

## ÉVALUATION PAR LA SÉROLOGIE DE L'EFFICACITÉ D'UN VACCIN ANTIRABIQUE CHEZ DES CHIENS DU TERRAIN EN TUNISIE

HADDAD Nadia

*École Nationale Vétérinaire de Tunis, Sidi Thabet, Tunisie*

Reçu le 14 janvier 1986/Accepté le 6 juin 1986

### Abstract

EVALUATION OF AN ANTIRABIES VACCINE IN FIELD DOGS IN TUNISIA BY SEROLOGICAL TECHNIQUES. — We have vaccinated with an inactivated experimental vaccine, Rabi Rabta, prepared in lamb brain 52 dogs from the field in Tunisia and we tested by recommended serological methods the production of specific antibodies. The animals (35) received a boost injection after one year and the control of the immunological response was done on the same way after one month. This work done on 27 dogs showed very low serological data. A comparable batch of 42 dogs was immunised with a commercial vaccine with the same procedure; the results obtained from 17 dogs were not very different. This is apparently in contradiction with the success obtained by the National Program against Rabies launched in Tunisia since 1982.

Un programme national de lutte contre la rage a été entrepris en Tunisie en 1982 (Ben Osman 1985). Il vise à l'éradication de la rage canine, le chien constituant le réservoir essentiel et le principal vecteur de la rage humaine et animale (Chadli *et al* 1982).

Nous avons préparé sur encéphale d'agneau un vaccin Rabi Rabta inactivé et adsorbé sur hydroxyde d'aluminium (Haddad 1985).

Nous avons contrôlé son pouvoir immunogène en mesurant la réponse en anticorps neutralisants chez des chiens identifiés, qui ont été vaccinés et qui ont subi un rappel après 12 mois, dans 3 régions de Tunisie.

Les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec un vaccin importé, utilisé et contrôlé dans les mêmes conditions.

### Matériel et Méthodes

#### *Les animaux*

Les chiens ont été sélectionnés au cours d'une étude sérologique préalable montrant qu'ils étaient dépourvus d'anticorps antirabiques. Ces chiens n'avaient jamais fait l'objet d'une vaccination antirabique. Nous avons vacciné 52 chiens avec notre vaccin, mais leur nombre a diminué au cours du temps car, pour ne pas interférer avec leurs conditions de vie nous les avons laissés chez leurs propriétaires. Un mois après la vaccination, nous n'avons plus retrouvé que 45 chiens et seulement 35 lors de l'injection de rappel (un an), le dernier prélèvement de sang un mois après le rappel n'a porté que sur 22 animaux. Le vaccin commercial a été utilisé sur 42

chiens identifiés; les résultats n'ont pu être obtenus à chaque intervention que sur 17 d'entre eux.

#### *Les vaccins*

Le vaccin Rabi Rabta testé sur souris par la technique du National Institute of Health (Kaplan et Koprowski 1974) titrait au moment de la primo-injection 0,38 UI par dose, valeur très inférieure aux normes préconisées par l'OMS depuis 1984 (1 UI/dose) et tout juste supérieure au titre alors officiellement conseillé (0,3 UI/dose). Le lot utilisé en rappel titrait 1 UI/dose. Le vaccin commercial produit sur culture cellulaire, inactivé et additionné d'hydroxyde d'aluminium titrait 5,13 UI/dose, au moment de la primo-injection. Le lot utilisé en rappel titrait 5,2 UI/dose.

#### *Le protocole de vaccination et les prélèvements*

Les animaux identifiés ont reçu au jour 0 une dose (1 ml) de vaccin par voie sous-cutanée et nous avons mesuré leur réponse sérologique après un mois, 6 mois et 1 an. Un an après, ils ont subi une vaccination de rappel, toujours par voie sous-cutanée, et nous avons mesuré le taux d'anticorps circulants un mois après.

Les animaux qui ont reçu le vaccin Rabi Rabta constituent le lot A. Les animaux qui ont reçu le vaccin commercial constituent le lot B.

#### *Les anticorps: interprétation de la réponse sérologique*

Le titrage des anticorps a été réalisé par séroneutralisation sur souris (Kaplan et Koprowski 1974). Pour interpréter les résultats, nous avons utilisé les normes de la Pharmacopée Européenne selon lesquelles un mois après la vaccination et sur un effectif d'au moins 5 chiens, la moyenne des titres en anticorps neutralisants doit être supérieure ou égale à 0,5 UI/ml, aucun chien n'ayant un taux inférieur à 0,1 UI/ml. Nous avons

distingué 3 catégories de réponses : non réponse pour les titres en anticorps inférieurs à 0,1 UI/ml ; mauvaise réponse pour les titres compris entre 0,1 et 0,5 UI/ml ; bonne réponse pour les titres supérieurs à 0,5 UI/ml. Pour évaluer l'efficacité de nos interventions, nous avons comparé les moyennes des résultats sérologiques confortés par le test du  $\chi^2$ .

**Résultats**

Les épreuves sérologiques de neutralisation

réalisées à diverses périodes après la vaccination et le rappel chez les chiens que nous avons pu retrouver, ont montré dans la plupart des cas et avec les 2 vaccins, une réponse très faible des animaux.

A chacun de nos passages nous n'avons pas toujours retrouvé les animaux qui faisaient l'objet de notre expérience. Dans les tableaux et figures, nous présentons les données obtenues chez les animaux qui étaient présents à la fois un mois après la vaccination et un mois après le rappel.

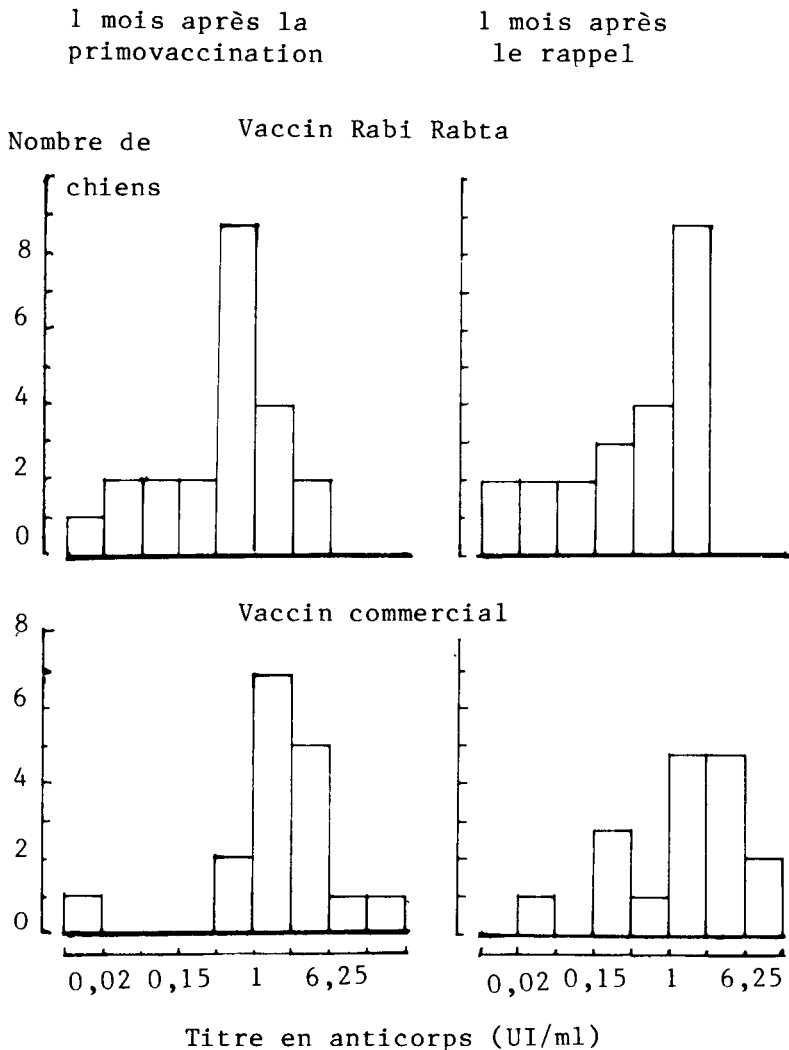


Fig. 1. — Évolution de la distribution des titres en anticorps (UI/ml) entre 1 mois après la primovaccination et 1 mois après le rappel.

### *Évolution du taux des anticorps sériques chez les chiens vaccinés*

Avec le vaccin que nous avons préparé sur encéphale d'agneau, un mois après la première vaccination pour 45 chiens, le titre moyen est de 0,37 UI/ml de sérum avec 10 chiens ayant un titre inférieur à 0,1 UI/ml ; parmi ces derniers, 3 n'ont pas la moindre trace d'anticorps puisque leur titre neutralisant est inférieur à 0,01 UI/ml. Lors de l'examen des prélèvements réalisés 6 mois et 12 mois après la primovaccination, on assiste à une décroissance du taux des anticorps circulants avec un titre moyen de 0,03 UI/ml lors du dernier prélèvement (35 chiens). L'injection de rappel n'induit pas de réponse anamnétique : bien que l'on mesure une augmentation du titre un mois après la seconde vaccination, cette réaction n'est pas plus marquée que la réponse obtenue après la primovaccination : le titre moyen en anticorps chez 27 chiens un mois après la vaccination de rappel est de 0,44 UI/ml.

Les réponses obtenues avec le vaccin préparé sur encéphale d'agneau se caractérisent donc par le niveau très faible des anticorps circulants.

Avec le vaccin commercial de réputation internationale, nous n'avons pas trouvé des résultats vraiment différents. Un mois après la primovaccination pour 29 chiens, le titre moyen en anticorps neutralisants est de 0,46 UI/ml, 8 chiens ayant un titre inférieur à 0,1 UI/ml ; en primovaccination, la réponse conférée par le vaccin commercial reste donc inférieure au seuil des 0,5 UI/ml et 20 % des animaux sont non répondeurs. Le jour de l'intervention de rappel, le taux moyen des anticorps (29 chiens) est de 0,22 UI/ml. Un mois après, le titre moyen des sérums est de 1,27 UI/ml pour 22 chiens. La réponse conférée par le vaccin commercial est donc lors d'une seconde intervention supérieure à celle obtenue avec notre préparation. Dans les tableaux 1, 2 et 3 et la figure 1, nous rapportons pour les chiens présents à chacune des interventions (2 vaccinations, 4 prises de sang, 4 séroneutralisations), des résultats semblables mais qui ne portent plus que sur 22 chiens pour le vaccin préparé sur encéphale d'agneau et sur 17 chiens pour le vaccin commercial.

### **Discussion**

Nous avons utilisé une épreuve de laboratoire pour évaluer l'efficacité de la vaccination antirabique du chien sur le terrain et les résultats que nous avons obtenus avec notre vaccin montrent qu'il est très difficile de satisfaire les conditions proposées par les autorités mondiales.

Notre vaccin peut être mis en cause de même que le protocole de vaccination, mais nous

croyons que les conditions physiologiques des sujets qui doivent élaborer la réponse immunitaire interviennent de façon prépondérante.

Le vaccin Rabi Rabta mis en œuvre lors de la primovaccination avait un faible titre mais celui utilisé au moment du rappel avait une valeur antigénique convenable tandis que le vaccin commercial avait un titre bien plus élevé ; cependant, les réponses obtenues n'ont pas été vraiment différentes.

L'injection de rappel pratiquée après un an ne s'est pas montrée particulièrement intéressante. Il aurait été plus sage de réaliser cette intervention un mois après la primovaccination comme le proposent la plupart des protocoles d'immunisation.

Les faibles réponses sérologiques obtenues quel que soit le vaccin ou la façon de vacciner dépendent vraisemblablement de la capacité des chiens à produire des anticorps. Nous avons utilisé des chiens tout venant, leur seul point commun étant l'absence d'anticorps spécifiques contre le virus de la rage. On peut d'ailleurs mettre en question ce critère de sélection puisque même après vaccination un certain nombre de ces animaux sont restés non-répondeurs. Les chiens recrutés pour cette opération étaient d'âges divers, parfois en mauvais état hygiénique ou sanitaire, et ils n'ont pas été déparasités. L'homogénéité de leur réponse et leur immunocompétence est donc bien différente de celle des chiens employés pour l'étude des vaccins dans les laboratoires, les institutions militaires ou les grandes villes des pays occidentaux. Tout se passe comme si les chiens de Tunisie et ceux d'Afrique et d'Asie étaient mauvais producteurs d'anticorps contre le virus de la rage. On pourrait mettre en avant un facteur ethnique : dans le cadre du Programme National de lutte contre la Rage, nous avons recherché les anticorps spécifiques du virus chez 17 chiens vaccinés depuis 2 ans ; plus de la moitié ne présentaient pas d'anticorps. Pourtant, dans la région où l'opération a été menée, aucun cas de rage, canine ou humaine, ne s'est manifesté pendant ces 2 ans alors que la rage était un problème avant la mise en place du Programme. Depuis le début de ce programme l'incidence de la rage a diminué dans l'ensemble du pays. Même si l'abattage (limité) des chiens errants et la sélection négative des individus les plus immunodéprimés a joué un rôle, on peut penser que la vaccination a conféré une protection aux chiens bien que la réponse en anticorps reste faible. L'intervention de l'immunité cellulaire est souvent évoquée (Blancou *et al* 1981, Gerber *et al* 1985, Nicholson *et al* 1979, Tsiang *et al* 1981) mais elle reste difficile à mesurer précisément chez un groupe d'animaux vaccinés. Nous croyons que le titre sérologique officiellement indiqué (0,5 UI/ml de sérum) pour la

Tableau 1. — Évolution des titres individuels (UI/ml) en anticorps neutralisants entre 1 mois après la vaccination et 1 mois après le rappel

Vaccin Rabi Rabta (Lot A)			Vaccin commercial (Lot B)		
Numéro des chiens	1 mois après		numéro des chiens	1 mois après	
	Primo-injection	Rappel		Primo-injection	Rappel
1	0,64	1,21	1	1,2	8,37
2	3,18	2,31	4	1,67	8,37
3	0,64	1,21	5	11,45	6,07
4	1,65	0,88	6	3,18	0,33
5	0,88	0,88	7	1,21	3,18
7	0,46	2,31	8	2,31	1,67
8	6,24	0,09	9	4,39	2,31
9	1,66	2,31	13	≤0,01	0,05
11	0,18	0,02	14	1,67	6,07
14	0,64	0,33	17	15,95	4,39
15	2,31	2,31	18	4,39	1,21
17	0,89	2,31	19	0,46	0,33
20	0,46	0,03	20	2,31	1,67
21	0,46	0,33	21	0,46	0,46
26	0,09	0,88	23	6,07	2,31
27	0,05	0,33	24	6,07	3,18
29	3,18	2,31	27	1,67	0,33
34	0,09	0,05			
35	0,64	1,21			
36	≤0,01	≤0,01			
42	1,67	0,09			
43	0,03	0,88			

Tableau 2. — Titres en anticorps (UI/ml) obtenus 1 mois après la primo-injection et 1 mois après le rappel

	Vaccin Rabi Rabta (Lot A)	Vaccin commercial (Lot B)
1 mois après la primo-injection	0,43 ± 1,94 (22) <sup>a</sup>	1,84 ± 2,2 (17)
1 mois après le rappel	0,44 ± 2,05 (22)	1,55 ± 1,96 (17)

a : Moyenne des titres intervalle de confiance (nombre de chiens)

Tableau 3. — Distribution des effectifs de chiens (et pourcentage) en fonction du niveau de la réponse en anticorps 1 mois après la primo-injection et 1 mois après le rappel

	Titres en anticorps (UI/ml)		
	<0,1	0,1 – 0,5	≥0,5
<i>1 mois après la primo-injection</i>			
Vaccin expérimental (Lot A)	5 (22)	5 (22)	12 (56)
Vaccin commercial (Lot B)	1 (6)	2 (12)	14 (82)
<i>1 mois après le rappel</i>			
Vaccin expérimental (Lot A)	6 (27)	3 (13)	13 (60)
Vaccin commercial (Lot B)	1 (6)	4 (23)	12 (71)

protection, est trop élevé : la valeur du seuil n'a pas un caractère absolu et fait l'objet de controverses (Petermann *et al* 1971, Blancou *et al* 1979, Bunn *et al* 1985).

Une campagne nationale de prophylaxie a pour but à court terme la réduction et à long terme, l'éradication de l'incidence d'une maladie infectieuse. On peut s'interroger sur l'adéquation des techniques de sérologie et en particulier du test classique du NIH pour présumer de l'efficacité d'une vaccination. Le contrôle de l'activité antigénique d'un vaccin sur des chiens supposés bons répondeurs dans les pays nantis ne garantit pas que les chiens tout venant objet de la campagne de vaccination dans les pays comme la Tunisie,

vont montrer la même aptitude à s'immuniser. Il convient donc d'adapter le contrôle au laboratoire à la réalité du terrain même si certaines hypothèses présentées restent, aujourd'hui, à vérifier.

### Remerciements

Je remercie vivement le docteur Blancou, Monsieur Aubert et les membres du Centre National d'Étude sur la Rage (Nancy) ainsi que les Docteurs Gritli et Ben Osman (Institut de Recherches Vétérinaires Tunisien) et les Docteurs Koutchoukali et Tefka (Algérie).

### Résumé

Nous avons vacciné avec un vaccin expérimental Rabi Rabta, préparé sur encéphale d'agneau 52 chiens du terrain en Tunisie et nous avons suivi par les épreuves sérologiques classiques l'évolution de la production des anticorps spécifiques. Les animaux (35) ont subi un rappel un an après et l'efficacité de l'intervention a été contrôlée de la même façon. Cette opération réalisée sur 27 chiens montre que l'immunité mesurable est très faible. Un lot comparable de 42 chiens a été vacciné avec un vaccin commercial selon le même protocole, les résultats obtenus chez 17 chiens ne sont pas significativement meilleurs. Ceci est en apparente contradiction avec l'efficacité démontrée par le Programme National de lutte contre la Rage mené en Tunisie depuis 1982.

### Références

- BEN OSMAN F, 1985. Programme National de lutte contre la rage en Tunisie (1982-1987). Mise en œuvre et bilan des trois premières années de son exécution. Communication présentée aux 3èmes Journées Vétérinaires Maghrébines, Alger, 11-13 mars 1985
- BLANCOU J, ANDRAL B, ANDRAL L, 1979. Cinétique des réactions à l'infection expérimentale de la souris vaccinée ou non contre la rage : étude étiopathogénique. *Ann Microbiol (Inst Pasteur)* 130 B:485-492
- BLANCOU J, MILWARD F, TOMA B, WILLEMART J P, 1981. La vaccination des carnivores sous corticothérapie. *Recl Méd Vét* 157:651-657
- BUNN TO, RIDPATH H G, BEARD PD, 1985. Rapport entre le titre en anticorps rabiques chez le chien et le chat et la résistance à l'épreuve. *Bull Epidémiol Mens Rage Anim en France* 15 édité par le CNER Malzéville.
- CHADLI A, BAHMANYAR M, CHAABOUNI A, 1982. Épidémiologie de la rage en Tunisie. Étude comparative des résultats des 28 dernières années. *Arab J Med* 1:17-22
- GERBER SD, SHARPEE RL, SWIECZKOWSKY TC, BECKENHAUER WH, 1985. Cell mediated immune response to rabies virus in dogs following vaccination and challenge. *Vet Immunol Immunopathol* 9:13-22
- HADDAD N, 1985. Vaccination du chien contre la rage. Thèse 3ème cycle Université Claude Bernard, Lyon.
- KAPLAN M, KOPROWSKI H, 1974. La rage. Techniques de laboratoire. OMS Genève, 3ème édition. 379 pp
- NICHOLSON KG, COLE PJ, TURNER GS, HARRISON P, 1979. Immune response of humans to a human diploid cell strain of rabies virus vaccine : lymphocyte transformation, production of virus neutralizing antibody and induction of interferon. *J Infect Dis* 140:176-182
- PETERMANN HG, SOULEBOT JP, LANG R, BRANCHE R, 1971. La vaccination antirabique des carnivores et des herbivores avec un vaccin inactivé produit sur cultures de tissus. *Bull Soc Sci Vét Méd Comp Lyon* 73:125-141
- TSIANG H, LAGRANGE Ph, BLANCOU J, 1981. Delayed type hypersensitivity to rabies virus in mice : immunosuppressive activity of salivary gland homogenate (SGH). *Ann Virol (Inst Pasteur)* 133E:51-68