

Du diagnostic de la rage vulpine à son élimination

Bilan de l'activité du Laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages de Nancy en matière de rage. ⁽¹⁾

Fox Rabies : from diagnosis to eradication

Report from the Laboratory of research on rabies and wildlife diseases in Nancy.

Par Michel AUBERT ^(*)
(mémoire reçu le 20 février 2003)

RÉSUMÉ

Après un bref rappel historique, et en ne retenant que les travaux les plus importants rapportés dans plus de 930 publications, l'auteur analyse les résultats obtenus par le Laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages de Nancy depuis 1970 dans le cadre de ses différentes missions.

En matière de diagnostic de la rage, les techniques ont été régulièrement évaluées et affinées et le Laboratoire fut le premier à publier, en 1970, un bulletin épidémiologique mensuel national.

Le vaccin de la rage animale a été contrôlé lot par lot depuis 1980 (2 560 tests) : la plupart de ses paramètres de validité, ainsi que les réactions immunitaires des espèces cibles, ont fait l'objet de travaux expérimentaux dont les résultats ont été appliqués sur le terrain ou dans la réglementation nationale.

Dans le domaine de la pathogénie de la rage, les conséquences des travaux du Laboratoire furent très importantes en épidémiologie prédictive, puisqu'ils démontrèrent l'existence d'une barrière d'espèce et soulignèrent l'erreur de la destruction d'espèces non vecteurs.

Les études sur l'éthologie du renard ont démontré la relative inutilité de la destruction systématique des renards et ont conduit à l'abandon de cette mesure au profit de leur vaccination par voie orale. C'est d'ailleurs l'étude et la mise au point de cette méthode qui ont permis l'éradication de la rage en France : l'efficacité et l'innocuité des vaccins français, ainsi que leur méthode de distribution sur le terrain, étudiées à Nancy, ont servi de modèle au niveau international.

Enfin, au titre de Centre collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), de laboratoire de référence de l'Office international des Epizooties (OIE) et de laboratoire de référence de la Communauté Européenne, le Laboratoire a également assuré des missions d'expertise ou de formation de cadres dans de très nombreux pays, ainsi que la conduite d'essais inter-laboratoires qui ont été à l'origine de l'abandon des mesures de quarantaine dans plusieurs pays.

Mots-clés : rage, prophylaxie, faune sauvage, renard, vaccination orale.

Notes

(*) Directeur de l'AFSSA Nancy, Laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages, (B.P. 9, 54220 Malzéville), de 1990 à 2000. Actuellement, Directeur de l'AFSSA Sophia Antipolis, Laboratoire d'études sur la pathologie des petits ruminants et des abeilles.

(1) Le Laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages de Nancy est l'un des laboratoires de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), établissement public créé le 1^{er} avril 1999 et placé sous la triple tutelle des Ministères en charge de la santé humaine, de l'agriculture et de la consommation. De 1988 à 1999 ce Laboratoire était rattaché au Centre national d'études vétérinaires et alimentaires (CNEVA). De 1971 à 1988 il était connu sous le nom de Centre d'études sur la rage, puis de Centre national d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages, et il faisait partie du réseau des Laboratoires nationaux des services vétérinaires.

SUMMARY

After giving a brief background and a description of the most significant works reported in over 930 publications, the author analyses the work which has been carried out since 1970 by the Laboratory of Research on Rabies and Wildlife Diseases in Nancy, as part of its various assignments. Techniques used to diagnose rabies have been evaluated and improved on a regular basis and the Laboratory was the first to publish, in 1970, a monthly national bulletin on epidemiology. The rabies vaccine for veterinary use has been tested batch by batch since 1980 (2,560 tests): the results of experiments testing most of the validation parameters, as well as immune responses in the target species, were applied in the field or incorporated in the national legislation. The Laboratory's work has had a major impact on predictive epidemiology, as it demonstrated the existence of a species barrier and proved that destroying non-vector species was of no use. Studies on fox ethology have shown the relative ineffectiveness of the systematic destruction of this species, and as a result, this measure was replaced by oral vaccination. It is in fact these studies and the development of this vaccination method which led to the eradication of rabies in France: the effectiveness and safety of French vaccines, as well as their method of distribution in the field, which were tested in Nancy, served as a model on an international level.

Finally, as the Collaborating Centre of the World Health Organization (WHO), as the reference laboratory of the Office International des Epizooties (OIE), and as the reference laboratory of the European Union, the Laboratory in Nancy also carried out expert assignments and training programmes for professionals in numerous countries, as well as inter-laboratory trials, which have prompted several countries to give up their quarantine measures.

Key words: *rabies, prophylaxis, wildlife, fox, oral vaccination.*

• INTRODUCTION

Après un silence de près de 50 ans, le 26 mars 1968, un cas de rage était enregistré en France dans le département de la Moselle. Il s'agissait, en fait, du premier cas de l'enzootie de rage du renard qui allait déferler sur notre pays. Depuis cette date, soit en 30 ans, 49 771 cas ont été diagnostiqués par les laboratoires, 40 301 d'entre eux concernaient des espèces sauvages et 9 470 des espèces domestiques.

42 départements situés dans le nord-est du pays ont été atteints par l'enzootie et 58 cas dits "erratiques" ont été signalés dans des régions jusque là indemnes situées loin des zones atteintes.

Dans les pages qui suivent, nous résumerons les principales actions menées contre cette enzootie par le laboratoire créé en 1971 à Nancy-Malzéville avec pour mission de se consacrer au diagnostic et à la recherche sur la rage.

• UN PEU D'HISTOIRE

Les Services Vétérinaires du ministère de l'Agriculture n'avaient pas attendu l'arrivée de la rage sur notre territoire pour encourager le contrôle des populations de renards dans un but prophylactique et maintenir un service chargé du diagnostic de cette maladie au Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires de Maisons-Alfort. Mais l'arrivée de la rage dans l'est fit naître l'inquiétude du public des

régions contaminées et les premières mesures pour la combattre suscitèrent également des critiques qui amenèrent le ministère de l'Agriculture et les élus à organiser une réponse plus régionale et plus appropriée à ce problème nouveau.

Le 1^{er} mars 1971, un bâtiment édifié à Malzéville (en Meurthe-et-Moselle) par le département est confié à l'Etat. Ce laboratoire est rattaché au plan administratif au réseau des Laboratoires Nationaux des Services Vétérinaires sous le vocable de "Centre d'Etudes sur la Rage". En 1972 une station expérimentale y sera annexée pour héberger des renards pour lesquels des vaccins nouveaux devaient être mis au point. Grâce à des améliorations successives, les infrastructures du laboratoire sis à Malzéville couvrent aujourd'hui 1 270 m² (comprenant un laboratoire de biologie moléculaire), et la station expérimentale rassemble 200 m² de laboratoire, 140 cages pour carnivores sous abris et des animaleries pouvant héberger 36 carnivores en conditions L3.

L'équipe du laboratoire, à l'origine constituée de deux docteurs vétérinaires et de moins de 10 techniciens, a été considérablement renforcée pour lui permettre d'assurer une plus grande diversité de missions successivement sous la direction du Docteur Vétérinaire Louis ANDRAL (jusqu'en 1983) puis du Docteur Vétérinaire Jean BLANCOU dont j'ai assuré la succession en 1990. Le laboratoire héberge aujourd'hui quelques 50 agents de statuts divers (dont 10 cadres scientifiques ou étudiants en thèse) et est

dirigé par le Docteur Florence CLIQUET qui fut ma collaboratrice pendant huit ans.

• LE DIAGNOSTIC DE LA RAGE

La première mission du laboratoire fut d'assurer le diagnostic de la rage à vocation épidémiologique⁽²⁾. Ce travail obscur est toujours poursuivi. Il est considérable puisqu'à ce jour (21 octobre 2002) nous enregistrons le 123 183^e prélèvement. Mais le laboratoire ne s'est pas contenté de pratiquer ce diagnostic de manière répétitive : il en a publié régulièrement les résultats de manière analytique (BARRAT 1984, BARRAT et AUBERT, 1983 à 1987, BARRAT et AUBERT, 1988 à 1990, SYKES-ANDRAL et ANDRAL, 1974, SYKES-ANDRAL et ANDRAL, 1973, 1974, 1975, 1978, SYKES-ANDRAL, 1977, 1978, 1979, 1980, 1982), il en a évalué la fiabilité (AUBERT et ANDRAL, 1982) et développé de nouvelles méthodes plus rapides, fiables et moins coûteuses (BARRAT *et al.*, 1988). De plus, la publication des résultats du diagnostic effectué par tous les laboratoires en France sous la forme d'un bulletin mensuel a été assurée dès 1970 à l'initiative du Docteur ANDRAL. Cette publication n'a jamais souffert aucune interruption. Diffusée aux autorités sanitaires nationales et départementales, médecins vaccinateurs, organisations d'élevage... elle représente le bulletin épidémiologique français vétérinaire actuellement publié le plus ancien.

Ces données ont de plus servi de base à des études d'épidémiologie prospectives classiques (ANDRAL et TOMA, 1977) ou plus élaborées mettant en œuvre la modélisation mathématique pour l'aide à la décision (DAVID *et al.*, 1982).

• LE CONTRÔLE DES VACCINS ANTIRABIQES

L'instruction des dossiers d'autorisation de mise sur le marché et le contrôle de l'activité des vaccins antirabiques à usage vétérinaire est la seconde mission de service public du laboratoire.

Tous les lots mis sur le marché dans notre pays sont contrôlés, ce qui représente quelque 2 560 tests depuis 1980. Ce contrôle systématique est rare pour les vaccins vétérinaires⁽³⁾. Outre qu'il permet d'écartier les lots d'activité trouvée insuffisante (en proportion de 1/40 en 1997), cette pratique régulière des tests d'activité nous⁽⁴⁾ a conduits à étudier la validité de ces tests (AUBERT, 1981) et à proposer des méthodes plus simples qui ont été adoptées par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et par l'OIE

(Office International des Epizooties) (AUBERT et BLANCOU, 1982). De plus, nous avons pu fournir aux producteurs des éléments chiffrés leur permettant d'ajuster leur production pour éviter les rejets (AUBERT, 1992).

Soucieux d'assurer la meilleure protection des animaux domestiques vaccinés, nous avons étudié les conditions réelles de la pratique vétérinaire et l'influence d'erreurs pouvant conduire à un vieillissement accéléré des vaccins. Les résultats obtenus furent plutôt rassurants : bien que les vaccins liquides adjuvés puissent perdre une partie de leur activité s'ils subissent des cycles de congélation-décongélation qui ont pu survenir dans certaines circonstances de la pratique bovine (BLANCOU *et al.*, 1984), la promotion de cette vaccination a permis de protéger très efficacement le cheptel bovin (ANDRAL et TOMA, 1977). D'autre part, l'étude de la pratique vétérinaire citadine a démontré que les chiens vaccinés dans notre pays sont correctement immunisés. (BLANCOU *et al.*, 1980) Nous avons montré que les chats produisent autant d'anticorps et résistent aussi bien à une épreuve virulente que les chiens (GANIERE *et al.*, 1989). Grâce à ces résultats, les chats vaccinés ont pu bénéficier des mêmes dérogations réglementaires à l'abattage en cas de contamination.

• ÉTUDE DE LA PATHOGENIE DE LA RAGE

Le déferlement spectaculaire de la rage et la mortalité considérable qu'elle provoquait chez le renard rendaient nécessaire une réévaluation de toutes les connaissances antérieures accumulées sur la rage du chien. Ces connaissances qui au demeurant méritaient d'être approfondies chez le chien ne pouvaient être transposées aussi simplement au renard. Nous avons donc entrepris un patient travail de recherche sur cette maladie au nouveau visage.

D'abondantes études sur le cortège ectoparasitaire des renards et des essais de contamination croisée entre tiques et renards ont permis d'écartier l'hypothèse controversée d'un rôle de réservoir des arthropodes parasites (AUBERT, 1982). L'utilisation de nombreuses tiques à différents stades de développement, appartenant à plusieurs espèces spécifiques du renard et d'autres carnivores sauvages, l'utilisation de renards de tous âges rendent ces résultats particulièrement robustes.

Plus fertile en résultats fut la réalisation d'une série d'expériences sur la sensibilité de diverses espèces hôtes aux virus isolés chez le renard. La compilation de ces nombreuses expériences a permis d'établir une échelle de sensibilité aux isolats d'origine vulpine et une échelle de la capacité de ces espèces, notamment le chat (figure 1), à produire et à excréter ces virus dans leur salive. Ces deux

Notes

(2) pour des raisons de compétences ministérielles, le diagnostic de la rage sur animaux mordeurs devait être assuré par des laboratoires relevant du Ministère en charge de la santé. Jusqu'à l'été 1990, le Laboratoire central de recherche vétérinaire de Maisons-Alfort a également assuré le diagnostic de la rage sur animaux non-mordeurs originaires de la région parisienne.

(3) et actuellement inexistant pour les vaccins antirabiques humains !

(4) Tout au long de ce texte, le pronom "nous" renvoie à la communauté scientifique du laboratoire.

échelles ne sont aucunement corrélées mais en les comparant à l'incidence de la maladie observée chez chaque espèce et en tenant compte de l'effectif des différents cheptels sensibles, il a été possible d'analyser les paramètres déterminant la propagation des différents types de rage : sensibilité propre de ces espèces, fréquence des rencontres avec l'espèce réservoir primaire, comportement vis-à-vis de celle-ci, capacité d'excrétion virale salivaire, propension à mordre. La résultante de ces paramètres détermine en fin de compte la capacité pour une espèce nouvellement contaminée d'être ou de ne pas être réservoir de la maladie (BLANCOU, 1988).

A ce niveau nous avons introduit le concept de biotype (BLANCOU, 1986). Des études de pathogénie comparée



Figure 1 : Chat enragé. (Photographie AFSSA Nancy)

entre le renard et le chien contaminés expérimentalement avec des isolats homologues ou hétérologues nous ont révélé qu'au sein d'un même sérotype viral, des variations infimes peuvent déterminer une co-adaptation à une espèce réservoir donnée ou au contraire, un manque d'adaptation vis-à-vis d'une autre espèce pourtant fort proche. En ce qui concerne les virus sauvages vulpins et canins, cet écart est spectaculaire puisqu'il suffit de moins d'une DL₅₀/ic/souris pour tuer un renard ou un chien avec leur virus respectif alors qu'il faut multiplier cette dose par plus de 1 000 000 pour tuer un chien avec un virus de renard et qu'il semble même impossible de transmettre en toute certitude la rage à un renard en lui inoculant du virus de chien, quelle que soit la dose (BLANCOU et AUBERT, 1997).

Cette simple observation a des conséquences très importantes en épidémiologie prédictive : elle explique pourquoi, en Europe occidentale, le renard est le seul vecteur d'une rage qui lui est spécifique et comment les pays infectés peuvent progressivement maîtriser cette épizootie

par la vaccination de cette seule espèce. Elle permet aussi d'apaiser la crainte de certains pays indemnes de rage du renard, d'en être victimes par l'importation non maîtrisée de chiens en incubation de rage ou de chauves-souris.

Ces recherches ont permis de préciser l'extrême sensibilité du renard à "son" virus (BLANCOU *et al.*, 1979) ainsi que l'existence de mécanismes de rétroaction qui pourraient expliquer comment se régule l'équilibre entre pouvoir infectieux et morbidité du virus qui se révèle capable de tuer chacun de ses hôtes successifs sans exterminer l'espèce indispensable à sa survie : les renards contaminés avec des doses très élevées de virus meurent plus rapidement et excrètent le virus dans leur salive moins fréquemment et moins abondamment que des renards contaminés par des doses très faibles (AUBERT, 1992). Ces derniers peuvent alors subir des incubations de plus de 9 mois et commencer à excréter leur virus jusqu'à 29 jours avant l'installation de la période clinique (AUBERT *et al.*, 1991). Ces observations illustrent le fait que l'avènement des méthodes de biologie moléculaire n'ont pas fait perdre aux études de pathogénie comparée sur les hôtes, leur caractère indispensable à la compréhension des mécanismes épidémiologiques.

• ETHOLOGIE DU RENARD

L'étude du renard enragé conduite en station expérimentale et à partir des témoignages des nombreux observateurs de terrain (SYKES-ANDRAL, 1982) ne nous dispensait pas d'une approche éthologique conduite sur des renards dans leur milieu naturel. Ces renards étaient piégés, munis d'un collier émetteur et relâchés. Le suivi d'une dizaine de renards sains a révélé leurs habitudes journalières, l'intensité des relations inter-individuelles, et surtout leur adaptabilité à des situations variées façonnées par l'homme, révélations importantes chez un animal que l'on disait solitaire et "sauvage". Chaque individu se cantonne sur une aire d'activité et de repos qu'il occupe généralement seul, mais il est remarquable d'observer que dans un délai d'une semaine un renard peut s'approprier le territoire d'un voisin venant de disparaître. Chaque renard apparaît donc parfaitement informé de la présence des congénères qui l'entourent. Entre ceux-ci les contacts ne sont donc pas déterminés par le hasard (ARTOIS *et al.*, 1990). Puisque ces contacts sont volontaires, ils ne peuvent être réduits au prorata de la diminution de la densité des renards - ce qui nous suggérait déjà la relative inutilité de la réduction des populations de ce vecteur.

Nous avons également suivi par radio-pistage six renards enragés et obtenu des observations qui ont bouleversé certains présupposés antérieurs : les renards enragés ne quittent pas leur territoire - s'ils le font, ils n'opèrent alors qu'une courte incursion chez leur voisin immédiat qui défend alors son territoire. Ces connaissances plaident à

nouveau pour la vaccination des renards : puisque les renards s'opposaient aux incursions intempestives de leurs voisins malades, nous pouvions en faire nos meilleurs alliés contre l'avancée de la maladie à condition de pouvoir les immuniser eux-mêmes (ARTOIS et AUBERT, 1985). La comparaison des pyramides d'âge des renards en zone contaminée et en zone indemne démontrait que la rage contribuait également à rajeunir les populations, les rendant par la même plus instables et plus mobiles (ARTOIS et AUBERT, 1982). La vaccination des renards apparaissait donc également comme un facteur favorisant le vieillissement démographique, donc la stabilité géographique défavorable à la propagation de la maladie (AUBERT et ARTOIS, 1988).

- **MISE AU POINT DE VACCINS ADMINISTRABLES AU RENARD PAR VOIE ORALE**

Cette approche multidisciplinaire intégrée correspondait à la volonté du premier directeur du laboratoire de substituer aux schémas épidémiologiques classiques, prophylaxie écologique plus rationnelle et à long terme plus efficace (ANDRAL et JOUBERT, 1975). Mais puisqu'il n'était pas possible d'attendre que le renard soit de nouveau confronté à la pression de super prédateurs qui le concurrençaient dans notre pays, puisque la contraception du renard n'était pas encore techniquement envisageable, la recherche fut orientée dès 1972 vers la vaccination orale du renard (DUBREUIL *et al.*, 1979).

Ayant pris le soin de vérifier que l'utilisation de virus inactivé administré au renard par voie orale n'induisait pas de protection, nous avons testé successivement le pouvoir protecteur de plusieurs souches atténuées : Flury, SAD, CVS... Toutes étaient hautement protectrices pour le renard mais retenaient encore un pouvoir pathogène chez d'autres espèces non cibles : rongeurs sauvages, carnivores sauvages, voire renardeaux... sans même évoquer le risque d'un pouvoir pathogène (résiduel ?) pour l'Homme. L'utilisation de mutants thermosensibles apparaissaient être une voie prometteuse, mais malgré plusieurs résultats positifs obtenus sur souris et renards, elle ne fut pas poursuivie : la réversion de ces mutants thermosensibles était trop fréquente lorsqu'ils étaient administrés à des animaux de laboratoire.

Nous recherchâmes alors la collaboration de laboratoires de virologie fondamentale et les motivèrent à nos besoins. Deux approches parallèles furent menées :

- l'isolement de mutants apathogènes du virus de la rage - à partir du CVS (FLAMAND *et al.*, 1984), puis à partir du SAD-Bern pour bénéficier des essais d'innocuité accumulés avec cette dernière souche. Cette approche fut

assurée par le laboratoire génétique des virus au CNRS de Gif-sur-Yvette (Docteur Anne FLAMAND).

- la création d'un vaccin recombinant vaccine-rage. Ces travaux furent conduits par les Laboratoires Transgène - Strasbourg - (Docteur Marie-Paule KIENY).

Nous conduisîmes alors un très grand nombre d'expériences sur le renard en station expérimentale et sur le terrain afin de nous assurer du pouvoir protecteur de ces virus pour le renard (ARTOIS *et al.*, 1993, AUBERT *et al.*, 1993, BLANCOU *et al.*, 1986, MASSON *et al.*, 1996, SCHUMACHER *et al.*, 1993). Il convenait également de vérifier leur extrême atténuation sur le renard et sur de très nombreuses espèces non cibles (ARTOIS *et al.*, 1992, MASSON et AUBERT, 1993, MASSON *et al.*, 1996), y compris sur des primates non humains (BINGHAM *et al.*, 1997) considérés comme modèle d'une contamination accidentelle humaine (MASSON *et al.*, 1997).

- **LA VACCINATION ORALE DES RENARDS**

Contrairement à d'autres équipes européennes, nous avons privilégié la prudence avant d'utiliser sur le terrain des vaccins que nous avons tenté de développer en station dès 1972⁽⁵⁾. Nous ne voulions en effet pas prendre le risque de substituer à un danger connu (la progression de la rage vulpine), l'éventualité d'une rage d'origine vaccinale se propageant chez d'autres espèces sauvages (ANDRAL, 1982). Les responsables de l'OMS eux-mêmes, bien que considérant avec beaucoup d'attention et d'intérêt les opérations de distribution d'appâts vaccinaux organisées par le Professeur Franz STECK en Suisse depuis 1978, n'encourageaient pas d'autres pays à faire de même. Leurs réticences furent levées lorsque la technique des anticorps monoclonaux rendit possible la distinction entre rage d'origine naturelle et rage d'origine vaccinale.

Les premières opérations de vaccination des renards sur le terrain en France débutèrent en 1986, consistant à déposer sur le terrain des appâts d'abord primitifs (têtes de poulet), puis fabriqués industriellement, contenant une capsule plastique emplies de vaccin (figure 2).

Entreprises le long des frontières belge et luxembourgeoise, afin d'appuyer les opérations conduites par nos voisins, elles furent poursuivies dans cette région jusqu'en 1989. Mais les résultats en furent décevants, en partie par suite du ré-envahissement des zones vaccinées à partir de la Belgique à nouveau contaminée mais aussi parce que les surfaces étaient trop réduites (AUBERT *et al.*, 1994). En revanche, la vaccination entreprise en Haute-Savoie appuyée sur des opérations similaires conduites en Suisse, libéra ce département de la rage dès 1989.

Notes

(5) De fait, la souche SAD-Bern, utilisée dès 1972 sur le terrain en Suisse s'est révélée plusieurs années plus tard hautement pathogène pour le babouin. Le risque est donc grand que cette souche soit également très pathogène pour l'homme. Fort heureusement cette souche qui n'est plus utilisée dans ce pays depuis 1991 (et ne le fut jamais en France), n'a provoqué aucun accident de personne.

Il apparaissait donc tout indiqué d'organiser des plans de vaccination plus ambitieux en respectant scrupuleusement quelques règles dictées par l'expérience acquise et nos connaissances sur la biologie du renard. Le renouvellement des populations de renards étant très rapide, la vaccination doit être répétée plusieurs années jusqu'à éradication locale de la maladie. Notre plan visait à couvrir d'emblée des surfaces très étendues et d'un seul tenant afin de limiter l'interface entre zones contaminées et zones traitées, et à s'appuyer sur des territoires non contaminés, en l'occurrence la moitié sud-ouest de notre pays (AUBERT, 1995).

Sur notre proposition, le système d'encouragement à la destruction des renards (prime à la queue de renard) a été



Figure 2 : Appât éclaté contenant une capsule de vaccin de la rage, destiné à l'immunisation du renard contre cette maladie. (Photographie AFSSA Nancy)

totalemment supprimé en 1990. La totalité des moyens financiers engagés pour la lutte contre la rage permettait alors d'augmenter la surface vaccinée (AUBERT, 1994).

En 1989, le nombre de cas de rage enregistrés chez les animaux sauvages atteignait un record sans précédent (4 213), se traduisant par une avancée importante du front au nord de Paris jusqu'à la Manche, et dans le centre par le franchissement de fleuves qui avaient jusqu'alors constitué des barrières naturelles : la Seine, la Loire et l'Allier (Figure 3). Nous avons alors commencé à constituer une barrière immunitaire continue de la Manche à la frontière Suisse et au Rhin, afin de protéger le sud-ouest de la France. Cette barrière fut terminée à l'automne 1990 et

couvrait 54 792 km², soit près de 41 % de la zone contaminée. La vague de rage vint s'y briser au printemps 1990 (AUBERT ET LEMOYNE, 1995).

Il s'agissait ensuite d'étendre progressivement vers le nord-est les zones vaccinées jusqu'à atteindre les frontières de l'Est. La totalité de la zone contaminée a été couverte à l'automne 1992. Cette année-là, les traitements conduits à l'automne et au printemps ont totalisé 192.418 km². Au fur et à mesure de l'élimination de la rage des zones traitées, la surface vaccinée a été diminuée. Chaque année, de 1991 à 1997 avec une régularité remarquable, la vaccination orale des renards a produit une diminution d'incidence de l'ordre de 60 % réduisant à néant en 1997 la surface contaminée qui avait couvert plus de 142 000 km² (Figure 3).

Parmi tous les pays qui ont mis en œuvre la vaccination orale des renards, la France est le seul qui ait ainsi obtenu un succès continu. De plus, c'est aussi le pays qui, s'étant libéré de la rage, a utilisé au total le moins d'appâts vaccinaux rapportés à la surface contaminée au début du programme.

Ce succès n'est pas dû au hasard mais s'explique d'une part par la rigueur de l'évaluation technique et scientifique qui a accompagné ces campagnes et d'autre part par notre rapidité d'adaptation à des situations nouvelles. Ces campagnes furent exécutées sur le terrain par un personnel technique spécialement entraîné et dirigé par un ingénieur⁽⁶⁾. Ces agents suivaient des protocoles précis et en rendaient compte par écrit à l'aide de documents chiffrés et cartographiés qui assuraient une traçabilité totale. Aussi étrange que cela puisse paraître, le titrage des appâts — avant largage, en cours de période de largage et à la fin des largages — n'est organisé de manière systématique qu'en France. Le suivi de l'efficacité des campagnes de vaccination est effectué en continu à partir de renards tués ou trouvés morts selon un plan d'échantillonnage précis et repose sur l'analyse de 2 indicateurs biologiques : la présence de tétracycline dans les dents comme marqueur de prise⁽⁷⁾ et la mesure du titre en anticorps antirabiques dans le sérum des renards.

Ce suivi nous a permis de réagir immédiatement à des situations mal maîtrisées (thermolabilité des appâts ou titre insuffisant de certains lots d'appâts vaccinaux) ou à des situations écologiques nouvelles. Alors que nous observions d'année en année une diminution des pourcentages de renards vaccinés et parallèlement une augmentation des populations de renards, nous y avons répondu par des mesures adaptées : développement d'appâts thermostables et appétissants pour le renard, augmentation du titre vaccinal des appâts, de la densité de largage des appâts, et par

Notes

(6) Agents de l'Entente interdépartementale de lutte contre la rage ou techniciens des services vétérinaires en poste dans différentes Directions des Services Vétérinaires ou au laboratoire de Malzéville.

(7) De la tétracycline est en effet incorporée dans les appâts et se dépose dans les dents des renards qui consomment ces appâts.

des protocoles originaux : largages de vaccins à 15 jours d'intervalle pour induire un effet de rappel, vaccination des renardeaux par dépose d'appâts à l'entrée des terriers (VUILLAUME *et al.*, 1997).

• COLLABORATION INTERNATIONALE

La rage est une maladie qui préoccupe tous les pays. Ceux qui en sont infectés veulent s'en débarrasser, les autres s'en préserver. En qualité de Centre Collaborateur de l'OMS pour la recherche et l'organisation en matière de lutte contre les zoonoses, nous avons été appelés à des consultations dans de nombreux pays en développement dans le but de participer à l'élaboration de plans de lutte concertés et nous accueillons un grand nombre de scientifiques en formation de ces pays (290 mois x stagiaires en 1997).

Nous avons plus particulièrement développé des programmes spécifiques de coopération avec la Tunisie visant à l'organisation de plans de lutte concertés : épidémiologie, surveillance de la rage, production de vaccins antirabiques vétérinaires, vaccination systématique des chiens, évaluation des actions conduites, recherche sur la mise au point d'une vaccination orale des chiens non accessibles à la vaccination parentérale. Ce programme a contribué à la diminution de la rage humaine dans ce pays (HAMMAMI *et al.*, 1988).

Comme pour tout laboratoire de recherche, notre activité ne pourrait être productive sans une collaboration avec de nombreux laboratoires étrangers. Celle-ci est plus particulièrement développée en matière de vaccinologie : évaluation de l'efficacité des vaccins sur animaux captifs, mise au point et évaluation de méthodes de vaccination à l'échelle des populations. Nous avons pris l'initiative d'organiser des réunions annuelles, et pluri-annuelles européennes pour promouvoir une harmonisation des plans et techniques d'épidémiologie et de lutte contre la maladie, et afin d'assurer une meilleure coordination entre pays européens. Cette activité soutenue au cours du temps, appuyée par un travail scientifique internationalement reconnu a contribué à la nomination de l'AFSSA Nancy en tant que laboratoire communautaire de référence de l'Union Européenne en mars 2000.

• L'AVENIR DU LABORATOIRE

A la faveur de son approche du milieu naturel, le laboratoire a étendu ses activités vers d'autres domaines propres à la santé de la faune sauvage. Par une approche généraliste, il organise le recueil de données de terrain et à partir de celles-ci, il participe à la réflexion épidémiologique (réseau SAGIR). Par une approche plus spécifique, il a abordé l'épidémiologie analytique ou opérationnelle

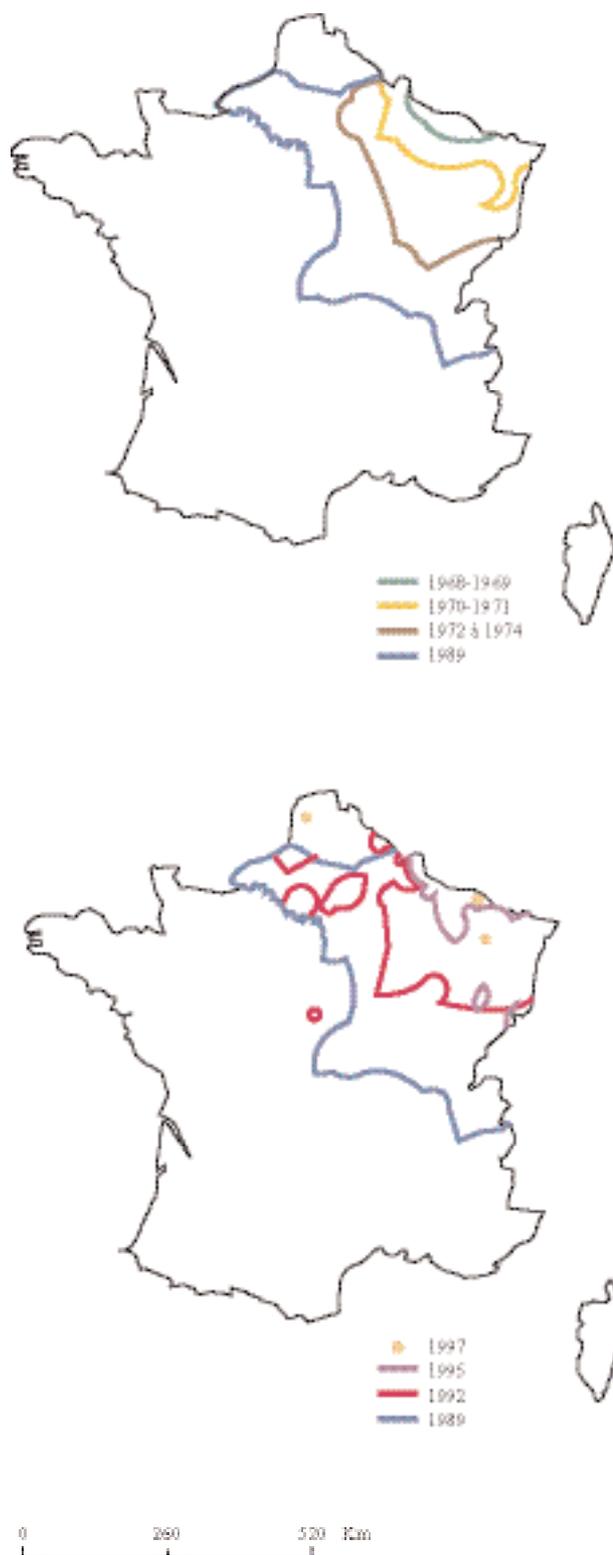


Figure 3 : Déplacement du front de la rage vulpine en France avant le début des opérations de vaccination orale des renards contre la maladie (de 1968 à 1989), puis après ces opérations (de 1989 à 1997) (Document AFSSA Nancy, cartes élaborées par Claire Combeau)

d'autres zoonoses à point de départ sauvage (trichinose, échinococcose alvéolaire dont le renard est réservoir) ou de maladies partagées par la faune sauvage ou domestique (peste porcine classique du sanglier).

Selon les besoins, ces approches seront poursuivies et amplifiées, mais, pour des raisons historiques la rage restera probablement longtemps la première mission du laboratoire. En excluant les cas survenus en 1997 dans notre pays à moins d'un kilomètre de notre frontière avec la Sarre, les derniers cas de rage du renard ou d'origine vulpine remontent à octobre 1996. Cette enzootie est maintenant éliminée de notre sol mais sa persistance à nos frontières est restée longtemps préoccupante. L'introduction de renards en incubation peut d'autant plus probablement constituer le départ d'une nouvelle enzootie que l'accroissement démographique des renards est considérable. C'est pour être prêt à répondre à un tel défi que le laboratoire tout en poursuivant des recherches sur l'immunisation du renard contre la rage a débuté depuis 1993 un programme de recherche sur l'immunocontraception du renard. A plus long terme cette approche pourrait également être étendue à d'autres espèces : le chien ou des espèces introduites déprédatrices (ragondin entre autres).

L'introduction régulière dans notre pays de chiens en incubation de rage illustre la nécessité d'assurer une veille scientifique. Celle-ci pourra être entretenue à la faveur de programmes de coopération avec les pays du sud où persiste ce type d'enzootie.

Tout naturellement nos préoccupations rejoignent maintenant celles des pays indemnes de rage : éviter l'im-

portation de carnivores incubant la maladie. A ce titre et à la demande de l'OIE nous nous sommes penchés sur les moyens de permettre un contrôle raisonné de l'introduction de carnivores vaccinés évitant la quarantaine (AUBERT, 1993). La maîtrise de techniques spécifiquement adaptées à cette question (CLIQUET *et al.*, 1998) place notre laboratoire au centre d'un dispositif de contrôle à l'importation qui s'établit progressivement aux frontières de l'Union Européenne.

Enfin, l'actualité récente démontre que la rage des chiroptères peut apparaître partout sans qu'il soit possible de la prévoir, y compris dans des régions du monde que l'on proclamait indemnes de rage : Australie, Iles Britanniques. Dans ce domaine tout reste à faire : l'épidémiologie balbutie et surtout aucune méthode prophylactique applicable au niveau des réservoirs n'est encore envisageable.

• CONCLUSION

Près de 30 ans après la décision du ministère de l'Agriculture de créer des moyens spécifiques pour étudier la rage afin de mieux lutter contre elle, et après avoir dégagé les moyens nécessaires à cette lutte, notre pays a sans aucun doute mérité ce succès prophylactique. Nous emprunterons en guise de conclusion la formule lapidaire que prononçait jadis le Professeur REMLINGER, Directeur de l'Institut Pasteur de Tanger, et que se plaisait à rappeler le Docteur ANDRAL : "Les pays ont toujours la rage qu'ils méritent".

REMERCIEMENTS

L'action conduite par l'AFSSA-Nancy intéresse des domaines étendus de la recherche en laboratoire à l'application et à l'évaluation d'une prophylaxie sur le terrain. Nos collaborations ont donc été tournées vers les écoles vétérinaires, des laboratoires universitaires, des laboratoires du CNRS, de l'INRA et des laboratoires étrangers. L'approche du terrain nous a toujours été grandement facilitée par l'Office national de la chasse dont les gardes nous ont permis d'obtenir les renards nécessaires à nos analyses. Le ministère chargé de la Défense Nationale a, durant de nombreuses années, mis à la disposition du Laboratoire des vétérinaires du contingent qui ont contribué au succès des opérations de prophylaxie sanitaire et médicale de la rage. Les Directions des services vétérinaires, les laboratoires vétérinaires départementaux, les vétérinaires et le public ont été les acteurs d'un réseau fiable d'épidémiosurveillance. Les élus départementaux regroupés au sein de l'Entente interdépartementale de lutte contre la rage ont apporté une contribution financière et en personnel décisive pour l'application de la vaccination orale sur le terrain. Les naturalistes lorrains nous ont guidés au début de nos premières expérimentations sur renards. Le réseau de surveillance de la rage des chauves-souris auquel contribue la Société française pour l'étude et la protection des mammifères s'appuie sur les très nombreuses observations d'amateurs bénévoles. Enfin, le soutien moral et financier de la Direction générale de l'alimentation du ministère de l'Agriculture qui fut constant et considérable explique grandement les succès obtenus.

BIBLIOGRAPHIE

Cette liste limitée pour des raisons éditoriales ne rend que très partiellement compte de l'activité scientifique du laboratoire. Une bibliographie complète peut être obtenue sur simple demande auprès de celui-ci.

- ANDRAL L (1982) Vaccination des renardeaux en Allemagne. *Chasseurs de l'Est* **25** (8), 25
- ANDRAL L, JOUBERT L (1975) Epidémiologie et prophylaxie écologique de la rage. *Médecine et Maladies Infectieuses*, **5** (3), 183-189
- ANDRAL L, TOMA B (1977) La rage en France en 1976. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **153** (7-8), 503-508.
- ANDRAL L, TOMA B (1978) La rage en France en 1977. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **154** (5), 473-477.
- ARTOIS M, AUBERT MFA (1982) Structure des populations (âge et sexe) de renards en zones indemnes ou atteintes de rage. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, **5** (1-3), 237-245.
- ARTOIS M, AUBERT M (1985) Behaviour of rabid foxes. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)*, **40** (2), 171-176.
- ARTOIS M, AUBERT M, STAHL P. (1990) Organisation spatiale du renard roux (*Vulpes vulpes* L., 1758) en zone d'enzootie de rage en Lorraine. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)*, **45**, 113-134.
- ARTOIS M, et al. (1992) Potential pathogenicity for rodents of vaccines intended for oral vaccination against rabies : a comparison. *Vaccine*, **10** (8) , 524-528.
- ARTOIS M, MASSON E, BARRAT J, AUBERT M (1993) Efficacy of three oral rabies vaccine-baits in the red fox : a comparison. *Veterinary Microbiology*, **38**, 167-172.
- AUBERT M, ANDRAL L, BLANCOU J (1981) Contrôle d'activité des vaccins antirabiques inactivés. Etude critique du test des N.I.H. par un modèle expérimental dit "Test périphérique". *Journal of Biological Standardization*, **9**, 35-43.
- AUBERT M (1982) Recherches sur le rôle éventuel des tiques en tant que réservoir du virus rabique. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **5** (1-3), 343-349.
- AUBERT M, ANDRAL L (1982) Les réponses infidèles dans le diagnostic de la rage. *Médecine et Maladies Infectieuses*, (3), 181-186.
- AUBERT M, BLANCOU J (1982) Test simplifié de contrôle d'activité des vaccins antirabiques à virus inactivés. *Revue scientifique et technique de l'Office international des épizooties*, **1** (3), 811-821.
- AUBERT M, ARTOIS M (1988) Etudes prospectives de l'influence de la vaccination sur l'épidémiologie de la rage et les populations vulpines In : Pastoret PP, Brochier B, Thomas I, et Blancou J, editors. *La vaccination antirabique du renard au Luxembourg*. Office des Publications Officielles des Communautés Européennes, **140**, 39-54.
- AUBERT M, BLANCOU J, BARRAT J, ARTOIS M, BARRAT M-J (1991) Transmission et pathogénie chez le renard roux de deux isolats à dix ans d'intervalle du virus de la rage vulpine. *Annales de Recherches Vétérinaires*, **22**, 77-93.
- AUBERT M (1992) Rabies vaccines for veterinary use: difficulties in establishing potency acceptability thresholds. In : *Symposium on the first steps towards an international harmonization of veterinary biologicals: 1993 and free circulation of vaccines within the E.E.C.*, Development in biological Standardization, vol.79, Basel : S. Karger, editors, 113-120.
- AUBERT M (1992) Epidemiology of fox rabies. In : Bögel K, Meslin FX, Kaplan M, editors. *Wildlife rabies control*. Proceedings of the International WHO Symposium on Wildlife rabies control, Geneva, 2-5 July 1990 : Tunbridge Wells, Wells Medical Ltd. 9 – 18.
- AUBERT M (1993) Can vaccination validated by the titration of rabies antibodies in serum of cats and dogs be an alternative to quarantine measures ? *Abstracts of Hygiene and Communicable Diseases*, **68** (6), R1-R32.
- AUBERT M, SCHUMACHER C, COULON P, LAFAY F, BENEJEAN J, BARRAT J, FLAMAND A (1993) Efficacy tests of SAG2 on target species. 4th WHO Consultation on oral immunization of dogs against rabies, Geneva, 14-15 June 1993, 6, 459-462.
- AUBERT M (1994) Control of rabies in foxes : what are the appropriate measures ? *Veterinary Record*, **134** , 55-59.
- AUBERT M, MASSON E, ARTOIS M, AND BARRAT J (1994) Oral wildlife rabies vaccination field trials in Europe, with recent emphasis on France. In : Rupprecht C.E., Dietzschold B., Koprowski H. ,editors. *Current topics in microbiology and immunology. Lyssaviruses*. Berlin: Springer Verlag, **187**, 219-243.
- AUBERT M (1995) Epidémiologie et lutte contre la rage en France et en Europe. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, **179** (5), 1033-1054.
- AUBERT MFA, LEMOYNE S (1995) La barrière immunitaire : mise à jour des résultats. *Bulletin Epidémiologique Mensuel de la Rage Animale en France*, **26**, 1-4.
- BARRAT J (1984) La rage animale en France en 1982. Bilan du Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages à Nancy-Malzéville. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **135** (4), 229-238.
- BARRAT J BARRAT M, PICARD M, AUBERT M (1988) Diagnostic de la rage sur culture cellulaire. Comparaison des résultats de l'inoculation au neuroblastome murin et de l'inoculation à la souris. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, **11** (3-4), 207-214.
- BARRAT J, AUBERT M (1983-1987) La rage animale en France: bilan du Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages à Nancy-Malzéville. Série de cinq articles portant le même titre et publiés dans la *Revue de Médecine Vétérinaire*, 135-140 : 717-724, 701-706, 589-593, 695-698, 507-510.
- BARRAT J, AUBERT M (1988-1990) La

- rage animale en France Bilan du Laboratoire d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages à Nancy-Malzéville. Série de trois articles portant le même titre et publiés dans la *Revue de Médecine Vétérinaire*, 141-143 : 369-373, 349-354.
- BINGHAM J, SCHUMACHER C, AUBERT M, AUBERT A (1997) Innocuity studies of SAG-2 oral rabies vaccine in various Zimbabwean wild non-target species. *Vaccine*, **9**, 937-943 .
 - BLANCOU J, AUBERT M, ANDRAL L, ARTOIS M (1979) Rage expérimentale du renard roux (*Vulpes vulpes*). I. Sensibilité selon la voie d'infection et la dose infectante. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **130** (7), 1001-1015.
 - BLANCOU J, AUBERT M, TOMA B, ANDRAL L (1980) Immunité humorale du chien après primo-vaccination contre la rage : étude dans les conditions de la pratique. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **150** (4), 313-318.
 - BLANCOU J, AUBERT MFA (1997) Transmission du virus de la rage : importance de la barrière d'espèce. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, **181** (2), 301-312.
 - BLANCOU J, (1986) Rabies virus : epidemiological aspect of virus adaptation to different animal species. In : Marget W, Lang W and Gabler-Sandberger E, editors. *Viral infections*. München : MMV Medizin Verlag, 134-137.
 - BLANCOU J, KIENY M, LATHE R, LECOCQ J-P, PASTORET P, SOULEBOT J-P, DESMETTRE P (1986) Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. *Nature*, **322**, 373-375.
 - BLANCOU J (1988) Ecology and epidemiology of fox rabies. *Reviews of Infectious Diseases*, **10** (4), S 606- S 609.
 - BLANCOU J, AUBERT M, BOITEUX P, AUBERT M (1984) Congélation accidentelle des vaccins antirabiques liquides. Brève étude expérimentale. Conséquences. *Bulletin des Laboratoires Vétérinaires*, **14**, 47-49.
 - CLIQUET F, SAGNE L, SCHEREFFER JL, AUBERT M (1998) Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody. *Journal of Immunological Methods*, **212**, 79-87.
 - DAVID J M, ANDRAL L, ARTOIS M (1982) Computer simulation model of the epi-enzootic disease of vulpine rabies. *Ecological Modelling*, **15**, 107-125.
 - DUBREUIL M, ANDRAL L, AUBERT M, BLANCOU J (1979) The oral vaccination of foxes against rabies. An experimental study. *Annales de Recherches Vétérinaires*, **10** (1), 9-21.
 - FLAMAND A, COULON P, PEPIN M, BLANCOU J, ROLLIN P, PORTNOI D (1984) Immunogenic and protective power of avirulent mutants of rabies virus selected with neutralizing monoclonal antibodies. In : Chanock RM and Lerner RA, editors. *Modern approaches to vaccines*. Cold Spring Harbor Laboratory : 289-294.
 - GANIÈRE J-P, ANDRE-FONTAINE G, ARTOIS M, BLANCOU J, AUBERT M (1989) Vaccination antirabique du chien et du chat : taux d'anticorps et résistance à l'épreuve virulente deux ans après l'injection de rappel d'un vaccin additionné d'adjuvant. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **140** (4), 281-285.
 - HAMMAMI S, AUBERT M (1998) Safety of the SAG2 rabies virus mutant in dogs and several non target species and its efficacy in dogs in Tunisia. In : *Field application of oral rabies vaccines for dogs : report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Office international des épizooties*. Document WHO/EMC/ZDI/98.15, WHO Geneva, 20-22 July 1998 : 6 et 9-13.
 - MASSON E, AUBERT M (1993) Innocuity test of SAG2 on non-target western European species. *4th WHO consultation on oral immunization of dogs against rabies*, Geneva, 14-15 June 1993. Idem
 - MASSON E, AUBERT M.FA., BARRAT J, VUILLAUME P. (1996) Comparison of the efficacy of the antirabies vaccines used for foxes in France. *Veterinary Research*, **27**, 255-266.
 - MASSON E CLIQUET F. AUBET M, BARRAT J, AUBERT A, ARTOIS M, SCHUMACHER C (1996) Safety study of the SAG2 rabies virus mutant in several non-target species with a view to its future use for the immunization of foxes in Europe. *Vaccine*, **14** (16), 1506-1510.
 - MASSON E, AUBERT M, ROTIVEL Y (1997) Contamination de personnes par des appâts vaccins après les campagnes de vaccination des renards contre la rage en France. *Santé Publique*, (3), 297-314.
 - SCHUMACHER C, COULON P, LAFAY F, BENEJEAN J, AUBERT M, BARRAT J, AUBERT A, FLAMAND A (1993) SAG-2 oral rabies vaccine. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **60**, 459-462.
 - SYKES-ANDRAL M, ANDRAL L (1974) Centre d'Etudes sur la Rage à Nancy-Malzéville. Bilan de seize mois d'activité de la section du diagnostic. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **37** (4), 435-448.
 - SYKES-ANDRAL M, ANDRAL L (1973, 1974, 1975, 1978) Centre d'Etudes sur la Rage à Nancy-Malzéville. Activités de la section du diagnostic pendant l'année. Série de quatre articles portant le même titre et publiés dans la *Revue de Médecine Vétérinaire*, **126-129** : 169-181, 43-60, 349-367, 387-405.
 - SYKES-ANDRAL M (1982) Comportement des animaux sauvages enrégés étudiés au Centre National d'Etudes sur la Rage. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, **5** (1-3), 337-349.
 - SYKES-ANDRAL M (1977, 1978, 1979, 1980, 1982) Centre National d'Etudes sur la Rage à Nancy-Malzéville. Activités de la section du diagnostic pendant l'année . Série de cinq articles portant le même titre et publiés dans la *Revue de Médecine Vétérinaire*, **130-133** : 209-228, 1161-1178, 839-581, 105-113, 693-700.
 - VUILLAUME P, AUBERT M, DEMERSON J-M, CLIQUET F, BARRAT J, BREITENMOSER U (1997). Vaccination des renards contre la rage par dépôt d'appâts vaccinaux à l'entrée des terriers. *Annales de Médecine Vétérinaire*, **141**, 55-62.