novembre 1989 à juin 1990, 10 fouines (*Martes foina*), 1 chat sauvage (*Felis sylvestris*) et 1 blaireau (*Meles meles*) ont été récoltés dans la zone vaccinée.

- Récolte de micromammifères :

Vingt quatre rongeurs (16 *Apodemus* sp. et 8 *Clethrionomys glareolus*) ont été capturés à proximité de 4 x 20 appâts séquestrés dans des cages accessibles aux rongeurs uniquement.

L'appâtage de ces micromammifères a été effectué le 20 mars 1990; la capture de ceux-ci a eu lieu à partir du 20 avril (soit 1 mois après dépôt des appâts).

Seulement 3 / 80 appâts ont été consommés entièrement par des rongeurs (sachets vaccinaux percés). Nous avons en effet pu constater que seule la couche appétente externe de l'appât était grignotée par ces animaux. La couche interne, qui enrobe le sachet vaccinal, est plus solide et est généralement demeurée intacte. Il est donc peu probable de capturer le ou les quelques sujets qui ont été en contact avec le liquide vaccinal de l'un de ces 3 appâts.

2. AUTOPSIE

Méthode :

Tous les animaux récoltés ont été autopsiés. Une attention particulière fut portée à la présence éventuelle de lésions de type pox (exanthème vésiculo-pustuleux, croûtes,...) au niveau de la muqueuse digestive et des téguments.

Toute lésion suspecte serait soumise à une analyse virologique approfondie (microscopie électronique, immunofluorescence indirecte et technique d'amplification génique).

Résultats :

L'autopsie des 61 renards (35 adultes, 9 juvéniles non sevrés et 17 juvéniles sevrés), des autres carnivores et des 24 rongeurs récoltés dans cette zone d'essai n'a révélé aucune lésion suspecte de type pox au niveau des téguments ou de la cavité buccale.

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

Méthode :

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.

La détermination de la souche virale (vaccinale ou sauvage) responsable de l'infection s'effectue grâce à un test d'immunofluorescence indirecte utilisant deux anticorps monoclonaux : le MAK 1 (NC 239.17) réagissant avec toutes les souches de virus rabique connues (y compris les virus apparentés) et le MAK 2 (NC 187.5.10) réagissant avec toutes les souches de virus rabique isolées en Europe mais pas avec la souche vaccinale ERA/SAD. Par déduction, le schéma réactionnel suivant est obtenu : si le virus test réagit avec les deux anticorps monoclonaux, il s'agit d'une souche sauvage. S'il ne réagit qu'avec le MAK 1, il y a suspicion de rage vaccinale (éventuellement contractée à

la suite de l'ingestion du vaccin SAD B19 utilisé précédemment dans cette zone, ou contractée dans les régions voisines qui ont été traitées à l'aide de ce dernier vaccin). Les deux anticorps monoclonaux anti-nucléocapsides et anti-glycoprotéine mentionnés ci-dessus proviennent du « WHO Collaborating Centre of Rabies Surveillance and Research » de Tübingen (RFA).

Résultats :

Tableau II

	ANIMAUX RAGE +
RENARDS ADULTES	10/34
RENARDS JUVENILES	0/5
FOUINES	3/10
BLAIREAU	1/1
CHATS	11/33
CHIENS	1/9

L'identification de la souche de virus rabique à l'aide d'anticorps monoclonaux a permis de certifier que les animaux sauvages positifs étaient bien morts de rage sauvage et non de rage vaccinale (éventuellement contractée après ingestion d'appâts SAD B19 distribués dans les régions contiguës).

4. DETECTION DE LA TETRACYCLINE DANS LES OS

Méthode :

La tétracycline (TC) (chlorure de tétracycline), substance inoffensive, est utilisée comme marqueur de prise et est additionnée au mélange graisseux constituant l'appât (150 mg/appât). La solubilisation de la tétracycline est réalisée par alcalinisation de l'eau distillée (solvant) (400 ml d'eau distillée + NaOH + 120 g de chlorure de tétracycline = 800 appâts). La tétracycline a la propriété de se déposer dans les couches appositionnelles des os, surtout chez les individus en croissance. Ces dépôts concentriques, surtout observés autour des canaux de Havers et sous le périoste, sont mis en évidence en examinant des coupes transversales d'os au microscope à lumière ultraviolette.

Résultats :

Détection de la tétracycline chez le renard

Au total, **17/23 (74 %) renards adultes** récoltés durant la première période de contrôle (une seule campagne de vaccination ayant été réalisée) étaient tétracycline-positifs. Parmi les 9 animaux enrégés, 6 possédaient la tétracycline.

10/12 (83 %) renards adultes récoltés durant la seconde période de contrôle (après deux campagnes de vaccination) étaient tétracycline-positifs. Le seul animal enrégé possédait la tétracycline.

**Tableau III. RESULTATS DES TESTS DE DETECTION DE TETRACYCLINE
ZONE VVTGgRAB**

RENARDS ADULTES	PERIODE 1/01/90 - 01/04/90		TOTAL 17/23 74 % TC+
	ANIMAUX SAINS 11/14	ANIMAUX ENRAGES 6/9	
	PERIODE 01/04/90 - 12/06/90		TOTAL 10/12 83 % TC+
	ANIMAUX SAINS 9/11	ANIMAUX ENRAGES 1/1	
RENARDS JUVENILES	1/9	/	1/9
FOINES		4/10	
CHAT SAUVAGE	1/1	/	1/1
CHATS*	4/22	0/11	4/33
CHIENS*	2/8	0/1	2/9

* les résultats positifs doivent être considérés avec réserve; certains chiens et chats peuvent avoir incorporé de la TC dans leurs os à la suite d'un traitement médical (administration orale ou parentérale).

Discussion :

Les 3/4 des renards environ ont consommé au moins un appât vaccinal. Un tel score peut être considéré comme excellent après une seule campagne de distribution d'appâts. Le taux de prise d'appâts obtenu dans la zone traitée à l'aide du vaccin recombinant est nettement plus élevé que celui enregistré dans la zone traitée à l'aide du vaccin SAD B19. Ce meilleur résultat peut être dû :

- au mode de distribution aérienne qui assure une répartition uniforme sur le terrain;
- à la période de l'année durant laquelle les opérations de distribution ont été effectuées (VVTGgRAB : novembre, SAD B19 : septembre). La densité de population vulpine est plus réduite en novembre qu'en septembre. D'où la possibilité de toucher une plus grande proportion d'individus.
- à certaines qualités de l'appât lui-même (meilleure persistance du pouvoir attractif; meilleure stabilité sur le terrain).

Le taux de prise d'appâts par l'espèce cible atteint 83 % après la seconde campagne. Un tel résultat laisse espérer qu'un nombre suffisant de renards (75 % de la population) sont réellement immunisés. Si une telle couverture vaccinale est atteinte, l'efficacité de la transmission de la maladie doit être considérablement réduite.

Les résultats de ce test reconfirment également la concurrence exercée par certaines espèces non-cibles dans la prise d'appâts. La fouine et le chat haret semblent être les espèces les plus compétitrices.

5. EXAMENS SEROLOGIQUES

Méthodes :

Du sang est prélevé chez les animaux capturés vivants. Le sérum obtenu après centrifugation (10' à 2000 rpm) est ensuite congelé à -20° C. La bonne qualité de ces prélèvements permet une analyse sérologique fiable.

Sérologie « rage »

- A. La détection d'anticorps antirabiques est réalisée à l'aide d'une technique d'inhibition de foyers fluorescents (*rapid focus fluorescent inhibition test* : RFFIT). Cet examen sérologique est effectué en double aveugle par deux laboratoires. Le premier utilise la technique en microméthode tandis que le second utilise celle en macrométhode. Les titres en anticorps antirabiques sont exprimés en Unités Internationales par ml par comparaison avec un sérum immun standard. Un titre supérieur à 0,5 U.I./ml est considéré comme seuil de protection.
- B. Les anticorps spécifiques dirigés contre le virus de la rage sont également déterminés par une méthode immunoenzymatique indirecte (ELISA). L'antigène viral (glycoprotéine ou nucléocapside) purifié est adsorbé sur une phase solide. Les anticorps présents dans un sérum à titrer sont révélés, après couplage, par un conjugué Peroxydase anti-IgG spécifique de l'espèce.

Sérologie « vaccine »

Les anticorps spécifiques dirigés contre le virus de la vaccine sont déterminés par une méthode immunoenzymatique indirecte (ELISA). L'antigène viral (souche Copenhague du virus de la vaccine) purifié est adsorbé sur une phase solide. Les anticorps présents dans un sérum à titrer sont révélés, après couplage, par un conjugué Peroxydase anti-IgG spécifique de l'espèce (des anticorps anti-IgG de chien seront utilisés pour l'analyse des sérums de renards et de mustélidés).

Résultats :

Du sérum de bonne qualité a pu être obtenu chez 5 renards adultes, 8 renardeaux sevrés et 6 renardeaux non sevrés (appartenant à 3 nichées différentes) capturés vivants dans la zone de vaccination.

Détermination des anticorps rage :

- Une séroconversion envers le virus de la rage (titre > 0,5 U.I.) a pu être mise en évidence chez 1/4 renardes.
- **Des anticorps d'origine maternelle ont été détectés chez 3/6 renardeaux non sevrés.** Cette immunité passive a été observée chez les sujets de 2/3 nichées.

Tableau IV

NICHEE 1	3 RENARDEAUX	SERONEGATIFS
NICHEE 2	1 RENARDEAU	SEROPOSITIF
NICHEE 3	2 RENARDEAUX	SEROPOSITIFS

Les analyses des sérums restants (1 renarde adulte + renardeaux sevrés) sont en cours de réalisation.

Détermination des anticorps vaccine : **Analyses en cours.**

6. BILAN EPIDEMIOLOGIQUE PRELIMINAIRE

Méthode :

La campagne de vaccination menée en octobre 1988 était trop limitée dans le temps et dans l'espace pour pouvoir évaluer son impact sur l'évolution de la zoonose dans la région traitée. L'analyse épidémiologique doit en effet prendre en considération les variations spatiales des populations vulpines et de la rage.

De plus, l'assainissement d'une région ne peut être obtenu qu'à la suite de plusieurs campagnes successives de vaccination.

Un bilan épidémiologique valide pourra cependant être déposé à la suite des 2 campagnes programmées en novembre 1989 et avril 1990 sur un territoire qui cette fois est suffisamment étendu. Ce bilan sera établi sur base des nombres mensuels de cas de rage animale dans la zone de vaccination de 1989 à 1990 et permettra d'évaluer l'efficacité des opérations.

Résultats :

La **figure 2** donne l'évolution du nombre de cas de rage animale dans la zone traitée (données arrêtées au 25 juin 1990). Cette même figure montre que depuis le début de l'année 1990 l'incidence de la rage est en diminution tant chez le renard que chez les espèces domestiques. Il est important de signaler que le pic annuel de rage vulpine généralement observé en février - mars n'est pas apparu en 1990.

N CAS DE RAGE ANIMALE

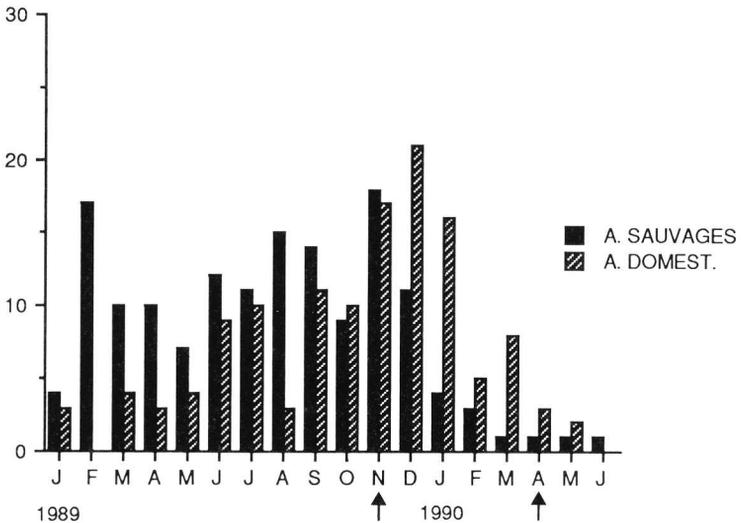


Fig. 2. Evolution du nombre de cas de rage dans la zone de vaccination à l'aide du virus recombinant vaccine-rage. Flèches : campagnes de vaccination. Données arrêtées au 25 juin 1990.

CONCLUSIONS

Les premiers résultats obtenus au terme des deux campagnes de vaccination à l'aide du vaccin recombinant sont très encourageants. Le test de détection de tétracycline (marqueur de prise d'appâts) a en effet pu montrer qu'à la suite de ces campagnes le taux de prise d'appâts vaccinaux par l'espèce cible est supérieur à 75 % (l'immunisation de 75 % de la population vulpine permet d'interrompre le cycle de l'infection rabique). De plus, à la suite de ces campagnes, le nombre de cas de rage animale recensé dans la zone traitée a drastiquement diminué. Ces bons résultats semblent être dus :

- au recours à la technique de distribution aérienne;
- à l'amélioration du système appât-vaccin;
- aux périodes de l'année durant lesquelles les opérations de vaccination ont été menées.

Durant les mois qui ont suivis la distribution d'appâts, les vétérinaires, les agriculteurs, les agents techniques des Eaux et Forêts et les chasseurs de la région n'ont relevé aucune pathologie ou mortalité suspectes dans les populations d'animaux sauvages et domestiques qui peuplent la zone d'essai. En matière de santé publique, aucun incident n'a été signalé par les médecins locaux. De plus, l'autopsie des animaux récoltés dans cette zone n'a révélé aucune lésion suspecte. L'innocuité du procédé semble donc confirmée. Un bilan définitif sera dressé à la suite de la troisième et dernière distribution prévue en automne 1990.

REFERENCES

- 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.
- BROCHIER B., BLANCOU J., THOMAS I., LANGUET B., ARTOIS M., KIENY M.P., LECOCQ J.P., COSTY F., DESMETTRE P., CHAPPUIS G., PASTORET P.-P., 1989. — Use of recombinant vaccinia-rabies glycoprotein virus for oral vaccination of wildlife against rabies : innocuity to several non-target bait consuming species. *Journal of Wildlife Diseases*, **25** (4) : 540-547.
- BROCHIER B., THOMAS I., BAUDUIN B., LEVEAU T., PASTORET P.-P., CHAPPUIS G., DESMETTRE P., BLANCOU J., ARTOIS M., 1990. — Use of a vaccinia-rabies recombinant virus for the oral vaccination of foxes against rabies. *Vaccine*, **8** : 101-104.
- BROCHIER B., LANGUET B., ARTOIS M., ZANKER S., GUITTRE C., BLANCOU J., CHAPPUIS G., DESMETTRE P., PASTORET P.-P., 1990. — Efficacy of a baiting system for fox vaccination against rabies with vaccinia-rabies recombinant virus. *The Veterinary Record*, sous presse.
- PASTORET P.-P., BROCHIER B., LANGUET B., THOMAS I., PAQUOT A., BAUDUIN B., KIENY M.P., LECOCQ J.P., DE BRUYN J.P., COSTY F., ANTOINE H., DESMETTRE P., 1988. — First field trial of fox vaccination against rabies using a vaccinia-rabies recombinant virus. *The Veterinary Record*, **123** : 481-483.