

Maisons-Alfort, le 29 mai 2009

Avis

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur la définition des périodes d'excrétion virale salivaire potentielle dans la rage animale

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Rappel de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie par la Direction générale de l'alimentation (DGAI), le 7 janvier 2009, d'une demande d'avis portant sur la définition des périodes d'excrétion virale salivaire potentielle dans la rage animale.

Avis du Comité d'experts spécialisé « Santé animale »

Le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » (CES SA), réuni les 8 avril et 6 mai 2009, formule l'avis suivant :

« Contexte »

La saisine s'appuie sur la définition de l'animal contaminé de rage (article 223-25 du Code Rural) et sur l'arrêté du 21 avril 1997 complétant les dispositions de l'article 1 du décret n°96-596 du 27 juin 1996 relatif à la lutte contre la rage définissant la période d'excrétion virale.

Le point de départ est la constatation que lors des récents cas de rage en France, le plus souvent seule la date de la mort de l'animal enragé est connue avec certitude, pas celle du début des signes cliniques. Or, les textes actuels s'appuient plutôt sur la date du début des signes cliniques pour calculer la période durant laquelle les animaux contaminés et en fin d'incubation auraient pu être excréteurs pré-symptomatiques du virus. Connaître le plus justement possible cette période est essentiel pour espérer retrouver les animaux et les personnes éventuellement exposés.

Les questions posées sont les suivantes :

- « confirmer la pertinence d'une période à risque de 20 jours telle que retenue ci-dessus pour les carnivores domestiques et définir à quelles espèces cette période peut s'appliquer (chien, chat, furet ?) »,

- « définir la période à risque d'excrétion salivaire de virus rabique pour les autres animaux domestiques sensibles à la rage (bovins, équidés,...) lorsque seule la date de la mort de l'animal enragé est connue »,

- « déterminer cette même période (période à risque d'excrétion salivaire de virus rabique quand seule la date de la mort de l'animal enragé est connue) pour les animaux sauvages, dont les chiroptères insectivores. Enfin, dans le cas où l'animal enragé est un chiroptère insectivore, la définition d'un carnivore contaminé pourrait-elle se restreindre aux carnivores domestiques sensibles ayant eu un contact avéré avec la chauve-souris enragée au cours de la période à risque (et non plus également les carnivores pour lesquels une enquête des services vétérinaires n'a pas pu écarter formellement l'hypothèse d'un tel contact ?) ».

Méthode d'expertise

L'expertise collective a été réalisée sur la base d'un rapport initial rédigé par deux rapporteurs, qui a été présenté, discuté en séance et validé par le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » (CES SA), réuni les 8 avril et 6 mai 2009.

L'expertise a été conduite sur la base :

- des documents suivants :
 - le courrier de la DGAI en date du 7 janvier 2009,
 - l'arrêté ministériel du 21 avril 1997 complétant les dispositions de l'article 1 du décret n°96-596 du 27 juin 1996 relatif à la lutte contre la rage définissant la période d'excrétion virale,
 - le Code sanitaire pour les animaux terrestres (Organisation Mondiale de la santé animale (OIE) : Rage cf. chapitre 8.11),
 - le rapport de l'Afssa sur la rage des chiroptères en France métropolitaine publié en 2003,
 - l'avis de l'Afssa 2007-SA-0170 du 14 septembre 2007 relatif au risque actuel de contamination humaine et animale par le virus de la rage (génotype 1) en Guyane et sur les mesures de prophylaxie à mettre en œuvre, le cas échéant,
 - l'avis de l'Afssa 2008-SA-0369 du 17 février 2009 sur les modalités de gestion des animaux contaminés de rage,
 - la bibliographie citée en fin de rapport,
- des discussions entre les rapporteurs et les experts du CES SA.

Argumentaire

La meilleure façon de répondre à ces questions serait de disposer, pour toutes les espèces concernées et pour toutes les souches de Lyssavirus, de données expérimentales associant le génotype du virus, la dose infectante initiale et l'espèce, à la durée d'excrétion virale pré-symptomatique ainsi qu'à la durée de la phase clinique. Ces données n'existent pas, sachant qu'elles seraient délicates à obtenir sur des échantillons significatifs et que les phénomènes de variabilité biologique ne leur donneraient pas de valeur absolue.

Diverses observations montrent en outre que la durée d'excrétion virale pré-symptomatique est plus longue dans certains cas de rage naturelle que dans les cas de rage expérimentale qui nécessitent souvent l'inoculation de doses assez fortes de virus d'épreuve provoquant habituellement des cas de rage d'incubation relativement courte et d'évolution clinique rapide.

A cela s'ajoutent enfin les difficultés d'interprétation des résultats au regard des difficultés méthodologiques de recueil et de traitement de la salive chez les animaux infectés et de l'éventualité d'une excrétion virale salivaire intermittente.

Il convient de distinguer deux situations : les cas de rage dus à l'infection par des Lyssavirus de type 1 (rage sensu stricto), et ceux consécutifs aux contaminations des animaux par un Lyssavirus de génotype 5 ou 6 (European Bat Lyssavirus de type 1 ou 2, EBLV-1 ou EBLV-2).

1) Infection des animaux par un Lyssavirus de type 1

1.1) **Pertinence du choix d'une durée maximale de risque d'excrétion salivaire potentielle de 20 jours avant la mort chez le chien, le chat et le furet**

Chez le chien, la durée de l'excrétion salivaire pré-symptomatique a été estimée comme pouvant varier entre quelques heures et trois jours dans 80 % des cas, entre quatre et cinq jours dans environ 15 % des cas, enfin entre cinq et huit jours dans 5 % des cas. Dans la quasi-totalité des cas, la durée de virulence pré-symptomatique de la salive est donc inférieure à dix jours. Cette règle souffre néanmoins quelques exceptions : Konradi (1914) a apporté la preuve de la virulence de la salive d'un chien, 12 jours avant l'apparition des premiers symptômes nerveux et 14 jours avant la mort ; Fekadu et al. (1982) ont constaté qu'un chien ayant reçu l'inoculation d'une souche isolée en Ethiopie à partir d'un chien apparemment sain, excréta le virus dans sa salive 13 jours avant l'apparition des symptômes.

La durée de la maladie clinique chez le chien est rarement supérieure à sept jours, avec une moyenne de quatre à cinq jours. Dans le foyer de Saint André-le-Gay en Isère décrit en 2008, l'évolution clinique s'est néanmoins étendue sur une période de 11 jours avant la mort du chien le 10 novembre 2008.

Chez le chat, diverses études expérimentales montrent que le virus est en général isolé assez tardivement dans la salive (Artois et al., 1984 ; Vaughn et al., 1963), le plus souvent dans les 24 heures qui précèdent l'apparition des premiers symptômes.

La durée de la maladie clinique chez le chat variait de un à huit jours (avec une médiane de cinq jours) dans une étude Vaughn et al. (1963) portant sur 26 chats morts après inoculation de souches d'origines variées (chien, renard, mouffette et chat). Des exceptions ont été cependant signalées : Andral et Sérié (1965) ont, par exemple, rapporté le cas d'un chat infecté naturellement en Ethiopie, chez lequel la mort était survenue 20 jours après sa mise en observation pour suspicion de rage ; l'animal avait excrété du virus dans sa salive 17 jours avant sa mort. Il s'agissait cependant d'un cas d'infection par une souche de virus rabique considérée, par ces auteurs eux-mêmes, comme « aberrante ».

Sur la base d'inoculations expérimentales de virus rabique d'origine vulpine, Blancou et al. (1982) avaient considéré que le furet était relativement résistant, et n'avaient pu isoler le virus dans les glandes salivaires des animaux morts de rage (après une phase clinique de deux à sept jours). D'autres études (Niezgoda et al., 1997 ; 1998) avec des furets infectés par une souche isolée de raton laveur (souche non présente en Europe), ont montré en revanche que le virus pouvait être isolé dans les glandes salivaires d'une partie des animaux malades, avec excrétion salivaire deux jours avant l'apparition des symptômes sur quelques uns d'entre eux. La durée de l'évolution clinique était de un à dix jours (quatre à cinq jours en moyenne).

La période à risque d'excrétion salivaire potentielle de virus rabique de 20 jours retenue avant la mort prend en compte une durée d'excrétion salivaire pré-symptomatique maximale de 15 jours et une évolution clinique moyenne avant la mort de cinq jours. Cette période pourrait être plus longue si l'on tenait compte de la possibilité d'une durée d'évolution clinique supérieure à cinq jours (exemple du chien reconnu enragé à Saint André-le-Gay), ou de l'éventualité rarissime d'une excrétion salivaire pré-symptomatique plus longue. Les cas correspondants sont cependant exceptionnels, parfois liés à des conditions expérimentales particulières et difficiles à interpréter, ou se référant à des infections par des souches virales « aberrantes ». Il est en outre très peu probable que, dans des conditions naturelles, les périodes maximales d'excrétion salivaire pré-symptomatique et clinique surviennent chez un même animal. Il convient de rappeler aussi que la durée maximale d'excrétion salivaire retenue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour le traitement des personnes exposées est de 10 jours.

Dans ces conditions, la période à risque de 20 jours telle que retenue par le pétitionnaire est suffisante pour permettre de couvrir la quasi totalité des cas de figure dans la rage canine (Dacheux et Bourhy, 2009). Cette période est donc pertinente.

C'est également le cas pour le chat et certainement aussi pour le furet, d'autant que le risque de diffusion de la maladie par ces deux espèces s'avère très limité.

1.2) Détermination de la durée maximale de risque d'excrétion salivaire potentielle de virus rabique pour les autres espèces domestiques sensibles (bovins, équidés...) quand seule la date de la mort de l'animal est connue.

La présence de virus dans les glandes salivaires des herbivores et des suidés domestiques a été démontrée par de nombreux auteurs. L'exemple de la contamination d'un vétérinaire suisse par un bovin durant l'épizootie de rage vulpine (Bulletin Epidémiologique Mensuel de Rage, 1977) en souligne la réalité.

La durée moyenne de l'évolution clinique est bien connue : quatre à cinq jours chez les bovins (jusqu'à 12 jours), deux à quatre jours chez les ovins (jusqu'à huit jours), deux à quatre jours chez le porc et trois à six jours chez les chevaux.

En revanche, on dispose de peu de données permettant d'estimer la durée de l'excrétion pré-symptomatique chez ces espèces. Ces données sont en outre fragmentaires, et portent uniquement sur des études de rage expérimentale. Une étude de Martell et al. (1974) a établi ce délai à 24 heures avant l'apparition des premiers symptômes dans des cas de rage expérimentale chez des bovins. Il reste néanmoins indéterminé dans le cas de rage naturelle (Rueff et al., 1978). Pépin et al. (1984), sans exclure la réalité d'une excrétion salivaire précédant l'apparition des symptômes rabiques, soulignent surtout son importance au cours de la phase clinique, d'autant plus marquée que la durée de la maladie clinique est longue. Quelques études expérimentales, réalisées sur les autres espèces, confirment la virulence de la salive durant l'évolution clinique, sans permettre néanmoins de définir une durée maximale d'excrétion salivaire pré-symptomatique.

En réalité, les herbivores et suidés, considérés comme des culs-de-sac épidémiologiques, ne présentent réellement de danger que pour l'Homme. La découverte d'un cas chez ces animaux pose surtout la question de l'origine de leur contamination et de la présence éventuelle d'autres sujets également contaminés et encore en période d'incubation dans le troupeau. Seules sont donc réellement importantes ici les morsures avérées éventuellement occasionnées à d'autres animaux (voire les projections de salive) pendant la période d'évolution clinique. Néanmoins, dans le but de définir une durée maximale pour toutes les espèces domestiques, il est souhaitable de retenir une durée de 20 jours précédant la mort des herbivores et suidés domestiques comme période à risque d'excrétion salivaire potentielle.

1.3) Détermination de la durée maximale de risque d'excrétion salivaire potentielle de virus rabique pour les animaux sauvages

1.3.1) Cas des chiroptères

Des variants du virus du génotype 1, adaptés à ces espèces, circulent dans les populations de chauves-souris hématophages d'Amérique tropicale. Leur circulation parmi des espèces insectivores est surtout décrite en Amérique du nord.

La pathogénie de la rage chez ces diverses espèces est particulièrement complexe, dépendant notamment de la virulence de la souche, de la quantité de virus transmise et des caractéristiques de l'espèce hôte. La présence d'anticorps antirabiques détectés dans le sérum des chauves-souris appartenant à des colonies infectées indique que de nombreux sujets peuvent développer une infection sub-clinique ou inapparente. La salive de certains animaux peut, en outre, héberger du virus sans que la maladie se déclare.

Comme d'autres Etats de l'Amérique latine, la Guyane française (cf. Avis de l'Afssa 2007-SA-0170 du 14 septembre 2007) héberge des colonies de chauves-souris hématophages, tout particulièrement le vampire roux (*Desmodus rotundus*), qui

entretiennent naturellement le virus rabique et ont la capacité de le transmettre, au cours de leurs repas sanguins, à de nombreuses espèces animales et à l'Homme. Une étude récente a ainsi montré que des vampires capturés sur l'île de Cayenne étaient porteurs d'anticorps antirabiques (sans toutefois que le virus puisse être caractérisé sur ces animaux).

Chez le vampire roux (*Desmodus rotundus*), une étude expérimentale réalisée par inoculation (par voie Intra Musculaire (IM)) à 14 animaux adultes n'a pas permis de caractériser la présence du virus à partir de la salive de 11 d'entre eux ayant succombé à l'épreuve virulente. En revanche, le virus fut identifié dans la salive des trois animaux ayant survécu, respectivement le sixième jour après inoculation chez deux sujets et le 21^{ème} jour chez le troisième (Aguilar-Setien et al., 2008).

L'infection expérimentale d'une colonie captive de chauves-souris insectivores (*Eptesicus fuscus*) a été récemment conduite en Amérique du nord (Jackson et al., 2008). La majorité des animaux (16 sur 20) d'un lot infecté par voie IM ont succombé à la maladie, mais l'excrétion virale salivaire n'a été détectée que chez deux d'entre eux seulement, débutant dans les 24 heures précédant l'apparition des symptômes. Aucune transmission ne fut observée chez les animaux d'un lot contact.

De multiples cas de contamination naturelle de personnes ou d'animaux domestiques par morsures de chauves-souris infectées, notamment les vampires, ont déjà été recensés et montrent la réalité de la virulence salivaire chez ces animaux. Il est en revanche impossible, comme le souligne la variabilité des résultats obtenus dans les deux études expérimentales citées, de fixer pour ces espèces une durée maximale de la période à risque avant la mort.

Tout contact avec un vampire, comme avec une espèce de chauve-souris insectivore, voire frugivore, doit donc être considéré comme potentiellement contaminant.

1.3.2) Cas des mammifères autres que les chiroptères

Les plus importants sont les carnivores, tels le renard ou les mustélidés. Les données rapportées ci-après concernent uniquement l'infection de ces animaux par des souches d'origine vulpine.

Les études disponibles sur la virulence de la salive portent en particulier sur le renard, considéré comme un animal particulièrement sensible au virus rabique.

Dans des études de rage expérimentale du renard roux (*Vulpes vulpes*), Blancou et al. (1979) ont observé une durée d'évolution clinique de un à quatorze jours avant la mort des animaux infectés par voie IM (jusqu'à 20 jours chez les sujets infectés par voie orale), pour une durée moyenne de trois à quatre jours.

Par ailleurs, Aubert et al. (1991) ont démontré, en suivant un lot de renards contaminés après avoir été placés au contact de congénères infectés avec des souches d'origine vulpine, que la période d'excrétion virale pouvait atteindre 29 jours avant l'apparition des premiers symptômes. Ces travaux ont justifié, à l'époque, la prise en compte réglementaire d'un délai de mise sous surveillance de 30 jours des carnivores sauvages mordeurs ou griffeurs.

Au regard de ces données obtenues chez des animaux contaminés par des souches d'origine vulpine, en admettant ici aussi comme très peu probable que les durées maximales d'excrétion salivaire pré-symptomatique et clinique surviennent chez le même animal, la durée maximale à risque d'excrétion salivaire chez le renard infecté peut être fixée à 40 jours avant la mort.

Selon Blancou et al. (1982), les données obtenues chez le furet sont transposables à la rage chez les mustélidés sauvages.

En absence de données spécifiques, l'analyse et les propositions relatives aux herbivores et suidés domestiques sont valables pour les espèces sauvages correspondantes.

2) **Infection des animaux par un Lyssavirus de type 5 (EBLV-1) ou 6 (EBLV-2)**

Des Lyssavirus peuvent être isolés chez une grande variété de chiroptères. En dehors des virus du génotype 1 précédemment évoqués (chauves-souris américaines, dont les espèces hématophages en Amérique tropicale), ces animaux peuvent héberger des virus des génotypes 2 et 4 (respectivement, virus Lagos et Duvenhague des chauves-souris africaines), des génotypes 5 et 6 (virus des chauves-souris européennes, EBLV-1 et EBLV-2), et du génotype 7 (virus des chauves-souris australiennes, dit ABLV). Plus récemment, d'autres Lyssavirus ont été découverts, chez des chauves-souris en Eurasie, les virus Aravan, Khujand, Irkut et West Caucasian, peut-être de nouveaux génotypes.

Trente quatre espèces de chauves-souris, souvent difficiles à différencier les unes des autres, sont reconnues en France. Une seule espèce, la sérotine commune (*Eptesicus serotinus*), a été reconnue infectée par le virus EBL-1 en France (il faut ajouter la mise en évidence, par l'Institut Pasteur, d'une PCR positive sur une pipistrelle commune, sans isolement de souche). Elle représente le réservoir principal de ce virus en Europe. D'autres espèces peuvent être néanmoins infectées : ainsi, en Allemagne (Müller et al., 2004), le virus EBL-1 a été identifié chez sept espèces (*Nyctalus noctula*, *Myotis daubentonii* et *M. dasycneme*, *Pipistrellus nathusii* et *P. pipistrellus*, *Plecotus auritus* et *Eptesicus serotinus*, cette dernière représentant néanmoins 90% des cas répertoriés).

Des chauves-souris du genre *Myotis* (*M. daubentonii* et *M. dasycneme*) sont également reconnues infectées par le virus EBL-2 dans d'autres pays européens, en Grande-Bretagne, en Hollande, en Suisse et en Allemagne (Freuling et al., 2008).

2.1) Détermination de la période à risque d'excrétion salivaire potentielle chez les chiroptères insectivores et possibilité de restreindre la définition d'un animal contaminé aux carnivores ayant eu un contact avéré avec la chauve-souris enragée au cours de la période à risque

La pathogénie de l'infection par les virus EBL chez les chiroptères est tout aussi complexe que celle de l'infection par des variants du génotype 1. Elle découle également de la virulence de la souche, de la quantité de virus transmise, de la voie d'inoculation et des caractéristiques de l'espèce hôte.

Les données émanant des études de terrain sur des colonies de chauve-souris supposées infectées du fait de la présence d'anticorps neutralisants chez certains individus ou de l'identification par RT-PCR de l'ARN viral dans leur salive (sans que du virus infectieux y soit mis en évidence) ne permettent pas de répondre aux questions posées relatives à l'importance et à la durée de l'excrétion virale salivaire. La mise en évidence de l'ARN viral dans les prélèvements oro-pharyngés de chauves-souris met en outre l'accent sur la possibilité d'un portage asymptomatique chez certains sujets (Vasquez-Moron et al., 2008). Des constatations analogues ont été faites, d'ailleurs, chez des chauves-souris hématophages (*Desmodus rotundus*) infectées avec du virus rabique de génotype 1, montrant la présence transitoire de virus dans la salive de sujets survivant à l'infection (Aguilar-Setien et al., 2008).

Une étude récente (Johnson et al., 2008) portant sur l'infection expérimentale de chauves-souris *M. daubentonii* avec du virus EBL-2 a montré, chez l'une d'elles ayant développé la maladie après infection par voie périphérique, la présence de virus (ARN et virus vivant) en faible quantité dans la salive, deux jours avant l'apparition des symptômes, l'animal ayant été euthanasié au troisième jour de l'évolution clinique. Chez cet animal, le génome viral a été retrouvé également, après sa mort, dans les glandes salivaires, la langue, le cœur, les poumons et les reins.

La transmission à un autre mammifère s'avère donc possible à l'occasion d'un contact direct avec l'animal excréteur, la morsure représentant le risque de transmission le plus élevé. Il n'est pas possible d'exclure qu'une chauve-souris apparemment non malade puisse être infectée et excréter du virus dans sa salive.

Il apparaît cependant difficile, au regard de ces quelques études, de définir la période à risque d'excrétion salivaire potentielle sur une chauve-souris trouvée morte ou malade, et reconnue infectée par le virus EBL-1 ou EBL-2, d'autant qu'il est tout à fait probable que la période d'excrétion puisse varier très largement d'un individu à l'autre et d'une espèce à l'autre. En outre, les observations de terrain montrent que des chauves-souris malades (infectées par le virus EBL-1) n'ont pas un comportement agressif (Tjørnehøj et al., 2004). Dans les conditions pratiques, la rage est recherchée sur une chauve-souris recueillie à terre et/ou capturée par un chat : dans la majorité des cas, lorsqu'un animal présentant des symptômes suspects a été mis en observation, il meurt spontanément dans les deux à six jours après sa capture (mais il est en général euthanasié dans les deux à trois jours). En conséquence, tenter de définir une durée maximale de risque d'excrétion salivaire potentielle s'avère peu pertinent, sachant qu'il sera impossible, sauf en cas de contamination observée de visu, de savoir si la chauve-souris reconnue infectée a pu être ou non en contact avec un animal domestique.

Comme pour le génotype 1 (cf. paragraphe 1.3.1), tout contact avec une chauve-souris doit être considéré comme potentiellement contaminant.

Le faible nombre de cas spontanés répertoriés de transmission à l'Homme ou à diverses espèces de mammifères terrestres suggère que la transmission des virus EBL à partir des chauves-souris est exceptionnelle. Cela est certainement en rapport avec la faible sensibilité des mammifères autres que les espèces naturellement infectées par ces virus, la capacité limitée de ces virus à induire une maladie mortelle lorsqu'ils sont inoculés par voie périphérique et leur excrétion en faible quantité dans la salive (voir paragraphe 2.2 ci-après).

Seuls méritent d'être considérés les cas de contaminations avérés. Ainsi, comme cela a déjà été indiqué dans l'avis de l'Afssa 2008-SA-0369, du 17 février 2009, il est possible de restreindre la définition d'un animal contaminé aux seuls carnivores ayant eu un contact avéré avec la chauve-souris reconnue enragée.

2.2) Détermination de la période à risque d'excrétion salivaire potentielle chez les autres mammifères

La rage consécutive à une infection par des virus EBL n'a été constatée que chez les animaux suivants :

- deux cas de rage féline dus au virus EBL-1 ont été décrits en France, en 2003 et en 2008 (Dacheux et al., 2009). La découverte chez un chat, au Danemark (Tjørnehøj et al., 2004), d'un titre sérique élevé en anticorps dirigés contre le virus EBL-1, souligne également l'existence d'infections inapparentes ou sub-cliniques chez ces animaux,
- la découverte en Allemagne, en 2001, d'une fouine (*Martes foina*) infectée par le virus EBL-1 souligne aussi la sensibilité des mustélidés à ce virus, notamment celle du furet (Müller et al., 2004),
- une infection par le virus EBL-1 a été enfin diagnostiquée, entre 1998 et 2002 au Danemark, chez cinq ovins ayant présenté des symptômes évoquant la rage (dont deux identifiés dans le même troupeau à quatre mois d'intervalle), soulignant la sensibilité de l'espèce à ce virus (Tjørnehøj et al., 2006). Dans ces cinq cas, les animaux malades avaient été euthanasiés au bout de trois à quatre jours d'évolution clinique.

Les difficultés rencontrées pour détecter le virus chez ces animaux soulignaient la présence de virus en faible quantité dans les échantillons nerveux.

Les seules observations sur l'excrétion salivaire éventuelle du virus EBL chez ces animaux découlent des études expérimentales, réalisées chez le chat (Fekadu et al., 1988 ; Neu, 1992), le furet (Vos et al., 2004), le mouton (Soria Baltazar et al., 1988 et 1992 ; Tjørnehøj et al., 2006 ; Brookes et al., 2007), et le renard (Soria Baltazar, 1988, Niezgoda et al., 2002 ; Vos et al., 2004 ; Picard-Meyer et al., 2008).

Toutes ces études ont montré la possibilité de reproduire une maladie mortelle chez ces espèces lorsqu'elles étaient infectées par inoculation intra-crâniale (IC) de virus EBL-1 ou EBL-2. Elles ont montré aussi leur faible sensibilité lorsque ces virus étaient inoculés par voie

périphérique (IM par exemple), seule une dose virale importante permettant de reproduire la maladie chez quelques sujets. Ces études ont montré enfin, chez les ovins (Brookes et al., 2007) et le renard (Vos et al., 2004 ; Picard-Meyer et al., 2008) que certains animaux guérissaient après avoir développé des symptômes nerveux durant plusieurs jours.

La virulence salivaire n'a pas fait l'objet d'investigations systématiques chez les sujets chez lesquels la rage a pu être reproduite. Seules des études réalisées chez le furet (Vos et al., 2004) ont permis d'identifier par PCR la présence du génome viral dans les glandes salivaires d'une faible proportion des animaux infectés, sans qu'aucun échantillon de salive s'avère néanmoins positif. Dans les autres cas, aucun des sujets infectés n'a excrété de virus dans sa salive. Il est cependant impossible de conclure de façon définitive sur cette question.

Dans le cas du chat, seul carnivore domestique reconnu infecté naturellement en France par virus EBL, on peut admettre, en raison de la faible quantité de virus trouvée dans les échantillons de tissu nerveux des animaux concernés (aucune recherche n'a été faite sur leur salive), que l'excrétion salivaire, si elle existe, est sans doute faible, tardive et limitée à la phase clinique. Cependant, ne pouvant conclure de façon catégorique sur ce fait, et dans l'attente de nouvelles données susceptibles de le confirmer ou de l'infirmier, il est prudent d'appliquer, pour ces animaux, le délai de 20 jours retenu précédemment pour la rage due au Lyssavirus de type 1, en limitant le statut de « contaminés » (au sens réglementaire du terme) aux seuls animaux ayant été mordus par le carnivore reconnu infecté.

3) Synthèse des propositions

Les durées maximales proposées pour l'excrétion salivaire potentielle du virus rabique selon les espèces de mammifères reconnues enrégées sont présentées dans le tableau I ci-après.

Tableau I : Durées maximales proposées pour l'excrétion salivaire potentielle du virus rabique selon les espèces de mammifères reconnues enrégées.

Génotype	Mammifères domestiques	Herbivores et suidés sauvages	Carnivores sauvages	Chiroptères non hématophages	Chiroptères hématophages
1	20 jours avant la mort		40 jours avant la mort	Risque potentiel permanent	Risque potentiel permanent
5 et 6	20 jours avant la mort			Risque potentiel permanent	Ne s'applique pas*

* NB : les vampires n'existent qu'en Amérique tropicale et le génotype 1 n'est connu des chiroptères que sur le continent américain. Les génotypes 5 et 6 ne sont connus à ce jour que du continent européen.

Conclusion et recommandations

A la question posée « **confirmer la pertinence d'une période à risque de 20 jours telle que retenue ci-dessus pour les carnivores domestiques et définir à quelles espèces cette période peut s'appliquer (chien, chat et furet ?)** », le CES SA donne une réponse **positive**, en soulignant que le choix de cette durée s'avère judicieux pour couvrir la quasi totalité des situations lorsque ces espèces sont contaminées par un Lyssavirus de génotype 1. Il est aussi pertinent de retenir ce délai lorsque le carnivore (notamment le chat, seul carnivore domestique reconnu atteint dans les conditions naturelles en France par EBLV-1) est infecté par un Lyssavirus des génotypes 5 (virus EBL-1) ou 6 (virus EBL-2), même si les (rares) données disponibles suggèrent une excrétion virale salivaire faible et sans doute limitée à la phase clinique de la maladie.

Dans le cas des autres espèces domestiques sensibles (bovins, équidés...) infectées par un Lyssavirus de génotype 1, le CES SA considère que seules sont importantes les morsures avérées éventuellement occasionnées à d'autres animaux (voire les projections de salive) pendant la phase d'évolution clinique. Cependant, dans le but de définir une durée applicable à l'ensemble des espèces domestiques, **il est souhaitable de retenir une durée de 20 jours précédant la mort** des herbivores et suidés domestiques comme période à risque d'excrétion salivaire potentielle.

A la question posée « **comment déterminer cette période (période à risque d'excrétion salivaire de virus rabique quand seule la date de la mort de l'animal est connue) pour les animaux sauvages, y compris les chiroptères insectivores ?** », le CES SA répond en distinguant le cas des carnivores sauvages, notamment le renard, de celui des chiroptères :

- **lorsque l'animal reconnu enragé est un renard infecté par un Lyssavirus de génotype 1**, et sur la base des études réalisées lors d'infection des animaux par des souches d'origine vulpine, **la période à risque d'excrétion salivaire devrait être étendue à 40 jours avant la mort ;**

- **lorsque l'animal sauvage reconnu enragé est un chiroptère**, aussi bien dans le cas des vampires infectés par un virus de génotype 1 (situation en Guyane française), que celui des chauves-souris insectivores infectées par un virus EBL-1 ou EBL-2 (situation en France métropolitaine et en Europe), le CES SA juge impossible de définir une durée maximale à risque, une grande proportion de ces animaux étant susceptible de développer une infection inapparente ou sub-clinique et certains étant susceptibles d'excréter du virus sans présenter de signe clinique. Il est en outre tout à fait probable que la période d'excrétion puisse varier très largement d'une espèce à l'autre. **Le CES SA estime que seule la notion de contact avéré est à prendre en compte et que toute constatation de morsure doit être considérée comme une possibilité de contamination éventuelle.**

En réponse à la dernière question posée, comme le précisait déjà l'avis de l'Afssa 2008-SA-0369, du 17 février 2009, relatif à la gestion des animaux contaminés de rage, **le CES SA confirme être favorable à restreindre la définition de « carnivore contaminé », lorsque l'animal contaminant est une chauve-souris insectivore reconnue infectée par un virus EBL-1 ou EBL 2, aux seuls carnivores domestiques sensibles ayant eu un contact avéré avec cet animal.**

Références bibliographiques

1. Aguilar-Setien A, Loza-rubio E, Salas-Rojas M, Brisseau N, Cliquet F et al. (2005). Salivary excretion of rabies virus by healthy vampire bats. *Epidemiol. Infect.*, 133: 517-522.
2. Andral L, Sérié C (1965). Etudes expérimentales sur la rage en Ethiopie. IV.- Infection rabique latente. Porteur asymptomatique ou porteur silencieux. *Anns. Inst. Pasteur Paris*, XX: 442-450.
3. Artois M, Aubert MFA, Blancou J, Pericard M (1984). Rage expérimentale du chat : sensibilité - symptômes – excrétion du virus. *Revue Méd Vét.*, 135: 281-287.
4. Aubert MFA, Blancou J, Barrat j, Artois M, Barrat MJ (1991). Transmission et pathogénie chez le renard roux de deux isolats à dix ans d'intervalle du virus de la rage vulpine. *Ann Rec Vet.*, 22: 77-93.
5. Blancou J, Andral L, Samudio A, Crispim LS (1979). Rage expérimentale du renard roux (*Vulpes vulpes*) : II. Excrétion du virus rabique après infection. *Revue Méd Vét.*, 130: 1473-1482.
6. Blancou J, Aubert MFA, Andral L, Artois M (1979). Rage expérimentale du renard roux (*Vulpes vulpes*) : I. Sensibilité selon la voie d'infection et la dose infectante. *Revue Méd Vét.*, 130: 1001-1015.
7. Blancou J, Aubert MFA, Artois M (1982). Rage expérimentale du furet (*Mustela putorius furo*). *Revue Méd Vét.*, 133: 553-557.
8. Brookes SM, Klopfleissch R, Müller T, Healy DM, Teifke JP. et al. (2007). Susceptibility of sheep to European bat Lyssavirus type-1 and -2 infection : a clinical pathogenesis study. *Vet Microbiol.*, 125: 210-223.
9. Centre National d'Etudes sur la Rage (1977). *Bulletin épidémiologique mensuel*.
10. Dacheux L, Bourhy H (2009). Identification de deux cas de rage chez des chiens introduits illégalement en France à partir de zones d'enzootie rabique. *Bulletin épidémiologique mensuel de la rage animale en France*, 38 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,9) : 1-5.
11. Dacheux L, Larrous F, Mailles A, Boisseleau D, Delmas O et al. (2009). European bat Lyssavirus transmission among cats, Europe. *Emerging Infect Dis.*, 15: 280-284.
12. Fekadu M, Shaddock JH, Baer GM (1982) Excretion of rabies virus in the saliva of dogs. *J Infect Dis*, 145: 715-719.
13. Fekadu M, Shaddock JH, Chandler FW, Sanderlin DW (1988). Pathogenesis of rabies virus from a Danish bat (*Eptesicus serotinus*) neuronal changes suggestive of spongiosis. *Arch Virol.*, 99: 187-203.
14. Freuling C, Grossmann E., Conraths F.J., Schameitat A, Kliemt J. et al. (2008). First isolation of EBLV-2 in Germany. *Vet Microbiol.*, 131: 26-34.
15. Jackson FR, Turmelle AS, Farino DM, Franka R, McCracken GF, Rupprecht CE (2008). Experimental rabies virus infection of big brown bats (*Eptesicus fuscus*). *J Wildl Dis.*, 44: 612-621.
16. Johnson N, Vos A, Neubert L, Freuling C, Mansfield KL, Kaipf I et al. (2008). Experimental study of European bat Lyssavirus type-2 infection in Daubanton's bats (*Myotis daubentonii*). *J Virol.*, 89: 2662-2672.
17. Konradi D (1914). Die Vererbung der Wut. *Zentbl Bakt Parasitkde*, 73: 287 (cité par Blancou et al., 1979).
18. Martell MA, Batalla C, Baer GM, Benignos y Agunas J (1974). Experimental bovine paralytic rabies « derriengue ». *Vet Rec.*, 95: 527-530.
19. Müller T, Cox J, Peter W, Schäfer R, Johnson N et al. (2004). Spill-over of European bat Lyssavirus type-1 into a stone marten (*Martes foina*) in Germany. *J Med Vet B*, 51: 49-54.
20. Neu C (1992). Le Lyssavirus de la chauve-souris européenne. Pouvoir pathogène expérimental et protection conférée par les vaccins antirabiques. Thèse vétérinaire, Nantes.
21. Niezgodna M, Briggs DJ, Shaddock J, Dreesen J, Rupprecht CE (1997). Pathogenesis of experimentally induced rabies in domestic ferret. *Am J Vet Res.*, 58: 1327-31.
22. Niezgodna M, Briggs DJ, Shaddock J, Rupprecht CE (1998). Viral excretion in domestic ferrets (*Mustela putorius furo*) inoculated with a raccoon rabies isolate. *Am J Vet Res.*, 59: 1629-32.

23. Niezgoda M, Hanlon CA, Ruprecht CE (2002). *Animal rabies*. In : Jackson AB and Wunner WH (eds), *Rabies*, pp.163-218. Academic Press, San Diego, CA. (cité par Vos et al., 2004).
24. Pepin M, Blancou J, Aubert MF (1984). *Rage expérimentale des bovins : sensibilité, symptômes, réactions immunitaires humorales, lésions et excrétion du virus*. *Ann Rec Vét.*, 15: 325-333.
25. Picard-Meyer E, Brookes SM, Barrat J, Litaize E, Patron C et al. (2008). *Experimental infection of foxes with European bat Lyssavirus-1 and -2*. *Dev Biol. Basel (Karger)*, 131: 339-45.
26. Rueff C, Blancou J, Andral L (1978). *La salive des bovins enrégés est-elle virulente ? Etude bibliographique et expérimentale*. *Revue Méd Vét.*, 129: 895-909.
27. Soria Baltazar R, Artois M, Blancou J (1992). *Infeccion experimental de ovinos por un virus de la rabia de origien canino : estudio del poder patogeno para esta especie*. *Rev Sci Techn Off Int Epiz*, 11: 829-836.
28. Soria-Baltazar R, Blancou J, Artois M (1988). *Etude du virus de la rage isolé d'une chauve-souris « Eptesicus serotinus » : pouvoir pathogène pour les ovins et le renard roux*. *Rev Méd Vet.*, 139: 615-321.
29. Tjørnehøj K, Rønsholt L, Fooks AR (2004). *Antibodies to EBLV-1 in a domestic cat in Denmark*. *Vet Rec.*, 155: 571-572.
30. Tjørnehøj K, Fooks AR, Agerholm JS, Rønsholt L (2006). *Natural and experimental infection of sheep with European bat Lyssavirus type-1 of Danish bat origin*. *J Comp Path.*, 134: 190-2001.
31. Vasquez-Moron S, Juste J, Ibanéz C, Ruiz-Villamor E, Avellon A et al. (2008). *Endemic circulation of European bat Lyssavirus type 1 in serotine bats, Spain*. *Emerging Infect Dis*. 14: 1263-1266.
32. Vaughn JB, Gerhardt P, Paterson JCS (1963). *Excretion of street rabies virus in saliva of cats*. *J Am Med Ass.*, 184: 705-708.
33. Vos A, Müller T, Neubert L, Zurbruggen A, Botteron C et al. (2004). *Rabies in red foxes (Vulpes vulpes) experimentally infected with European bat Lyssavirus type-1*. *J Med Vet B*, 51: 327-332.
34. Vos A, Müller T, Cox J, Neubert L, Fooks AR (2004). *Susceptibility of ferrets (Mustela putorius furo) to experimentally induced rabies with European bat Lyssaviruses*. *J Med Vet B*, 51: 55-60.

Mots clés : rage, excrétion virale, carnivores domestiques, animaux domestiques, animaux sauvages »

Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Tels sont les éléments d'analyse que l'Afssa est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la Direction générale de l'alimentation concernant la définition des périodes d'excrétion virale relatives aux animaux en fin d'incubation de rage.

La Directrice générale de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Pascale BRIAND