



Ecole nationale Vétérinaire d'Alfort

MASTER 2^{ème} ANNEE

Santé publique Paris Sud-Saclay et Santé UPEC

Dominante

**SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE DES MALADIES
HUMAINES ET ANIMALES**

RAPPORT DE STAGE

**ETUDE DE QUELQUES CARACTERISTIQUES DE LA RAGE CHEZ
LE CHIEN ET LE RENARD A PARTIR D'INOCULATIONS
EXPERIMENTALES HOMOLOGUE ET HETEROLOGUES**

Présenté par

Koceila ADJAOUD

Réalisé sous la direction de : Jacques BARRAT, Florence CLIQUET, Elodie MONCHATRE-
LEROY, Emmanuelle ROBARDET

Organisme et pays : LRFSN/SEA, Anses Nancy, France

Période du stage : Janvier à juin 2018

Date de soutenance : Lundi 25 juin 2018

Année universitaire 2017-2018

Remerciements

A Madame Monchatre –Leroy :

Directrice de l'Anses, Laboratoire de la Rage et de la Faune sauvage,

Qui m'a accueillie au sein de son laboratoire,

Pour sa motivation, ses corrections détaillées et ses conseils en biostatistique et en épidémiologie

Pour m'avoir orienté et encouragé durant toute la durée de mon stage, tellement gentille

Remerciement sincères

A Monsieur Barrat Jacques

Expert de l'OIE pour la rage,

Responsable de la plate-forme d'expérimentation animale d'Atton, Anses de Nancy,

Qui a inspiré ce sujet,

Pour sa sympathie, son aide précieuse et pour son savoir encyclopédique sur la rage qu'il a voulu partagé avec moi

Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude

Je tiens à remercier Florence Cliquet, chef de l'unité des Lyssavirus à l'Anses pour ses corrections et orientations.

Remerciements à Emmanuelle Robardet pour son aide précieuse en statistique et le temps qu'elle m'a accordé.

Remerciements chaleureuses à Céline Richomme pour son appui épidémiologique.

Je remercie très sincèrement les membres de mon Jury :

Dr Anne Praud et Dr Florence Canoui Poitrine de m'avoir fait l'honneur d'être membres de Jury de mon mémoire.

A ma famille

Un grand merci à mes parents MohAli et Fazia, à mes soeurs qui m'ont tout le temps apporté le soutien moral et à Nouara pour sa tendresse.

Je remercie infiniment monsieur Loic Josseran d'avoir été accepté d'être tuteur de mon stage et pour son aide au niveau administrative.

Merci au professeur Barbara Dufour et toute l'équipe du Master 2 Surveillance Epidémiologique des Maladies Humaines et Animales

Résumé court

La rage est une zoonose présente sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique. Dans les pays d'enzootie rabique, en particulier en Afrique et en Asie, le maintien de la maladie est assuré par le chien. Pendant l'épizootie européenne, le renard a joué un rôle fondamental dans la transmission et le maintien de la maladie. Cette étude avait pour but d'estimer l'impact de plusieurs facteurs sur la transmissibilité en fonction de l'espèce ; la quantité de virus contaminant, les facteurs intrinsèques de l'animal et la souche virale inoculée. Pour ce faire les résultats cliniques des expérimentations réalisés à la station d'Atton du LRFSN à savoir le délai de mortalité et/ou la présence du virus dans les glandes salivaires de 99 chiens et 142 renards ont été étudiés. Dans le système homologue, il est apparu que plus le chien est contaminé avec une faible dose de la souche virale canine tunisienne, plus le délai de mortalité était long et plus il y avait de risque de présence du virus dans les glandes salivaires. Pour un renard, le risque instantané de survenue de la mort est moins élevé avec la souche la plus ancienne. Dans le système hétérologue, il n'y avait pas de lien entre la dose virale canine et le délai de mortalité des renards et il n'y avait pas de différence sur les facteurs estimés quand les chiens et les renards sont inoculés la même souche virale canine. Les profils prédictifs associés à des facteurs clefs (dose et souche) de la maladie peuvent permettre de poser des hypothèses sur le maintien du cycle au sein de chaque espèce, sur le franchissement de la barrière d'espèce et l'émergence de la maladie.

Mots clés

Rage canine, rage vulpine, pathogénie, excrétion salivaire, épidémiologie.

Résumé long

La rage est une maladie virale infectieuse qui peut affecter tous les mammifères. Elle est toujours mortelle après l'apparition des signes cliniques. C'est une zoonose présente sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique. En Europe, le renard joue un rôle majeur dans la transmission de la maladie aux autres espèces et y compris l'homme. Dans les pays d'enzootie, en particulier en Afrique et en Asie, le chien joue un rôle prépondérant dans le maintien de la maladie. Il est à la fois réservoir et vecteur du RABV.

Le virus rabique peut accidentellement être trouvé dans des espèces autres que leurs hôtes habituels. Son adaptation réussie à une autre espèce candidate nécessite des conditions optimales, telles qu'une susceptibilité minimale de l'espèce au virus, une ré-excrétion minimale du virus par les glandes salivaires (GS) et un comportement adapté et selon que ces conditions existent ou pas, un nouveau cycle pourrait être établi.

La durée d'incubation de la rage dépend de plusieurs facteurs à savoir, la dose virale, la voie d'inoculation, la souche virale et le lieu d'inoculation. Le virus parvient aux glandes salivaires et s'y multiplie. La virulence de la salive est une notion capitale qui conditionne toute l'épidémiologie de la rage. La ré-excrétion du virus canin par le chien survient dans 60 à 90 % des cas en fonction des doses de virus contaminant. Chez le renard, la fréquence et le niveau de l'excrétion salivaire sont plus importantes ; le virus est ré-excrété dans 90-95% des cas. Les scores sont toujours inférieurs dans le cas d'infection avec un virus hétérologue.

L'adaptation du virus rabique vulpin d'Europe à son hôte, le renard, se traduit par un grand pouvoir pathogène (très peu de virus suffit à déclencher la rage chez un renard) et par une forte excrétion de virus dans la salive. La combinaison de ces deux phénomènes rend l'infection pratiquement certaine, lors de contact par morsure entre un renard sain et un congénère enrégé. En revanche, ce risque est considérablement moins élevé lors du contact de ce dernier avec un carnivore d'une autre espèce.

Si la dose contaminante de virus lors d'une morsure de renard est estimée et peut faire varier l'évolution de la maladie et le risque de transmission, la souche et la dose de virus peut modifier l'intensité de quelques paramètres cliniques de la rage tel le délai de mortalité. Sa diminution s'accompagne d'une baisse du risque de transmission du virus.

Ces essais cliniques ont eu pour objectif de décrire et de quantifier l'association entre les paramètres de la rage engendrés par la dose virale d'une souche canine tunisienne. Pour les renards, l'étude a eu pour objectif de décrire et de quantifier l'association entre les paramètres de la maladie induite par la souche vulpine française. Enfin, ces essais ont eu pour objectif de comparer les paramètres de la maladie entre les deux espèces.

L'étude s'inscrit dans le volet n°3 du projet de recherche scientifique européen FP7 Predemics. L'objectif principal de ce volet était d'étudier les relations entre le virus et son hôte d'une part et de démêler les interactions complexes entre les facteurs impliqués dans les étapes de l'émergence, à savoir l'exposition, l'introduction dans une nouvelle espèce et la propagation dans les populations humaines. Notre étude est basée sur les données de l'expérimentation conduite à la station expérimentale d'Atton du LRFSN dans le cadre de Predemics et sur d'autres données provenant d'autres expérimentations sur le virus rabique.

Matériel et méthodes

Système homologue-chien

Les données cliniques individuelles ont été recueillies à partir d'un échantillon de 99, tous inoculés avec la souche virale tunisienne « Ariana ». Pour étudier l'effet de la dose de la souche canine sur le délai de mortalité, un échantillon de 42 chiens a été utilisé et un autre échantillon de 30 chiens a été utilisé pour étudier la présence du virus dans les glandes salivaires.

Système homologue-renard

Les données sont issues de renards inoculés avec différents isolats (GS3, GS5, GS7-1, GS7-2, GS7-3, GS7-4) de virus rabiques préparés à partir des GS de renards naturellement enrégés en France et reçus pour diagnostic à l'Anses de Nancy. L'étude s'intéresse à l'effet de la souche sur le délai de mortalité.

Les isolats GS3, GS5 et GS7 ont été préparés à partir des GS de 1 à 3 renards reçus pour diagnostic de rage respectivement en 1976, en 1982 et 1986.

Chaque stock (GS7-1, GS7-2 et GS7-3) a été préparé à partir des glandes salivaires d'un seul renard inoculé avec GS7, GS7-1 et GS7-2 successivement. Le stock GS7-4 est le pool de GS de six renards inoculés avec GS7-3. Au total 142 renards ont été inoculés par voie IM avec les différents stocks.

Système hétérologue-chien

La difficulté à infecter expérimentalement un chien avec une souche vulpine n'a pas permis d'obtenir des passages en série, c'est-à-dire un chien développant la rage et avec du virus rabique dans les glandes salivaires.

Système hétérologue-renard

La même souche que celle utilisée dans le système homologue chien a été utilisée pour inoculer 12 renards par voie intramusculaire. Le délai de mortalité et la présence du virus dans les glandes salivaires ont été les deux paramètres recueillis par suivi clinique individuel des animaux.

Résultats

Système homologue-chien

Nos résultats ont montré une corrélation négative entre le délai de mortalité et la dose virale inoculée sur les deux échantillons étudiés (échantillon de 17 chiens avec un coefficient de Spearman = -0.65, p-value = 0.005 et échantillon de 42 chiens avec un coefficient de Pearson = -0.7, p-value = 5.25 E-07).

La force d'association entre la dose virale inoculée et la présence du virus dans les glandes salivaires était fortement significative (OR = 0.4 [0.15-0.85]).

Système homologue-renard

Les analyses préliminaires sur les différents stocks de la souche GS7-1 ont montré une différence significative entre les différents groupes des renards inoculés avec les stocks différenciés en fonction du nombre de passages (GS7-1 à GS7-4) (Kruskall-Wallis avec une p-value = 1,2 E-6).

De ce fait, seul le stock GS7-1 a été utilisé comparativement aux stocks produits à partir de virus isolé de renards naturellement enrégés (GS3 et GS5). Une différence significative des 3 groupes en fonction de la souche inoculée est montrée (Kruskall-Wallis avec une p-value = 0.003). Les rapports des risques instantanés de survenue de la mort des renards inoculés avec les 3 différentes souches étaient fortement significatifs (HR GS5 = 6[2.25 - 19.60], HR GS7-1 = 3[1.10 - 9.01]).

Système hétérologue-renard

Notre analyse n'a pas mis en évidence un lien significatif entre la dose virale canine et le délai de mortalité des renards (Coefficient de Spearman = -0.3, p-value = 0.32).

La comparaison entre les délais de mortalité des chiens et renards inoculés avec la souche canine n'a pas en évidence une différence significative (Test de Wilcoxon, p-value = 0.2).

Discussion

Système homologue-chien

Pour un chien, une faible dose de virus permet de prolonger le délai de mortalité et d'augmenter la probabilité d'excrétion salivaire du virus. Le fait de considérer cet élément comme généralisable pour toutes les zones d'endémie de rage canine et pour d'autres espèces est argumenté.

Système homologue-renard

Pour un renard, la souche la plus ancienne tue moins vite et donc favorise les rencontres avec d'autres animaux sains et augmente le risque de transmission de la maladie. L'impact sur la propagation et l'extension géographique de la maladie est envisagé.

Système hétérologue-renard

L'absence de relation significative entre le délai de mortalité et la dose de la souche inoculée de notre étude pourrait provenir d'un manque de puissance statistique vu le faible nombre d'animaux exploités (12 renards), ou alors d'une relation inexistante entre ces paramètres. La confirmation de ce lien dans une étude ultérieure sur renard et sur d'autre réservoir de la rage tel le chien viverrin est souhaitable. Cela permettrait d'expliquer les observations épidémiologiques faites dans les zones contaminées simultanément par les deux types de rage canine et vulpine et leurs modes d'évolution.

L'absence de différence de délai de mortalité entre les renards et les chiens tous inoculés avec la souche Ariana peut aussi être dû à un manque de puissance ou une absence de relation. Le temps de rencontre avec un individu sain serait le même que se soit pour un chien ou un renard contaminé avec la même souche. Cette adaptation réussie du virus canin au renard pourrait avoir comme conséquence l'émergence de la rage canine au sein de l'espèce vulpine.

Conclusion

Avec le système homologue, le délai de mortalité et l'excrétion salivaire du virus rabique permettent une première caractérisation du risque de transmission de la rage canine et vulpine. Il est plus élevé quand il s'agit d'un chien contaminé avec une faible dose du virus et un renard contaminé par une souche ancienne. Un délai de mortalité plus élevé permet une persistance du risque de transmission, un maintien de cycle au sein de chaque espèce mais aussi une évolution indépendante des deux types de rage.

Concernant le système hétérologue, la présence du virus dans les glandes salivaires des renards inoculés et l'absence de différence de délai de mortalité chez les deux espèces prouvent en partie une transmission possible et une évolution dépendante de la rage canine.

Index des abréviations

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

DL₅₀ ICS: Dose létale 50 intracérébrale souris

GS : Glandes salivaires

IF/FAT : Test d'immunofluorescence sur anti-corps

IM : Intra-musculaire

MESR : Ministère de l'enseignement supérieur de la recherche et de l'innovation

OIE : Office international des épizooties

OMS : Organisation mondiale de la santé

PCR : Polymerase chain reaction

RABV : Virus rabique

SNC : Système nerveux central

Index des tableaux

Tableau 1: Importation d'animaux domestiques enragés en Europe (2000-2017)	5
Tableau 2: Répartition des chiens en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n= 99 chiens)	16
Tableau 3: Résultats du test de diagnostic de rage (FAT) sur les glandes salivaires des chiens de l'échantillon (n= 30 chiens)	19
Tableau 4: Mesures de dispersion de la variable délai de mortalité des renards inoculés avec les différents stocks de la souche GS7	21
Tableau 5: Mesures de dispersion de la variable délai de mortalité des renards inoculés avec les différentes souches (GS3, GS5 et GS7-1)	22
Tableau 6: Hazard Ratio (HR) du modèle de Cox univarié expliquant le délai de survie des renards pour la variable souche	23
Tableau 7: Mesures de dispersion de la variable délai de mortalité chez les chiens et les renards inoculés avec la même souche virale canine	27
Tableau 8: Synthèse des constats réalisés	28

Index des figures

Figure 1: Distribution mondiale de la rage humaine transmise par le chien	1
Figure 2: Cinétique de migration et Figure 3: Evolution de la rage vulpine en France de 1968 à 2003 de multiplication du virus rabique.....	2
Figure 4: Répartition des cas de rage des mammifères domestiques en Europe en 1992 et 2016	4
Figure 5: Répartition des cas de rage des mammifères sauvages non-volants en Europe en 1992 et 2016.....	4
Figure 6: Probabilité d'excrétion pré-symptomatique du virus rabique	7
Figure 7: Cycle épidémiologique classique de la rage	8
Figure 8: Boîte à moustache de distribution des délais de mortalité des chiens de l'échantillon (n= 17 chiens)	14
Figure 9: Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des chiens en fonction de la dose virale inoculés dans l'échantillon (n= 17 chiens).....	14
Figure 10: Distribution de la dose virale inoculée en fonction de l'âge et du sexe des chiens de l'échantillon (n= 99 chiens)	15
Figure 11: Boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des chiens de l'échantillon (n= 99 chiens)	16
Figure 12: Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des chiens en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n= 99 chiens)	16
Figure 13: Boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des chiens de l'échantillon (n= 42 chiens)	17
Figure 14: Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des chiens en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n= 42 chiens)	17
Figure 15: Régression entre le délai de mortalité des chiens et les doses virales inoculées dans l'échantillon (n= 42 chiens)	18
Figure 16: Diagramme en boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des renards en fonction du nombre de passages de la souche GS7	20
Figure 17: Diagramme en boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des renards en fonction de la souches inoculée.....	22
Figure 18: Courbe de Kaplan Meier du délai e survie des renards inoculés avec les différentes souches (GS3, GS5 et GS7-1).....	23
Figure 19: Boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des renards de l'échantillon (n= 12 renards).....	24
Figure 20: Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des renards en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n= 12 renards).....	25
Figure 21: Diagramme en boîte à moustache de la distribution des doses virales inoculées aux deux espèces (Canine et Vulpine)	25
Figure 22: Graphe en nuage des points de la distribution des délais de mortalité (chiens renards confondus) en fonction de la dose virale inoculée	26
Figure 23: Diagramme en boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité chez les deux espèces (Canine-Vulpine).....	26
Figure 24: Synthèse sur le risque de transmission et l'évolution de la rage canine et vulpine	31

Sommaire

PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	1
I. Généralités sur la rage	1
I.1. Définition de la rage	1
I.2. Répartition mondiale de la rage	1
I.3. Etiologie et pathogénie de la rage	2
I.4. Diagnostic de la rage	3
II. Epidémiologie de la rage	3
II.1. Historique et situation épidémiologique de la rage en France et en Europe	3
II.2. Epidémiologie analytique	6
II.2.1. Sources et matières virulentes.....	6
II.2.2. Modalité de la contagion.....	7
II.3. Epidémiologie synthétique	7
II.3.1. La rage canine.....	7
II.3.2. La rage vulpine	8
DEUXIEME PARTIE : CONTRIBUTION PERSONNELLE	9
I. Introduction / contexte / problématique	9
II. Matériels et méthodes	11
II.1. Types d'études	11
II.1.1. Système homologue sur chien	11
II.1.2. Système homologue sur renard.....	11
II.1.3. Système hétérologue sur chien	11
II.1.4. Système hétérologue sur renard.....	12
II.2. Base de données	12
II.2.1. Recueil de données	12
II.2.2. Constitution de la base de données	12
II.3. Logiciel	13
II.4. Test et outils statistiques	13
III. Résultats	15
III.1. Système homologue sur chien	15
a). Doses virales inoculées	16
b). Les délais de mortalité	16
c). Diagnostic de laboratoire FAT sur les glandes salivaires	19

III.2. Système homologue sur renard	20
III.2.1. Délais de mortalité en fonction du passage de la souche GS7	20
III.2.2. Délais de mortalité en fonction de la souche inoculée	22
III.3. Système hétérologue sur renard	24
IV. Discussion.....	28
IV.1. Système homologue-chiens.....	28
IV.2. Système homologue sur renards	30
IV.3. Système hétérologue sur renard	30
V. Conclusion	33
BIBLIOGRAPHIE	34

PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur la rage

I.1. Définition de la rage

La rage est une maladie virale infectieuse qui peut affecter tous les mammifères. Elle est toujours mortelle après l'apparition des signes cliniques (OMS, 2017). Il s'agit d'une zoonose majeure dont l'importance mondiale est considérable notamment dans les pays où la maladie est enzootique. Le virus tue environ 59 000 personnes chaque année (I-C à 95% : 25-159 000), principalement parmi les populations d'Afrique et d'Asie (Hampson *et al.*, 2015). En France, elle est inscrite dans la liste des dangers sanitaires de première catégorie.

I.2. Répartition mondiale de la rage

La rage est une maladie à déclaration obligatoire dans de nombreux pays, mais la surveillance est souvent insuffisante. C'est une maladie négligée qui touche souvent des populations pauvres et vulnérables et il est de plus en plus admis que les données disponibles sous-estiment l'incidence réelle de la maladie (Taylor *et al.*, 2015). Elle est présente sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique. Elle touche actuellement plus de 150 pays et territoires (Figure 1) (Fooks *et al.*, 2017).

Dans les pays en développement, la rage domestique est présente avec le chien comme réservoir, elle est responsable de 99% des cas humains détectés dans le monde, répartis entre l'Asie (56%) et l'Afrique (44%) (Knobel *et al.*, 2005). Les enfants sont plus exposés au risque de morsures des chiens que les adultes (Schalamon *et al.*, 2006). En moyenne 40% des décès humains se produisent chez les enfants de moins de 15 ans (Lunney, 2009, Hampson *et al.*, 2015). Dans les pays industrialisés, la rage est entretenue chez les mammifères sauvages avec différents réservoirs et vecteurs (renard, chien viverrin, raton laveur, mouffette et mangouste).

Figure 1 : Distribution mondiale de la rage humaine transmise par le chien (Fooks *et al.*, 2017)



I.3. Etiologie et pathogénie de la rage

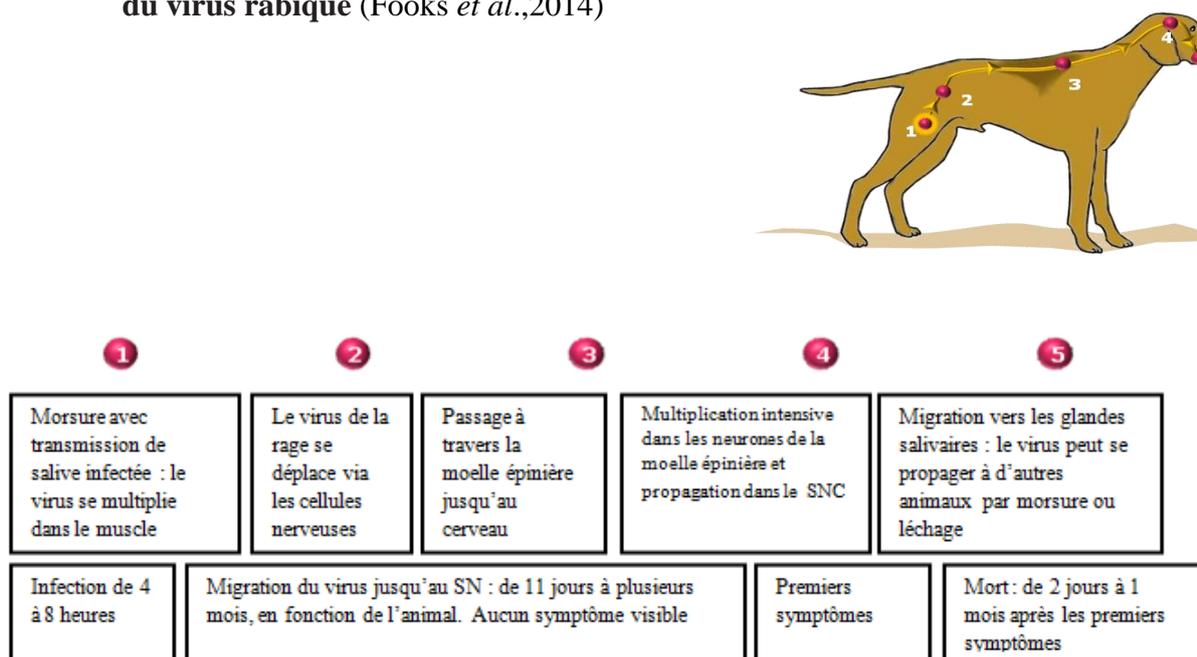
La rage est due à une infection par un virus du genre *Lyssavirus* et qui appartient à la famille des *Rhabdoviridae* (Suu-Ire et al.,2018). La majorité des différentes espèces de *Lyssavirus* a été détectée chez les chauves-souris, qui sont considérées comme les représentantes de l'hôte ancestral de ce genre viral (Banyar, 2011 ; Hayman *et al.*,2016).

RABV est l'espèce virale la plus classique au sein du genre *Lyssavirus* (Afonso *et al.*, 2016). Elle est maintenue par le chien dans le monde entier, par les chauves-souris en Amérique (Haddad et Bourhy, 2015) et par certains mammifères sauvages (renard roux et polaire, chien viverrin, raton laveur, moufette et mangouste). Le virus rabique peut accidentellement être trouvé dans des espèces autres que leurs hôtes habituels. Des études phylogénétiques des séquences de RABV ont démontré que certaines souches du virus RABV peuvent être isolées sur des espèces hôtes différentes (Nel, 1993 ; Kuzmin ,2008 ; Hanke *et al.*,2016). Les franchissements de la barrière d'espèce (où le virus est maintenu dans un nouvel hôte) se produisent rarement; cependant, une étude menée aux États-Unis a déterminé que les transmissions inter espèces impliquant le variant RABV du raton laveur ont augmenté sur une période de 20 ans, tant chez les animaux sauvages que chez les animaux domestiques (Wallace *et al.*, 2014). Ainsi une autre étude phylogénétique a démontré que la rage du renard émergeait dans l'Ouest de la Turquie était liée à la rage circulant chez les chiens de la même région du pays (Johnson *et al.*, 2003).

La propagation du virus au sein de différentes espèces et son adaptation à un nouveau réservoir sont encore assez mal compris, mais les facteurs hôtes, viraux et écologiques jouent tous un rôle important (Mollentze *et al.*,2014). Son adaptation réussie à une autre espèce nécessite des conditions optimales, telles qu'une susceptibilité minimale de l'espèce au virus, une ré-excrétion fréquente du virus dans la salive et un comportement adapté (Koprowski *et al.*,1985). Selon que ces conditions existent ou pas, un nouveau cycle pourrait être établi (Chien à renard roux en Europe, renard arctique à renard roux,...).

La durée d'incubation de la rage dépend de plusieurs facteurs à savoir, la dose virale, la voie d'inoculation, la souche virale et le lieu d'inoculation. En général elle est comprise entre une à six semaines mais elle peut atteindre à plusieurs mois pour les carnivores domestiques avec une valeur moyenne de 38 jours et un écart type de 45 jours pour les chats et les chiens (Jones *et al.*, 2005).

Figure 2: Cinétique de migration et de multiplication du virus rabique (Fooks *et al.*,2014)



I.4. Diagnostic de la rage

L'établissement d'un diagnostic clinique de la rage est délicat et d'une fiabilité limitée. En effet, les signes cliniques de la maladie, bien que dominés par des symptômes nerveux, restent pléomorphes et non spécifiques chez l'animal et l'homme. Seule l'hydrophobie peut être considérée comme pathognomonique de la rage humaine, mais elle n'est pas toujours retrouvée (Dacheux *et al.*, 2008). Ainsi la confirmation du statut enragé d'un animal ou d'un individu repose uniquement sur la réalisation du diagnostic en laboratoire, qui doit donc être le plus fiable possible en terme de sensibilité et de spécificité (Mallewa *et al.*, 2007).

Le diagnostic biologique est l'outil indispensable de tout programme de surveillance et de contrôle de la rage humaine et animale car il permet l'obtention de données épidémiologiques fiables (Dodet *et al.*, 2008). Le test d'immunofluorescence directe (IF/FAT) et le test sur culture cellulaire (RTCIT) sont les méthodes de diagnostic de rage couramment utilisées en conformité avec les normes de l'OIE et de l'OMS.

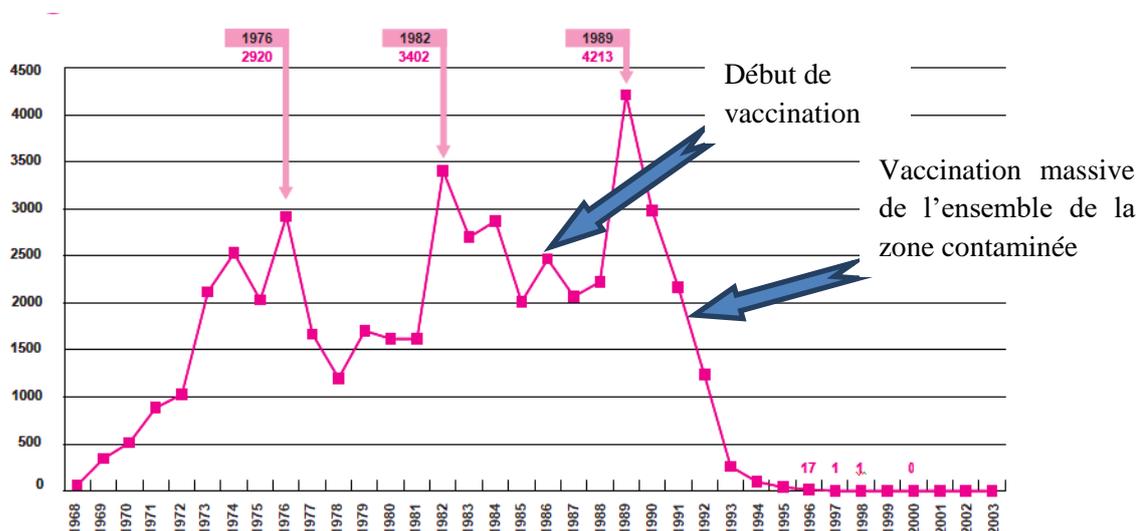
II. Epidémiologie de la rage

II.1. Historique et situation épidémiologique de la rage en France et en Europe

Au 19^{ème} siècle, la rage a été imputable aux chiens et aux loups en France et en Europe. Puis, au cours du 20^{ème} siècle, alors que la rage canine avait été progressivement éliminée d'Europe, la rage vulpine est apparue vers la fin de la seconde guerre mondiale en Europe de l'Est. Elle a progressé rapidement et touche la France pour la première fois en Moselle en mars 1968.

Au total, ce sont 49713 cas de rage autochtones qui ont été diagnostiqués en France au cours de l'épizootie de la rage vulpine qui a débuté en 1968. Parmi ces quelques 50000 cas de rage reportés, 38507 renards et 1784 autres animaux sauvages ont été montrés infectés (dont 552 blaireaux et 329 chevreuils) (WHO Rabies Bulletin, 2017). L'épizootie a été éliminée grâce aux campagnes de vaccination orale des renards initiées en 1985 (essais pilotes sur de petites zones) puis achevées en 2003, avec une année supplémentaire de campagne en 2005 (Picard-Meyer et Cliquet, 2011).

Figure 3 : Evolution de la rage vulpine en France de 1968 à 2003, d'après (Picard-Meyer et Cliquet, 2011)



Les campagnes de vaccination orale de la faune sauvage contre la rage ont permis de contrôler et d'éliminer la rage avec succès dans la plus-part des pays d'Europe occidentale, centrale et du nord (Robardet *et al.*, 2016)

Ainsi, les Pays Bas et la Finlande en 1991, l'Italie en 1997, la Suisse en 1998, la Belgique, le Luxembourg et la France en 2001, la république Tchèque en 2007, l'Allemagne et l'Autriche en 2008, l'Estonie en 2013, la Slovénie et la Lituanie en 2016 ont éliminé la rage et ont pu obtenir le statut indemne tel que défini par l'OIE (WHO Rabies Bulletin, 2017).

Après plus de dix années d'absence, en 2008, la rage est réapparue et s'est propagée chez les renards sauvages dans le nord-est de l'Italie. Afin de contrôler l'infection et de minimiser le risque d'exposition humaine, de nombreuses campagnes de vaccination orale antirabique ont été menées par distribution manuelle d'appât vaccinaux à partir de 2009. L'Italie a retrouvé le statut de pays indemne en 2013 (Mullati *et al.*,2013).

Figure 4 : Répartition des cas de rage des mammifères domestiques en Europe en 1992 et 2016 (WHO Rabies Bulletin, 2017)

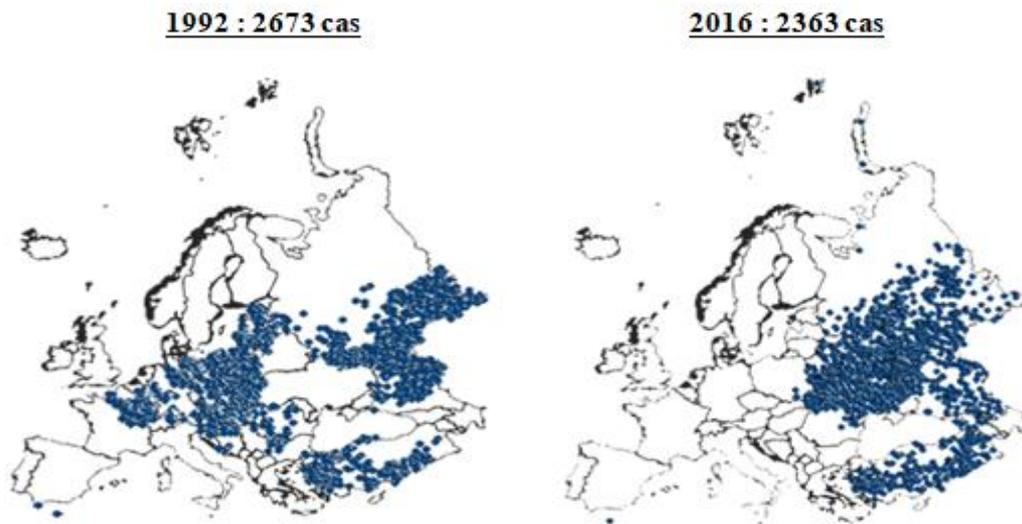
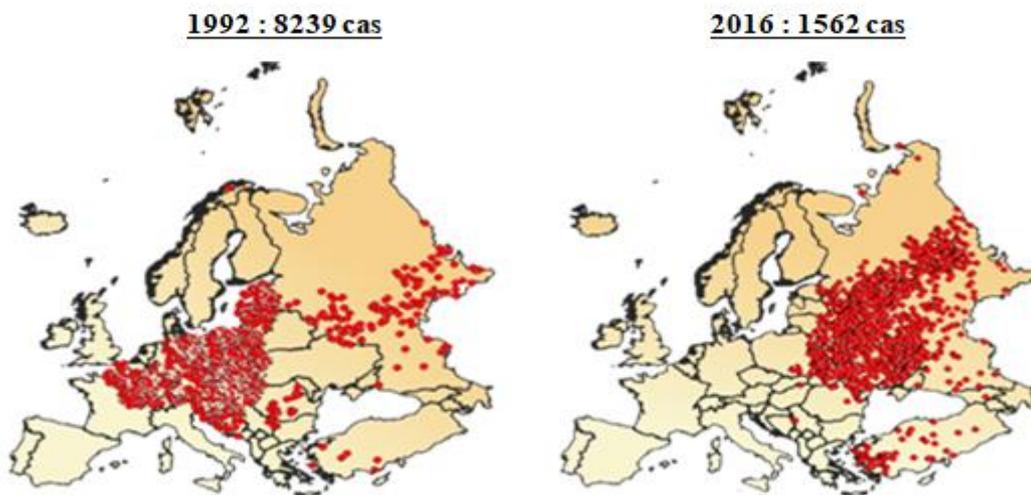


Figure 5 : Répartition des cas de rage des mammifères sauvages non-volants Europe en 1992 et 2016



Les figures 4 et 5 montrent que, de nombreux pays d'Europe sont désormais indemnes de rage-terrestre. La rage est encore présente dans les pays n'utilisant pas la vaccination orale, ou l'utilisant mais sur des échelles spatio-temporelles trop étroites. La rage des chiroptères persiste et le fait que de nombreuses espèces de chauves-souris soient protégées ne favorise pas les recherches envisageables sur ces dernières, afin de mieux comprendre la transmission du virus au sein des colonies et la façon dont le cycle peut se maintenir.

Les pays européens signalent régulièrement des cas de rage importés chez les chats et les chiens. Dans la plupart de ces cas, les animaux sont des chiots non vaccinés ou des jeunes chiens. De 2000 à 2013, un total de 22 animaux de compagnie importés en période d'incubation de la rage ont été enregistrés (21 chiens et un chat) (Cliquet *et al.*, 2014).

Le risque associé à l'importation d'animaux dépend de la situation géographique ainsi que des tendances du tourisme. En France, par exemple, les chiens enrégés ont souvent été importés du Maroc, un pays très apprécié des touristes voyageant en voiture à travers l'Espagne. En 2013, deux cas importés sont survenus en France et en Espagne, tous deux originaires du Maroc (Picard-Meyer *et al.*, 2013).

De telles importations illégales entraînent généralement l'administration d'un grand nombre de traitements humains post-exposition (Gautret *et al.*, 2011). De plus, ces cas importés constituent une menace de réintroduction de la rage dans les zones indemnes de la maladie. En 2008, la France a perdu son statut indemne de rage pendant deux ans en raison de cas secondaires après l'importation illégale d'un chien enrégé (Servat *et al.*, 2014).

Des cas de carnivores domestiques infectés et illégalement importés sont régulièrement rapportés malgré la mise en place d'une réglementation stricte. La rage demeure donc une menace permanente et importante pour les animaux en France et plus largement en Europe (Cliquet *et al.*, 2014), puisque depuis 2001, plusieurs alertes ont été enregistrées en Europe dont treize en provenance du Maroc .

Tableau 1 : Importation d'animaux domestiques enrégés en Europe (2000-2017)
(communication personnelle F. Cliquet)

Année	Espèce	Origine de l'Animal	Pays d'importation
2001	Chien	Népal	Allemagne
2001	Chiot	Maroc	France
2002	Chiot	Azerbaïdjan	Allemagne
2002	Chien	Maroc	France
2003	Chiot	Afrique du nord	Suisse
2004	Chiot	Maroc	France
2004	Chien	Maroc	France
2004	Chien	Maroc	France
2004	Chien	Maroc	Allemagne
2007	Chiot	Inde	Finlande
2007	Chiot	Maroc	Belgique
2008	Chien (+2 cas secondaires)	Maroc	France
2008	Chien	Gambie	Belgique/France
2008	Chiot	Sri Lanka	Royaume uni
2008	Chiot	Maroc	France
2008	Chiot	Croatie	Allemagne
2010	Chiot	Bosnie	Allemagne
2011	Chiot	Maroc	France
2012	Chiot	Maroc	Pays Bas
2013	Chien	Maroc	Espagne
2013	Chaton	Maroc	France
2015	Chien	Algérie	France

II.2. Epidémiologie analytique

II.2.1. Sources et matières virulentes

La source du virus rabique est représentée essentiellement par les animaux enrégés, dans les jours précédents les symptômes et pendant la phase clinique.

Les matières virulentes sont multiples. En fonction de leur importance épidémiologique, on peut distinguer une virulence interne et une virulence « externe », responsable de l'excrétion du virus. La virulence interne est constituée essentiellement par le Système Nerveux Central et le Système Nerveux Périphérique.

La virulence de la salive est une notion capitale qui conditionne toute l'épidémiologie de la rage. Le virus parvient aux glandes salivaires par les nerfs, s'y multiplie ainsi que dans certaines parties de la cavité buccale (épithélium lingual) Le lait, l'urine, la sueur et les larmes ont un rôle minime ou nul dans la transmission de la rage (Dufour et Toma, 2017).

Chez le chien, peu de données bibliographiques sont disponibles sur les relations existant entre la présence de virus rabique dans les glandes salivaires et la dose de l'inoculum. Dans l'étude de Fekadu et al., (Fekadu *et al.*, 1982) les chiens inoculés avec de faibles doses de la souche éthiopienne du virus rabique avaient des périodes d'incubation plus longues, des titres de virus plus élevés dans les glandes salivaires et des taux plus élevés d'excrétion virale dans la salive (Fekadu *et al.*, 1982).

Chez le renard, la fréquence et le niveau de l'excrétion salivaire sont plus importantes ; le virus est réexcrété dans 90-95% des cas chez le renard roux (Matouch *et al.*, 1984). Les scores sont toujours inférieurs dans le cas d'infection avec un virus hétérologue. La corrélation est toutefois inverse entre la dose de virus inoculée et le titre de virus trouvé dans les glandes salivaires (Blancou *et al.*, 1979)

Chez l'animal enrégé, la concentration du virus rabique dans la salive augmente au cours du temps ; l'excrétion du virus rabique dans la salive peut commencer avant les premiers symptômes de la maladie. La probabilité de trouver le virus rabique dans la salive d'un animal en fin d'incubation, ainsi que le titre de virus dans la salive augmentent au fur et à mesure que l'on se rapproche du moment de l'apparition des symptômes (Dufour et Toma, 2017).

Cette virulence pré-symptomatique de la salive entraîne comme conséquence la nécessité de mise sous surveillance de tout animal réceptif à la rage, mordant une personne (**imposée par la réglementation sanitaire française**)

Contexte réglementaire :

Conformément à la nouvelle disposition introduite par la **loi n°2008-582 du 20 juin 2008** renforçant les mesures de prévention et de protection des personnes contre les chiens dangereux, des obligations nouvelles existent en cas de morsure d'une personne par un chien.

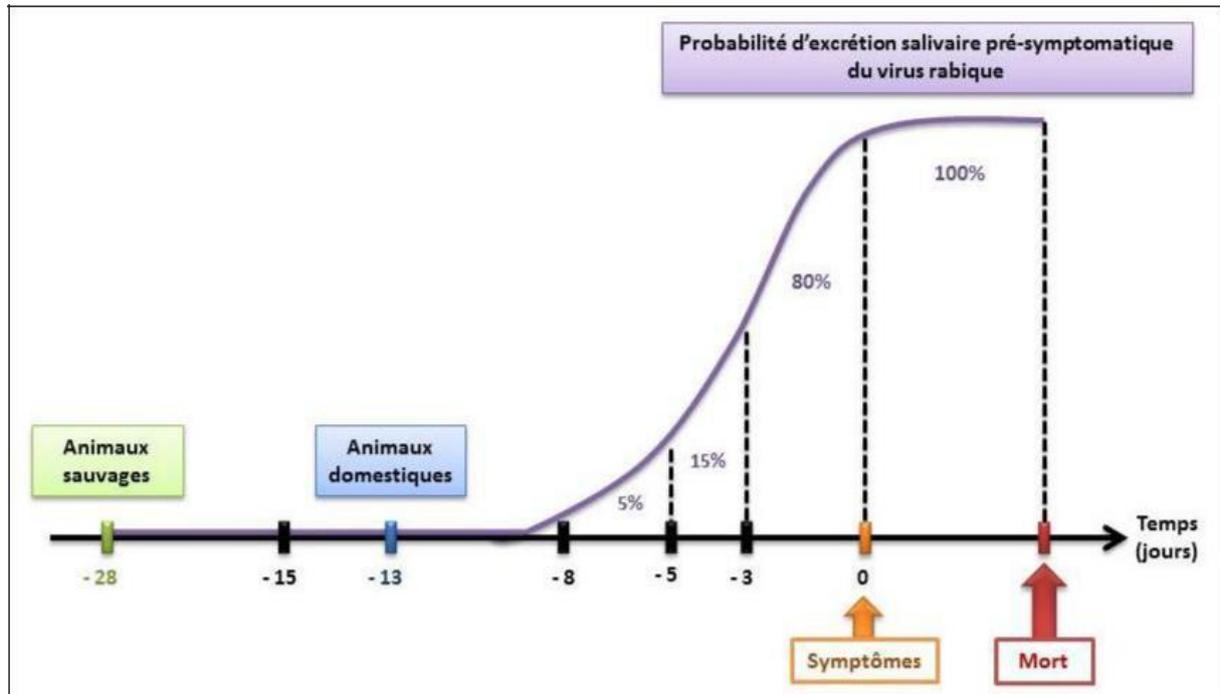
Toute morsure d'une personne par un chien doit faire l'objet des obligations suivantes (**Art .L211-14-2 du code rural**) :

Mise sous-surveillance sanitaire de l'animal mordeur pour une période de quinze jours comprenant trois visites sanitaires chez un vétérinaire.

Déclaration à la mairie de la commune de résidence du propriétaire ou du détenteur de l'animal mordeur.

Evaluation comportementale du chien, réalisé par un vétérinaire inscrit sur une liste départementale, dans le délai des quinze jours de mise sous-surveillance, afin de définir le niveau de risque de dangerosité que représente l'animal.

Figure 6 : Probabilité d'excrétion pré-symptomatique du virus rabique (Haddad et Bourhy, 2015)



Chez les animaux domestiques, l'excrétion pré-symptomatique du virus rabique a été estimée comme pouvant débiter 8 jours avant les premiers symptômes chez jusqu'à 5% d'entre eux au maximum, et jusqu'à 13 jours avant dans des cas exceptionnels. Chez les animaux sauvages, cette période d'excrétion pré-symptomatique peut exceptionnellement débiter jusqu'à 28 jours avant l'apparition des premiers signes cliniques.

II.2.2. Modalité de la contagion

La rage est une maladie zoonotique aigue et mortelle, elle reste l'une des menaces les plus redoutées et les plus importantes pour la santé publique dans le monde (Wu *et al.*, 2013). Elle est le plus souvent transmise par la morsure ou la griffure d'un animal enragé (Fooks *et al.*, 2014).

La transmission par objet souillé en cas de blessure, ou par inhalation ou ingestion de matière virulente est possible mais rare (Dufour et Toma, 2017).

II.3. Epidémiologie synthétique

II.3.1. La rage canine

Dans les pays endémiques, notamment en Asie et en Afrique (Fooks *et al.*, 2014), les chiens domestiques constituent le principal vecteur et réservoir de la rage et sont responsables de la quasi-totalité des décès chez les humains (Banyard *et al.*, 2013).

Les chiens infectés par le virus rabique peuvent le transmettre à d'autres animaux domestiques et à l'homme, notamment par morsure depuis la fin de la phase préclinique jusqu'à la mort de l'animal enragé. Cette transmission est favorisée par le changement de comportement engendré par l'infection rabique, le plus souvent marqué par l'agressivité (Figure 7) (Haddad et Bourhy, 2015).

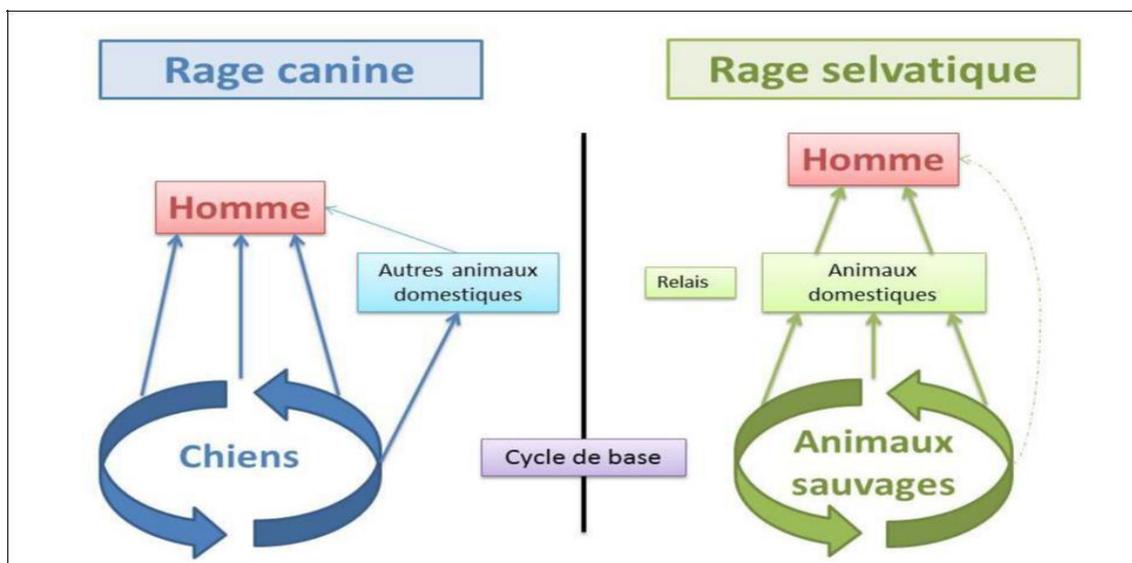
Toutefois, **le taux de reproduction de base** du virus rabique dans l'espèce canine est assez faible, ce qui explique l'allure enzootique et non épizootique de la maladie (Hampson *et al.*, 2009).

II.3.2. La rage vulpine

Le renard roux est considéré comme l'un des animaux les plus sensibles à l'infection par le virus rabique vulpin (Black et Lawson, 1970). Compte tenu de la forte densité de sa population en Europe et de sa très haute sensibilité à son virus rabique, le renard joue un rôle fondamental dans la transmission du virus rabique en Europe (Dufour et Toma, 2017).

Contrairement aux chiens, les renards sauvages enrégés sont rarement à l'origine d'une transmission du virus rabique à l'homme. La contamination d'autres espèces est accessoire et sa suppression ne modifie pas l'évolution de la rage vulpine. Cependant, près de 95% des contaminations humaines sont assurées par le relais des animaux domestiques (Figure7)(Haddad et Bourhy, 2015).

Figure 7 : Cycle épidémiologique classique de la rage, d'après (Haddad et Bourhy, 2015)



Les études citées précédemment montrent que l'adaptation du virus rabique vulpin d'Europe à son hôte, le renard, se traduit par un grand pouvoir pathogène (très peu de virus suffit à déclencher la rage chez un renard) et par une forte excrétion de virus dans la salive. La combinaison de ces deux phénomènes rend l'infection pratiquement certaine, lors de contact par morsure entre un renard sain et un congénère enrégé. En revanche, ce risque est considérablement moins élevé lors du contact de ce dernier avec un carnivore d'une autre espèce (Artois *et al.*, 1991).

Si la dose contaminante de virus lors d'une morsure de renard est estimée et peut faire varier l'évolution de la maladie et le risque de transmission, Aubert *et al.*, 1991, a montré que la souche de virus peut modifier l'intensité de quelques paramètres cliniques de la rage tel le délai de mortalité. Sa diminution s'accompagne d'une baisse du risque de transmission du virus.

DEUXIEME PARTIE : CONTRIBUTION PERSONNELLE

I. Introduction / contexte / problématique

La rage est une maladie infectieuse causée par un virus du genre *Lyssavirus*. Il s'agit d'une zoonose majeure (OMS, 2017), et qui est toujours mortelle après l'apparition des signes cliniques. Il existe actuellement 14 espèces de *Lyssavirus* connus qui se différencient globalement par leur répartition géographique et par les principaux hôtes qui les hébergent.

La rage dite « classique » des carnivores est liée à l'espèce virale RABV, et le plus fréquemment identifié dans les cas de rage chez l'homme.

Dans le contexte épidémiologique actuel, même si le virus est neurotrope, les signes cliniques de la maladie ne sont pas spécifiques « tout est rage, et rien n'est rage ». De plus, la durée d'incubation et la durée de la phase clinique ne sont pas constantes. Un diagnostic précis ne peut être fait qu'en laboratoire. Les techniques de laboratoire sont de préférence effectuées sur le tissu du SNC (Corne d'Ammon, bulbe rachidien, thalamus).

Les principales sources de virus rabique sont les animaux malades et les animaux excréteurs pré-symptomatiques. Les matières virulentes sont donc principalement le SNC ainsi que les glandes salivaires et des organes fortement innervés. Cependant elles n'ont pas du tout la même efficacité épidémiologique en termes de transmission. Celle-ci dépend de leur pouvoir de diffusion dans le milieu extérieur ; le SNC, la surrénale même très virulentes ne permettent pas la diffusion du virus dans le milieu extérieur. A l'inverse la salive joue un rôle majeur dans la transmission de la maladie, du fait de son émission possible vers l'extérieur (Dufour et Toma, 2017).

Bien que la rage soit une maladie connue depuis longtemps, elle n'en reste pas moins d'actualité, causant toujours des pertes économiques dans les cheptels et un nombre très élevé de décès chez l'Homme dans de nombreuses régions du monde en particulier dans l'hémisphère sud, en Afrique et en Asie. Dans les pays de l'hémisphère nord où elle persiste, elle n'est souvent plus présente que chez les animaux sauvages (Renard roux, en particulier en Europe), avec apparition de cas humains soit par contact direct avec des animaux sauvages infectés soit par le relai d'animaux domestiques. Au contraire, dans les nombreux pays d'Afrique et d'Asie, où elle sévit de manière enzootique, le chien est à la fois réservoir et vecteur du RABV. Dans ces pays de rage canine enzootique, le risque de contamination par un chien vecteur d'une souche canine est élevé. En effet, outre sa proximité avec l'Homme, le chien enragé excrète du virus dans 60 à 90 % des cas ; cette excrétion variant beaucoup, essentiellement en fonction de la dose de virus contaminant (Baer *et al.*, 1975).

En Europe, la rage canine authentique n'existe plus qu'en Turquie. Dans les autres pays, il s'agit d'une rage vulpine transmise au chien par accident. Le chien est alors victime et non plus vecteur. L'épizootie de la rage vulpine européenne a progressé de 1948 à 1978 à partir de la Pologne à la vitesse moyenne de 30km/an. Par la suite, l'épizootie s'est ralentie d'une manière significative (Blancou *et al.*, 1988) avant que cela ne soit imputable à la vaccination des renards. Les facteurs ayant provoqués ce ralentissement ne sont pas clairement identifiés même si l'effet de la souche est suspecté (Aubert *et al.*, 1991).

Si l'excrétion salivaire conditionne en grande partie l'épidémiologie de la rage, l'existence et l'influence d'autres facteurs comme la dose et la souche virale est suspectée. Ces facteurs agiraient sur la persistance du cycle rabique au sein de chaque population canine et vulpine via les caractéristiques de la clinique chez l'animal. En effet, la durée de survie d'un chien ou d'un renard enragé excréteur du virus rabique dans la salive va impacter la probabilité de persistance de la maladie au sein de la population. L'objectif du présent travail était d'explorer l'influence de ces facteurs pour essayer de mieux comprendre les caractéristiques de l'épizootie de rage vulpine en France comparativement à la rage canine en Tunisie.

Grâce à la base de données issue de différentes expérimentations animales réalisées à la station expérimentale d'Atton du Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de l'Anses à Nancy, l'impact de plusieurs facteurs a été estimé en fonction de l'espèce : la quantité de virus contaminant, les facteurs intrinsèques de l'animal et la souche inoculée. Chaque facteur a fait l'objet d'analyses statistiques pour savoir s'il permettait de prédire le délai de mortalité et /ou la présence de virus dans les glandes salivaires des animaux de l'étude.

II. Matériels et méthodes

L'étude s'inscrit dans le volet n°3 du projet de recherche scientifique européen FP7 Predemics. L'objectif principal de ce volet était d'étudier les relations entre le virus et son hôte d'une part et de démêler les interactions complexes entre les facteurs impliqués dans les étapes de l'émergence, à savoir l'exposition, l'introduction dans une nouvelle espèce et la propagation dans les populations humaines. Notre étude est basée sur les données de l'expérimentation conduite à la station expérimentale d'Atton du LRFSN sur le virus rabique dans le cadre de Predemics et sur d'autres données provenant d'autres expérimentations sur le virus rabique.

II.1. Types d'études

Des inoculations homologues et hétérologues ont été réalisées sur des chiens et des renards avec des isolats de virus rabiques obtenus sur le terrain à partir des chiens et des renards naturellement enrégés. Au total 99 chiens et 142 renards ont été utilisés dans ce travail.

II.1.1. Système homologue sur chien

Des inoculations de chiens ont été réalisées avec un isolat de virus rabique isolé sur le terrain sur un chien naturellement enrégé en Tunisie (souche tunisienne Ariana) en utilisant des doses permettant une excrétion salivaire. Le projet Predemics a donné lieu à des passages en série homologue ; le virus isolé des glandes salivaires (GS) d'un chien inoculé sert à faire un stock d'épreuve utilisé pour inoculer l'animal du passage suivant. Au total 17 chiens ont été expérimentalement inoculés dans le cadre du projet Predemics.

L'échantillon a été enrichi avec d'autres données de 82 chiens, tous inoculés avec cette même souche virale tunisienne dans le cadre d'autres protocoles expérimentaux. Au total l'étude suit donc un échantillon de 99 chiens inoculés par voie intramusculaire.

II.1.2. Système homologue sur renard

Dans le cadre de Predemics, 14 renards ont été inoculés avec un virus isolé d'un renard naturellement enrégé en France en 1991. Des données issues de renards inoculés avec différents isolats (GS3, GS5, GS7-1, GS7-2, GS7-3, GS7-4) de virus rabiques préparés à partir des GS de renards naturellement enrégés en France et reçus pour diagnostic à l'Anses de Nancy sont aussi utilisées dans cette étude pour enrichir l'échantillon.

Les isolats GS3, GS5 et GS7 ont été préparés à partir des GS de 1 à 3 renards reçus pour diagnostic de rage respectivement en 1976, en 1982 et en 1986.

Le stock GS7-1 a été préparé à partir des GS d'un seul renard inoculé avec le stock GS7 préparé à partir du broyat de 1 à 3 GS de renards reçus pour diagnostic en 1986. Dix renards ont été inoculés avec ce stock. Le broyat des glandes salivaires d'un renard inoculé avec GS7-1a été utilisé pour faire le stock GS7-2. De même le stock GS7-3 a été réalisé à partir des GS d'un renard inoculé avec le stock GS7-2. Enfin, le stock GS7-4 est le pool de GS de six renards inoculés avec GS7-3. Au total 142 renards ont été inoculés par voie (IM) avec les différents stocks.

II.1.3. Système hétérologue sur chien

Les données sur les passages hétérologues viennent uniquement des expérimentations conduites dans le cadre de Predemics.

La difficulté à infecter expérimentalement un chien avec une souche vulpine n'a pas permis d'obtenir des passages en série, c'est-à-dire un chien développant la rage et avec du virus dans les glandes

salivaires. Cette difficulté de passer sur chien une souche de renard mise en évidence *in vivo* a aussi été observée *in vitro* sur des cellules primaires de muscle de chien.

II.1.4. Système hétérologue sur renard

Des passages en série hétérologues ont été réalisés avec un isolat de virus rabique d'un chien de Tunisie (le même virus utilisé dans le système homologue chez le chien) sur le renard à des doses permettant une excrétion salivaire. Lors de chaque passage, le virus isolé des glandes salivaires d'un renard sert à faire un stock d'épreuve utilisé pour inoculer un renard du passage suivant. Au total 12 renards ont été inoculés par voie IM.

II.2. Base de données

II.2.1. Recueil de données

Dans un premier temps, le recueil des données a été réalisé par observation directe des sujets inoculés. Chaque animal a été suivi quotidiennement depuis l'inoculation virale jusqu'à la mort. La durée maximale de suivi a été fixée à 90 jours après l'inoculation. Ainsi, tous les animaux des études sont morts de rage ou ont été euthanasiés après avoir atteint le point limite défini dans le projet soumis au comité d'éthique et au MESR, pour leur éviter une trop grande souffrance avant la date maximale de suivi. L'étiologie rabique de la mort a été systématiquement confirmée au moyen de tests de laboratoire. Les tests de référence (RTCIT et FAT) recommandés par le comité d'experts de l'OMS et par l'OIE, ont été utilisés ainsi que des PCR.

II.2.2. Constitution de la base de données

Les données et renseignements sur les chiens et renards expérimentalement inoculés ont été entrés dans une base de données.

Pour chaque animal, les variables de cette base de données comprenaient la souche, la dose virale inoculée à chaque animal exprimée en logarithme décimal (\log_{10}) de la dose inoculée exprimée en DL_{50} par voie intracérébrale pour la souris, les caractéristiques intrinsèques (âge et sexe), les caractéristiques cliniques de la maladie (durée d'incubation, durée de la phase clinique et délai de mortalité). De plus, elles indiquaient les résultats de RTCIT et de FAT pour tous les chiens et les renards des études. Enfin, la base de données contenait les résultats de FAT des glandes salivaires de 30 chiens du système homologue et de tous les animaux du système hétérologue.

Les données du passage hétérologue sur chien ont été exclues de l'étude vue la difficulté d'obtenir un passage avec ré-excrétion salivaire après inoculation intramusculaire.

D'autre part, certaines informations de la base de données n'ont pas pu être exploitées car elles n'étaient pas disponibles pour tous les sujets des échantillons (diagnostic en biologie moléculaire, titrage sur souris des stocks produits ...).

Dans un premier temps, nous avons traité la base de données de manière à vérifier et supprimer les données manquantes ou aberrantes. Ensuite, nous l'avons utilisée comme support pour élaborer une table de travail contenant toutes les données pertinentes permettant de répondre aux problèmes posés.

II.3. Logiciel

Le traitement de la base de données sous format Excel a été fait à l'aide de Microsoft Access 2010 ©. Une fois la base de travail obtenue, les calculs statistiques et les graphiques ont été réalisés sous R Studio.

II.4. Test et outils statistiques

La vérification de la normalité constitue l'étape préliminaire à toute analyse statistique. La représentation graphique et le nombre de sujets par échantillon ont été systématiquement analysés. En cas de doute un test de normalité a été appliqué. Les variables quantitatives ont été décrites par leurs paramètres de position et de dispersion et ont été représenté graphiquement par des boîtes à moustache et des nuages des points.

Pour les distributions normales, le test de corrélation utilisé est un test de **corrélation de Pearson** avec un risque $\alpha=5\%$. Les intervalles de confiances de l'OR calculé par **régression logistique** et de l'HR calculé par **modèle de Cox** sont des intervalles de confiance à 95%.

Pour les distributions non normales, le test de corrélation utilisé est un test de **corrélation de Spearman** avec un risque $\alpha=5\%$. Dans le cas des comparaisons, les tests utilisés sont les tests de **rang de Kruskal Wallis** qui permet d'identifier un échantillon différent des autres et de **Mann Whithney/Wilcoxon** qui compare les distributions de deux groupes avec un risque $\alpha=5\%$.

De plus, la régression logistique et la régression linéaire ont été utilisées pour expliquer nos variables dépendantes Y_i à l'aide de K variables explicatives X_{ij} ($j \in [1 ; K]$).

Le modèle de régression linéaire a donc été écrit de la manière suivante :

$$Y = a + \sum_{j=1}^k \beta_j X_{ij} + e$$

Le modèle de régression logistique, la fonction de lien étant une fonction **logit**, a été écrit de la manière suivante :

$$\text{logit}(p_i) = \ln\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = a + \sum_{j=1}^k \beta_j X_{ij} + e$$

a : l'intercept du modèle

X_{ij} : les k variables explicatives (Log de la dose virale inoculée, âge et sexe)

β_j : Le coefficient associé à la variable X_{ij}

e : Les résidus

La sélection de modèles a été réalisée en utilisant le critère d'information d'Akaike (AIC) (R package « MASS »), dont la formule est la suivante :

$$\text{AIC} = -2\text{Log L} + 2p$$

Avec L : la vraisemblance maximisée du modèle

P : le nombre de paramètres à estimer du modèle

Le modèle retenu a été celui avec le meilleur AIC (le plus petit AIC)

La normalité des résidus pour le modèle linéaire a été vérifiée avec le test de **Shapiro-Wilk** et la pertinence du modèle de la régression logistique a été vérifiée avec le test des résidus de **Pearson** avec un risque α de 5%.

Dans le cadre de la régression logistique simple, l'OR correspondant à la variable explicative est calculé via la fonction exponentielle. Ainsi, pour une variable explicative quantitative j,

$$\text{OR}_j = e^{\beta_j}$$

Enfin, la **courbe de survie** présentée dans ce document a été réalisée selon la méthode de **Kaplan-Meier** (KM). L'analyse de survie est une méthode qui permet d'obtenir des modèles à la fois explicatifs et prédictifs. Elle a pour objectif de fournir les outils statistiques pour apprécier la rapidité avec laquelle un événement survient, de tester l'association statistique entre l'exposition d'intérêt et la rapidité de l'événement et enfin de quantifier cette association statistique.

La comparaison entre les groupes de survie a été faite à l'aide du test de **Logrank** avec un risque $\alpha=5\%$. C'est un test non-paramétrique qui permet de prendre en compte toute l'information sur l'ensemble de suivi sans la nécessité de faire des hypothèses sur la distribution des temps de survie. Le test repose sur une approche conditionnelle : les temps où des mortalités surviennent sont supposés fixes. Le but est de comparer le nombre de mortalité observé dans chaque groupe à son espérance ou nombre attendu. La statistique du test suit approximativement une distribution du Chi2 à (k-1) ddl avec k le nombre de groupe à comparer.

Le délai de survenue de la mort des renards expérimentalement inoculés avec les différentes souches a été modélisé avec le **modèle de Cox univarié**. C'est un modèle semi-paramétrique basé sur l'hypothèse des risques proportionnels. L'association entre la variable considérée et la survenue de la mort constitue l'intérêt central du modèle. Dans ce cadre, le rapport des risques instantanés pour une variable explicative qualitative a été calculé :

$$\text{HR}_j = e^{\beta_j}$$

L'hypothèse des risques proportionnels a été vérifiée à partir d'un test numérique basé sur la corrélation des résidus de **Schoenfeld** et la fonction du temps basée sur l'estimateur de **Kaplan-Meier** avec un risque α de 5%.

III. Résultats

III.1. Système homologue sur chien

Dans l'échantillon de départ, 17 chiens ont été inoculés avec des doses différentes de la souche « Ariana ». Tous les animaux sont morts de rage avec des délais de mortalité différents. Pour mieux comprendre cette différence, nous avons cherché à savoir si le délai de mortalité est lié à la dose virale inoculée qui constitue l'exposition d'intérêt et dont le log décimal varie entre 0.1 et 4.2 dans notre échantillon. Dans un premier temps, il est nécessaire d'explorer graphiquement la distribution des délais de mortalité dans l'échantillon (Figure 8 et 9).

Figure 8: Boîte à moustache de distribution des délais de mortalité des chiens de l'échantillon (n= 17 chiens)

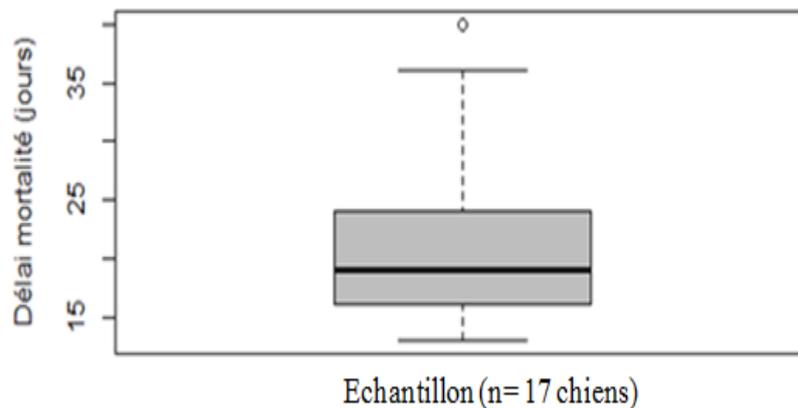
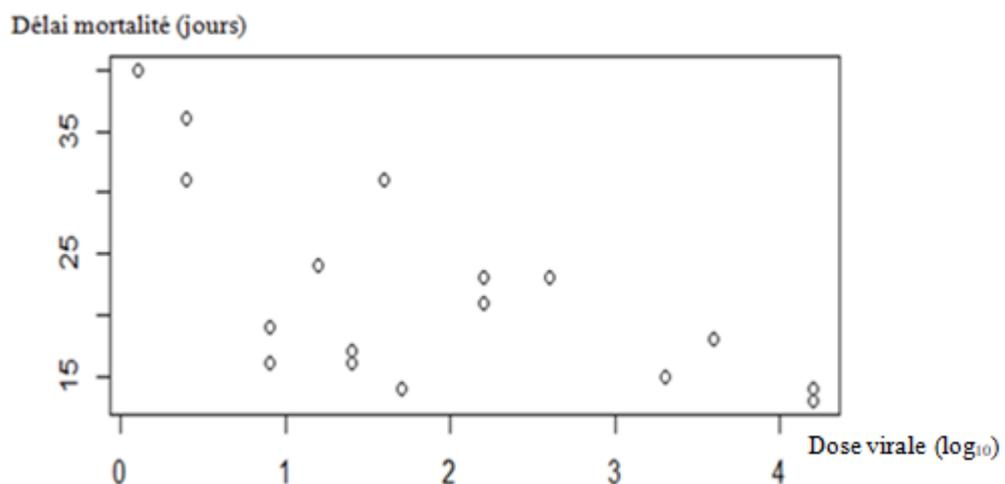


Figure 9 : Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des chiens en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n= 17 chiens)



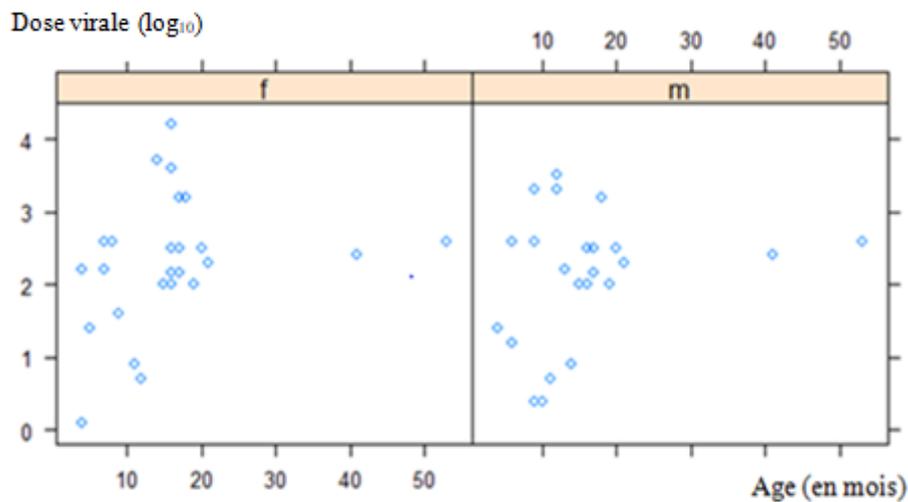
Graphiquement, la distribution du délai de mortalité n'est pas normale mais on peut observer qu'il tend à diminuer lorsque la dose virale inoculée augmente (Figure ci-dessus 9). Statistiquement, une corrélation négative est mise en évidence par un test non-paramétrique entre le délai de mortalité et la

dose virale inoculée (**Coefficient de rang de Spearman= -0.65. p-value=0.005**). Plus la dose de virus inoculée était importante, plus les chiens meurent rapidement.

Pour visualiser d'autres effets éventuellement masqués par un manque de puissance statistique du à un effectif faible et pour assurer une meilleure distribution des données, l'échantillon de départ a été enrichi avec des données d'autres protocoles expérimentaux obtenus sur des chiens inoculés avec le même stock de la même souche. Un échantillon de 99 chiens a été alors obtenu. Sa distribution est présentée dans les figures (10, 11 et 12).

a). Doses virales inoculées

Figure 10 : Distribution des doses virales en fonction de l'âge et du sexe des chiens de l'échantillon (n=99 chiens)



Graphiquement, chez les deux sexes, les chiens les plus âgés sont inoculés avec des doses virales plus élevées que les jeunes, ce qui pourrait constituer un biais de sélection. De plus la variabilité de l'âge des chiens de l'échantillon est limitée entre 4 et 20 mois et donc ils sont tous considérés comme des jeunes adultes. De ce fait, il paraît préférable de ne pas tenir compte de l'âge dans l'analyse des données.

b). Les délais de mortalité

Figure 11 : Boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des chiens de l'échantillon (n=99 chiens)

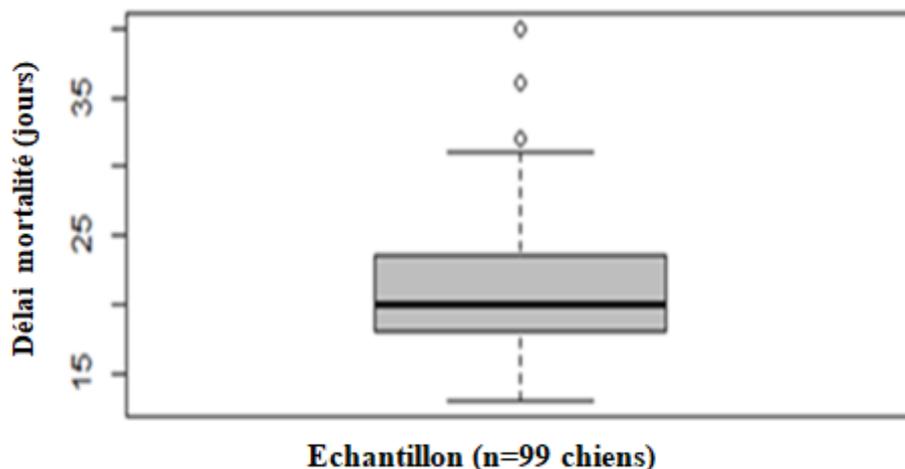
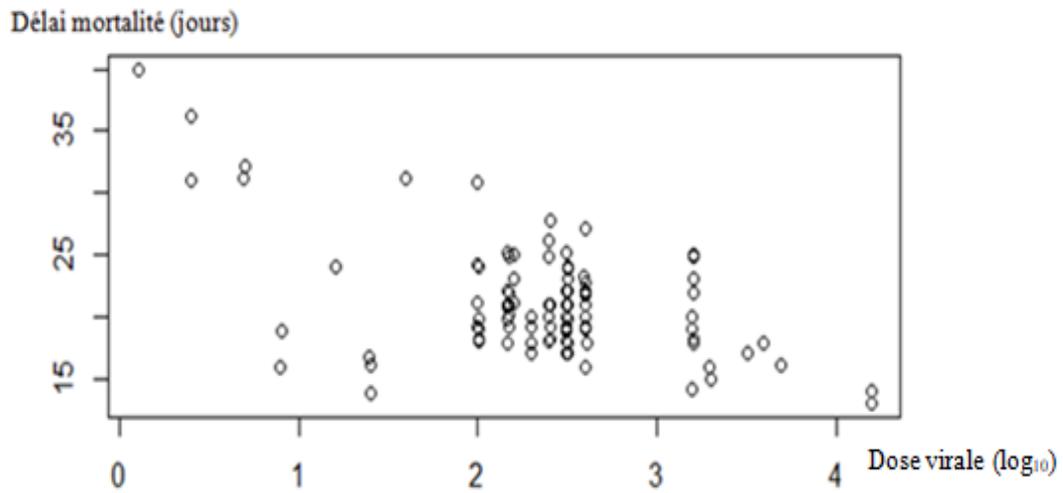


Figure 12 : Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des chiens en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n=99 chiens)



Graphiquement, on peut observer que plus de 50% des chiens ont été inoculés avec une dose virale comprise entre 100 et 1000 DL₅₀ ICS, soit dans cet intervalle de log₁₀ : [2-3[. Leur répartition en fonction de la dose est présentée dans le tableau (2).

Tableau 2 : Répartition des chiens en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n= 99 chiens).

Dose virale (log ₁₀)	[0-2[[2-3[[3-5[
Nombre de chiens/strate	12	71	16

L'importance numérique des individus inoculés entre une dose de 2 et 3 logs₁₀ n'est pas le fait du hasard mais résulte du choix de l'expérimentateur (cette dose est celle qui est ciblée pour réaliser les tests d'efficacité vaccinale de la pharmacopée européenne), il existe donc un biais pour l'analyse des données. Pour réduire ce biais potentiel, un effectif de 57 chiens a été tiré au sort sans remise parmi les chiens de la strate [2-3[afin d'équilibrer les effectifs des classes de doses dans l'échantillon. Au total un échantillon de 42 chiens a été obtenu et avec une répartition homogène des effectifs en fonction des strates décrites précédemment.

Avec cet échantillon, il sera possible d'étudier l'effet de la dose et du sexe sur le délai de mortalité par un modèle de régressions linéaires multiples. Pour mieux appréhender cette liaison, la distribution de l'échantillon sélectionné est présentée dans la figure 13 et la figure 14.

Avec le modèle qui sera sélectionné, il sera possible de quantifier le degré de liaison linéaire entre le délai de mortalité et les variables explicatives.

Figure 13 : Boite à moustache de la distribution des délais de mortalité des chiens de l'échantillon (n=42 chiens)

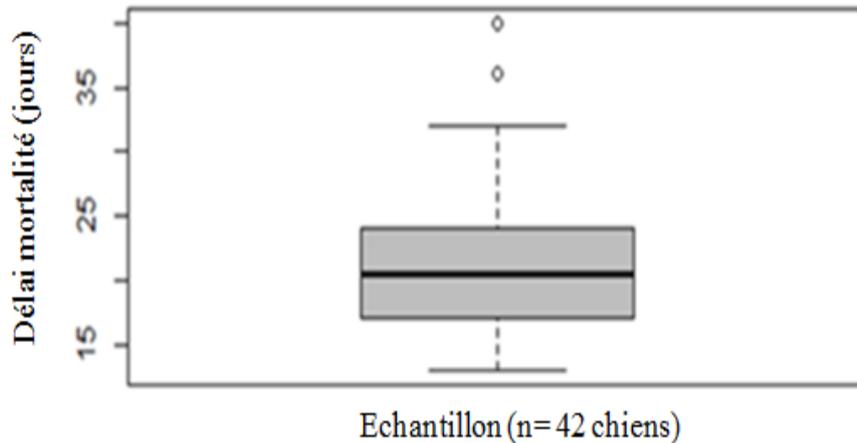
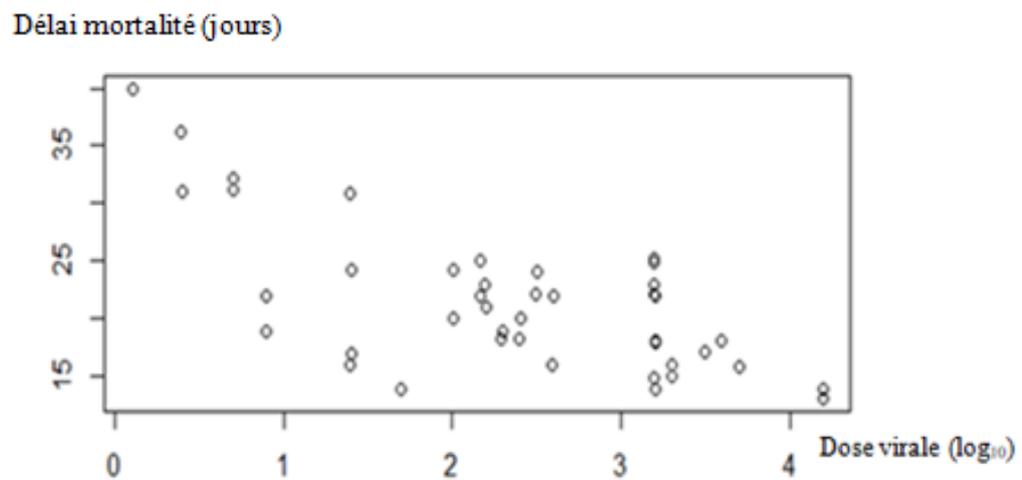


Figure 14 : Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des chiens en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n=42 chiens)



Pour toutes les doses virales confondues, les délais de mortalité sont compris entre 13 et 40 jours obtenus respectivement aux doses ($10^{4.2}$ et $10^{0.1}$ DL₅₀ ICS). En moyenne les chiens de l'échantillon inoculés avec les différentes doses sont morts 21 jours après leur inoculation.

Graphiquement, la distribution des délais de mortalité apparaît normale (Figure 13) et on peut observer qu'il semble y avoir une corrélation entre ces délais et la dose virale inoculée (Figure 14). La présence de cette corrélation est confirmée statistiquement par un test paramétrique (**Coefficient de Pearson = -0.69, p-value = 5.25 E -07**).

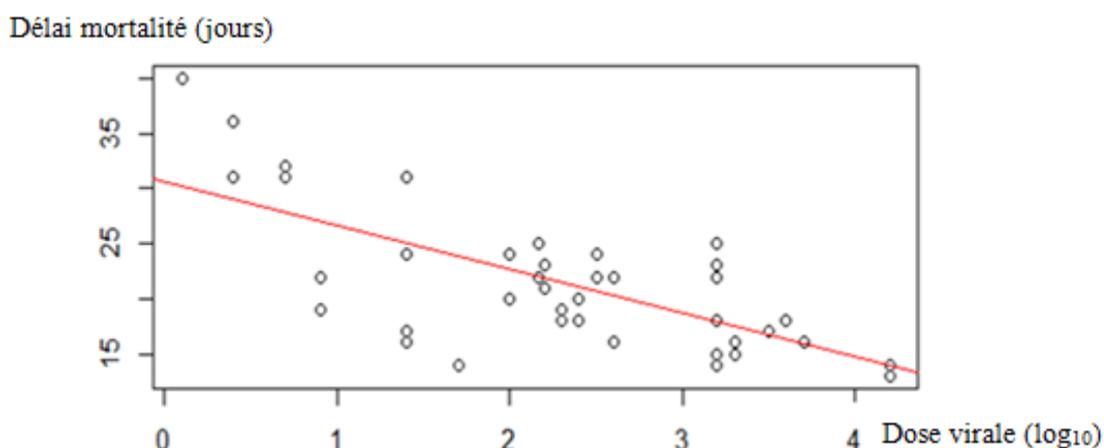
On constate que l'association brute entre le logarithme de la dose virale inoculée et le délai de mortalité est significative au risque $\alpha=5\%$.

La régression linéaire se fait avec la fonction (lm) du modèle linéaire. Selon la méthode des AICs, le modèle retenu est le modèle linéaire le plus simple avec le plus faible AIC pour maximiser la fonction

de vraisemblance qui explique le délai de mortalité par des variables explicatives dont la dose virale. Avec les données de notre échantillon, le modèle retenu est univarié entre le délai de mortalité et la dose inoculée sous la forme: $y = -4x + 31$. Les résidus du modèle ont une distribution normale (Test de Shapiro-Wilk, p-value= 0.77, l'hypothèse nulle étant la normalité de la distribution).

Il est alors possible de faire tracer par le logiciel la droite de régression. Notre but est de vérifier si la variable explicative (\log_{10} de la dose virale) permet de prédire efficacement une variable dépendante (le délai de mortalité) (Figure 15). La valeur absolue du coefficient de corrélation est proche de 1, notre modèle est donc robuste.

Figure 15 : Régression entre le délai de mortalité des chiens et les doses virales inoculées dans l'échantillon (n= 42 chiens)



c). Diagnostic de laboratoire FAT sur les glandes salivaires

Pour mieux comprendre la persistance de la rage sur le terrain compte tenu du rôle de la salive dans la transmission du virus rabique, un sous échantillon de 30 chiens a été constitué à partir des 99 chiens de l'échantillon principal pour lesquels un diagnostic sur les glandes salivaires a été effectué. Dans ce cadre nous avons cherché à savoir si la présence du virus rabique dans les glandes salivaires est liée à la dose virale inoculée. Les résultats du diagnostic de laboratoire sont présentés dans le tableau ci-dessous (tableau 3).

Tableau 3 : Résultats du test de diagnostic de rage (FAT) sur les glandes salivaires des chiens de l'échantillon (n=30 chiens).

FAT sur les GS	POS (+)	NEG (-)
Nombre (%)	17 (53%)	13 (47%)

Pour quantifier l'association entre la dose virale inoculée et la présence de virus dans les glandes salivaires, nous avons testé les modèles possibles de régression logistique, en considérant la dose

virale inoculée et le sexe. Le modèle retenu par la méthode des AICs est le modèle univarié entre le diagnostic des glandes salivaires et la dose virale inoculée.

Avec le modèle retenu, l'analyse à conduire est une analyse univariée par régression logistique qui se fait avec la fonction glm. C'est un modèle qui permet de prédire l'effet d'une ou de plusieurs variables sur une variable réponse binaire, dans notre cas absence / présence du virus rabique dans les glandes salivaires. La pertinence du modèle a été vérifiée avec les résidus du test de **Pearson (p-value=0.45)**.

Le résultat fournis est un OR brut des variables d'entrée du modèle. Un résultat est considéré comme significatif si l'IC de l'OR n'inclut pas 1.

Le résultat de l'association brute entre la présence du virus dans les glandes salivaires et dose virale inoculée est :

$$\text{OR brut [dose virale]} = 0.4 [0.14-0.85]$$

La régression logistique a mis en évidence un résultat significatif entre la présence du virus dans les glandes salivaires et la dose virale.

Dans l'échantillon, être inoculé avec une faible dose de virus rabique semble favoriser la présence du virus dans les glandes salivaires.

III.2. Système homologue sur renard

Au total 142 renards ont été utilisés dans l'étude. Ils ont été inoculés avec des souches de virus différentes (GS3, GS5 et GS7). La dose d'inoculation ($2.5 \log_{10}$) est la même pour tous les renards. Ils sont morts de rage avec des glandes salivaires positives en FAT. Le délai de mortalité varie d'un renard à un autre.

Nous avons donc cherché à savoir si les souches (GS3, GS5 et GS7) isolées respectivement sur le terrain en France en 1976, 1982 et 1986 influençaient le délai de mortalité des renards expérimentalement inoculés. Comme le mode de préparation des différents stocks de la souche GS7 n'est pas le même que pour les autres souches (GS3 et GS5) et que ces différents stocks de la souche GS7 sont des propagations successives de GS7 sur un renard, nous avons effectué une analyses préliminaire sur les stocks GS7 avant de pouvoir faire l'analyse statistique qui répond à la question initiale.

III.2.1. Délais de mortalité en fonction du passage de la souche GS

Dans un premier temps nous avons cherché à savoir si le rang du passage (GS7-1, GS7-2, GS7-3, GS7-4) est un facteur de variation du délai de survenue de la mort des renards. Il est donc intéressant de représenter graphiquement la distribution des délais de mortalité des renards en fonction du nombre de passages de la souche GS7 (Figure16).

Figure 16 : Diagramme en boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des renards en fonction du nombre de passages de la souche GS7.

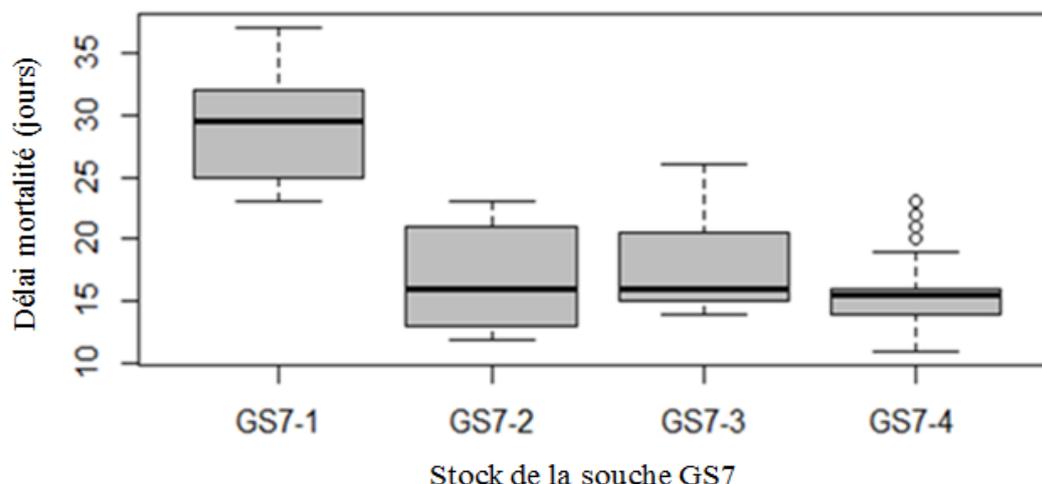


Tableau 4 : Mesures de dispersion de la variable délai de mortalité des renards inoculés avec les différents stocks de la souche GS7.

Stock inoculé	Nombre de renards/groupe	Délai de mortalité (jours)			
		Moyenne	1 ^{er} quantile	Médiane	2 ^{ème} quantile
GS7-1	10	29	25.0	29.5	32.0
GS7-2	18	17	13.25	16	21
GS7-3	16	17.7	15	16	20.25
GS7-4	78	15.6	14	15.5	16

Sur l'échantillon constitué des renards inoculés avec les différents stocks de la souche GS7, les délais de mortalité sont compris entre 11 et 37 jours obtenus respectivement avec le stock GS7-4 et GS7-1. En moyennes, les renards inoculés avec les différents stocks sont morts entre 15.6 et 29 jours après leur inoculation (voir tableau 4).

Graphiquement, on peut observer que la distribution des délais de mortalité n'est pas normale et que le délai de mortalité a une tendance à diminuer quand le nombre de passages augmente (figure 16). On peut confirmer cette tendance statistiquement car il existe au moins une différence significative entre les délais de mortalité en fonction du nombre de passage (**Kruskal Wallis, p-value=1.2E-06**).

Ces données ont montré qu'il y a une différence significative entre les groupes inoculés avec les différents stocks (GS7-1, GS7-2, GS7-3 et GS7-4). Comme le stock GS7-1 a été obtenu à partir de GS de renard sauvage propagé une seule fois expérimentalement, il a été considéré comme étant le plus proche des souches de terrain GS3 et GS5.

III.2.2. Délais de mortalité en fonction de la souche inoculée

La question initiale était de savoir si le délai de mortalité pouvait être lié à la souche utilisée en considérant les trois isolats (GS3, GS5 et GS7-1). Pour mieux répondre à cette question, la distribution des délais de mortalité en fonction de la souche inoculée est présentée dans la (Figure 17)

Figure 17 : Diagramme en boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des renards en fonction de la souche inoculée

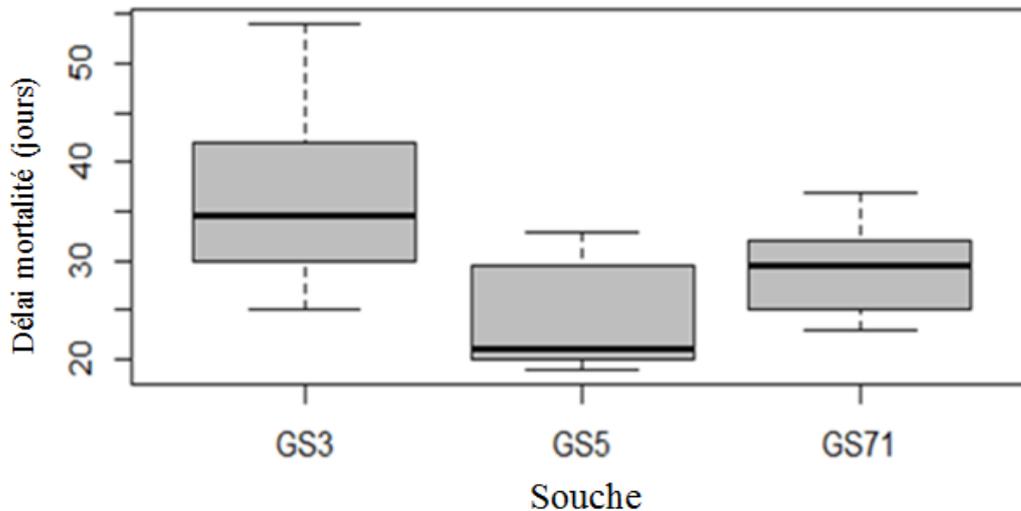


Tableau 5: Mesures de dispersion de la variable délai de mortalité des renards inoculés avec les différentes souches (GS3, GS5 et GS7-1).

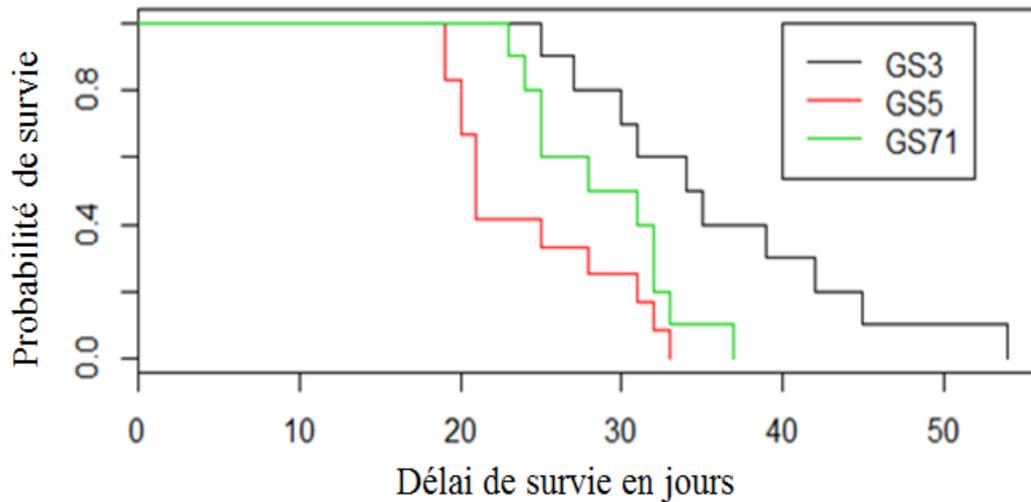
Souche	Nombre de sujets / groupe	Délai de mortalité (en jours)			
		Moyenne	1 ^{er} quantile	Médiane	2 ^{eme} quantile
GS3	10	36.2	30.25	34.5	41.25
GS5	12	24.2	20	21	28.75
GS7-1	10	29	25	29.5	32

Pour toutes les souches confondues, les délais de mortalité sont compris entre 19 et 54 jours obtenus respectivement avec les souches (GS5 et GS3). En moyennes, les chiens inoculés avec les différentes souches sont morts entre 24 et 36 jours après leurs inoculations (voir tableau 5).

Graphiquement, on peut observer que la distribution des délais de mortalité n'est pas normale. Statistiquement, il existe au moins une différence significative entre les délais de mortalité en fonction de la souche (**Test Kruskal-Wallis, p-value=0.003**).

L'association brute entre la souche inoculée et le risque de survenue de la mort au cours du temps a été quantifiée. Dans ce cadre, la courbe de Kaplan Meier correspondante est présentée dans la figure (Figure 18).

Figure 18 : Courbe de Kaplan Meier du délai de survie des renards inoculés avec les différentes souches (GS3, GS5 et GS7-1)



Les temps de survie médians sont atteints dans les 3 groupes (voir tableau 5). Cela signifie que, la moitié des renards inoculés avec les souches GS3, GS5 et GS7-1, sont morts respectivement 34.5, 21 et 29.5 jours après l'inoculation.

On constate que la mortalité survient plus tardivement avec la souche GS3, les renards inoculés avec GS3 ont donc un taux d'incidence de mortalité moins élevé que ceux des renards inoculés avec GS7-1 et GS5. On peut confirmer cette différence de taux d'incidence de mortalité statistiquement (**Log-rank, p-value= 0.001**).

Le modèle à risque proportionnel de Cox a été utilisé pour quantifier l'association entre la souche et le risque de survenue de la mort post-inoculation (voir tableau 6). L'hypothèse des risques proportionnels a été vérifiée à partir d'un test numérique basé sur la corrélation des résidus de Schoenfeld et la fonction du temps basée sur l'estimateur de KM avec un risque α de 5% (**p-value globale=0.6**).

Tableau 6 : Hazard Ratio (HR) du modèle de Cox univarié expliquant le délai de survie des renards pour la variable souche

	HR	IC95%	IC95%
		inf.	sup.
[Souche GS3]			
[Souche GS5]	6.5	2.25	19.60
[Souche GS7-1]	3.1	1.10	9.01

Le rapport des risques instantanés de décès des renards inoculés avec la souche GS5 et GS3 et ceux inoculés avec la souche GS3 est significatif comme le rapport des risques instantanés de décès entre les renards inoculés avec GS7-1 et ceux inoculés avec GS3. Un renard contaminé avec la souche GS5 isolée en 1982 a un risque instantané de décès six fois plus élevé qu'un renard contaminé avec la souche GS3 isolée en 1976. De même un renard contaminé avec la souche GS7 isolée en 1986 et qui a été sélectionnée préalablement sur un renard a un risque instantané de décès trois fois plus élevé qu'un renard contaminé avec la souche (GS3). Dans l'échantillon, être contaminé avec la souche la plus ancienne semble tuer moins vite.

III.3. Système hétérologue sur renard

Le délai de mortalité et la présence du virus rabique dans les glandes salivaires (POS, NEG) sont les deux données recueillies et analysées dans cette étude.

La souche canine « Ariana » a été utilisée à des doses différentes pour inoculer un échantillon de 12 renards. Tous les animaux sont morts de rage avec des glandes salivaires positives au diagnostic de laboratoire FAT. Nous avons cherché à savoir si le délai de mortalité est lié à la dose de la souche canine qui est l'exposition d'intérêt retenue dans notre étude. Son logarithme décimal variait entre 1.3 et 3.4. Dans le cadre de cette recherche, la distribution des délais de mortalité des renards de l'échantillon est présentée dans la figure (Figure 19 et 20).

Figure 19 : Boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité des renards de l'échantillon (n=12)

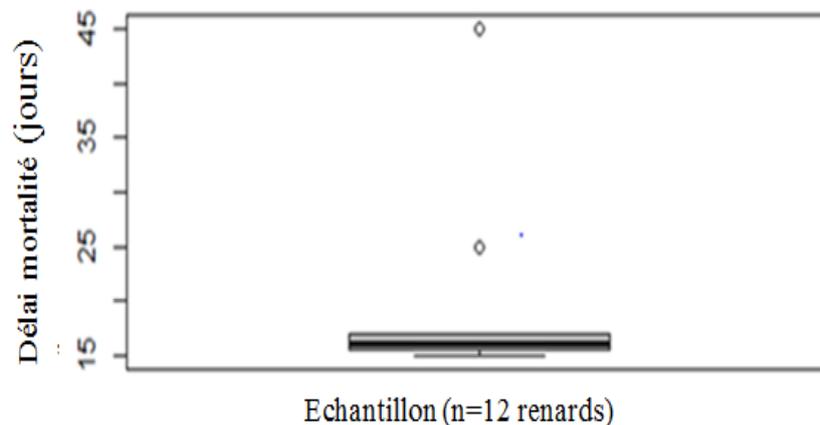
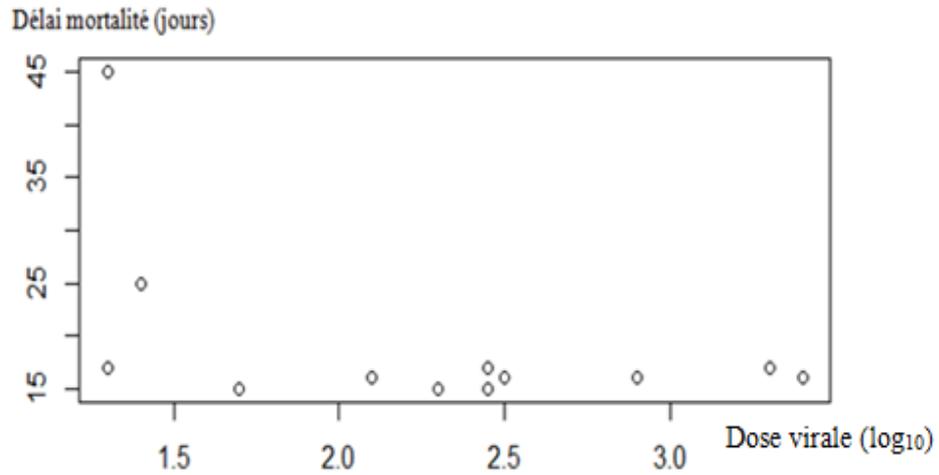


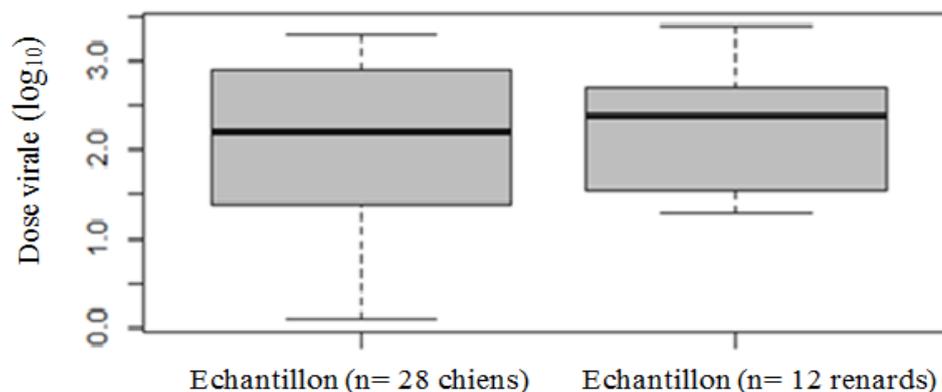
Figure 20 : Nuage des points de la distribution des délais de mortalité des renards en fonction de la dose virale inoculée dans l'échantillon (n= 12 renards).



Graphiquement, on peut observer que la distribution des délais de mortalité n'est pas normale. Statistiquement, il n'y a pas de lien significatif entre la dose virale et le délai de mortalité au seuil de 5% (**Coefficient de rang de Spearman= -0.3, p-value=0.32**).

Avec les résultats obtenus avec la souche « Ariana » dans le cas du système homologue chien et dans le cas du système hétérologue renard, il est possible de réaliser une comparaison des deux systèmes pour savoir si la souche canine induit une différence sur le délai de mortalité entre le modèle chien homologue et le modèle renard, hétérologue. Cependant l'effet souche ne peut être comparé entre le chien et le renard que si les doses inoculées aux deux espèces sont comparables.

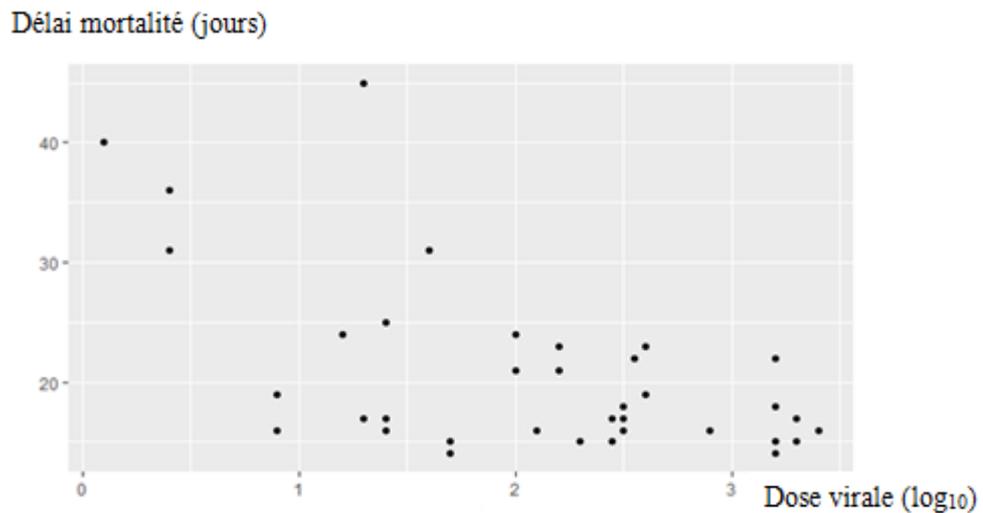
Figure 21 : Diagramme en boîte à moustache de la distribution des doses virales inoculées aux deux espèces (Canine et vulpine)



Graphiquement, la distribution des doses virales inoculées n'est pas normale chez les deux espèces. Statistiquement, il n'y a pas de différence significative dans notre échantillon entre les doses inoculées aux chiens et aux renards (**Test de rang Mann-Whitney/Wilcoxon : p-value=0.8 > 0.05**).

Il est donc possible de comparer l'effet espèce, la dose inoculée n'étant pas statistiquement différentes entre notre échantillon de chiens et notre échantillon de renards. Il convient tout d'abord de présenter graphiquement la distribution des délais de mortalité tous confondus chien-renard (Figure 22).

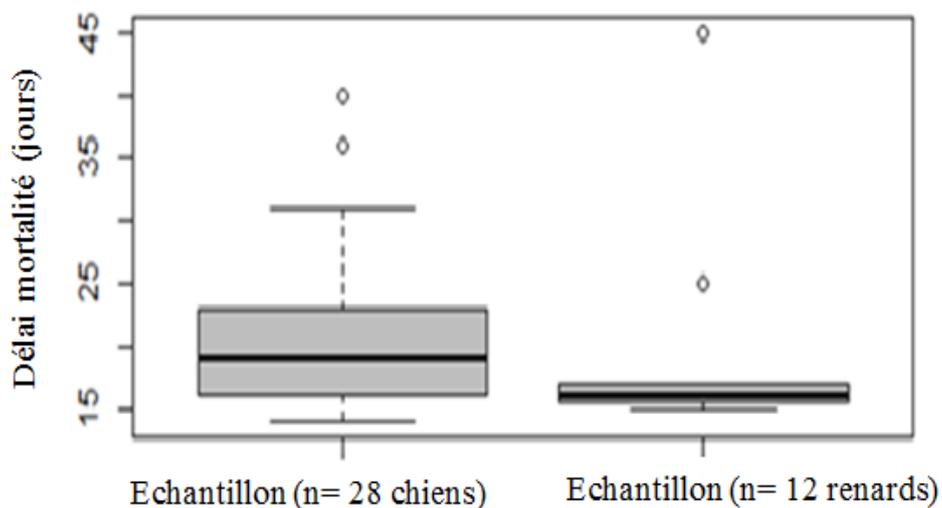
Figure 22 : Graphe en nuage des points de la distribution des délais de mortalité (chiens renards confondus) en fonction de la dose virale inoculée.



Graphiquement, on peut remarquer que la distribution des délais de mortalité n'est pas normale.

Il est possible de vérifier s'il y a une différence entre les délais de mortalité chez les deux espèces expérimentalement inoculées. De ce fait, il est important de présenter graphiquement la distribution des délais de mortalité chez chaque espèce (figure 23).

Figure 23 : Diagramme en boîte à moustache de la distribution des délais de mortalité chez les deux espèces (Canine – Vulpine).



Chez les chiens, le délai de mortalité est compris entre 14 et 40 jours, avec une moyenne de 20 jours. Chez les renards ce délai varie entre 15 et 45 jours avec une moyenne de 21 jours (tableau 8).

Tableau 7 : Mesures de dispersion de la variable délai de mortalité chez les chiens et les renards inoculés avec la même souche virale canine.

Espèce	Nombre de sujets	Délai de mortalité (en jours)			
		Moyenne	1 ^{er} quantile	Médiane	1 ^{ème} quantile
Chien	28	19.6	15.75	16	17
Renard	12	20.9	16	19	23

Même si graphiquement le délai de mortalité semble plus long chez les chiens que chez les renards (figure 18), statistiquement, il n'existe pas de différence significative entre le délai de mortalité observé chez les chiens de celui observé chez les renards (**Test de rang Mann-Whitney/ Wilcoxon : $p=0.2>0.05$**).

IV. Discussion

Les principaux résultats obtenus dans le cadre de ce travail et qui seront discutés ici sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Synthèse des constats réalisée

Système homologue (virus chien sur chien)	-Corrélation négative entre la dose virale inoculée et le délai de mortalité -Association importante entre la dose virale inoculée et la présence du virus dans les glandes salivaires OR : <u>0,4</u> [0.15-0.85]
Système hétérologue (virus renard sur renard)	Risque de survenue de la mort fonction de la souche inoculée (GS3, GS5 et GS7-1) par rapport à la GS3 (référence) : HR GS5 <u>6</u> [2.25-19.6] GS7-1 <u>3</u> [1.10-9.01]
Système hétérologue (virus chien sur renard)	Pas de lien significatif entre la dose virale inoculée et le délai de mortalité
Comparaison entre systèmes homologue et hétérologue utilisant la même souche virale (canine)	Pas de différence significative entre les délais de mortalité

IV.1. Système homologue-chiens

La question posée initialement était de savoir s'il était possible de faire un lien entre la dose virale inoculée et d'une part le délai de mortalité et d'autre part la présence du virus dans les glandes salivaires en vue de caractériser le risque de transmission de la maladie sur le terrain. Notre hypothèse de départ était en effet qu'un chien enrégé survivant longtemps et présentant des glandes salivaires infectées est un chien excréteur du virus et que plus la durée de présence du virus dans les glandes salivaires est longue, plus le risque de transmission de la maladie est important. Pour tester cette hypothèse, nous avons utilisé les résultats de suivi pour essayer de prédire à partir de la dose inoculée, le délai de mortalité et la présence du virus dans les glandes salivaires. Nous avons alors mis en évidence des résultats fortement significatifs :

- une corrélation négative entre la dose virale inoculée et le délai de mortalité, c'est-à-dire un délai de mortalité plus long avec une dose virale inoculée plus faible.
- une association forte entre la présence du virus rabique dans les glandes salivaires et une dose virale inoculée faible.

Donc pour un chien, l'infection par une faible dose de virus canin semble prolonger le délai de survenue de sa mort et augmente la probabilité d'excrétion du virus dans la salive, et donc augmente le risque de transmission du virus, ce qui contribue en partie au maintien de l'enzootie rabique dans une région donnée.

Notons que les données des différents essais cliniques utilisées pour réaliser l'étude comportaient initialement certains biais : effectifs faibles et doses choisies pour répondre à un protocole différent de notre travail. Après prises en compte de ces biais et corrections méthodologiques, notre étude a permis d'objectiver statistiquement les forces d'association entre l'exposition d'intérêt qui est la dose virale et les événements étudiés, à savoir le délai de mortalité et la présence de virus dans les glandes salivaires. A notre connaissance cette étude est la seule à avoir quantifié cette dernière association entre la dose virale et la présence du virus dans les glandes salivaires.

Si elle est intuitive sur le plan biologique, l'hypothèse de départ n'est vérifiée dans notre approche expérimentale que pour une seule souche canine provenant de chiens naturellement infectés mais qui a été propagée sur chien en condition expérimentale par la suite. Sa représentativité par rapport aux souches qui circulent naturellement sur le terrain peut donc être mise en question. Les quelques études précédemment publiées sur le sujet ont des résultats similaires. L'étude sur le terrain de Vaughn *et al.*, menée en 1965 aux Etats-Unis montre en effet aussi un lien entre la présence du virus rabique dans les glandes salivaires et la dose virale. De même, l'étude expérimentale de Fekadu *et al.*, menée en 1982 en Ethiopie, a montré la même influence que celle observée dans notre étude de la dose virale sur le délai de mortalité et sur la présence de virus dans les glandes salivaires. L'étude expérimentale de Blancou *et al.*, de 1990 a montré que tous les chiens inoculés avec une faible dose de virus d'une souche sauvage canine (MA85) provenant du Maroc présentaient du virus dans les glandes salivaires. Notre étude chez le chien confirme ce résultat avec une souche canine provenant d'un pays non-limitrophe mais proche, la Tunisie. Ce potentiel d'excrétion plus longue après inoculation de dose virale faible démontré pas ces différentes études dont la nôtre a une forte influence épidémiologique sur le maintien du cycle de la rage canine dans une zone endémique. Pour savoir s'il est généralisable l'analyse de résultats d'étude avec d'autres souches canines et chez d'autres espèces réservoir est nécessaire.

Chez le Renard roux, ce même phénomène a été observé dans une étude réalisée sur des renards inoculés avec une souche vulpine (Blancou *et al.*, 1983), qui a mis en évidence une corrélation négative entre le délai de mortalité et la dose virale inoculée et une influence sur l'excrétion salivaire en fonction de la dose virale similaire à celui de notre étude. De même, une étude conduite au Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de l'Anses à Nancy en 2013 (données non publiées, comm. pers. J. Barrat) a montré une corrélation négative entre le délai de mortalité de chiens viverrins, réservoir de rage en Europe de l'Est (Botvinkin *et al.*, 1983), et la dose d'une souche isolée à partir des glandes salivaires d'individu de la même espèce naturellement infecté en Pologne. Cette étude a montré que tous les chiens viverrins inoculés excrétaient le virus dans les glandes salivaires et le transmettaient à des animaux contacts. L'étude de Botvinkin *et al.*, menée en 1983 sur chiens viverrins inoculés avec différentes doses de virus d'une souche provenant d'un chien viverrin naturellement infecté par le virus rabique (Est de l'Europe) a montré le même résultat sur les glandes salivaires. Ces diagnostics positifs sur glandes salivaires et le succès de la contamination des animaux contacts permettent de comprendre le maintien efficace de l'infection chez le chien viverrin et son rôle d'hôte réservoir de la rage en Europe de l'Est.

Parallèlement, l'étude de Wandeler *et al.*, de 1974 chez une espèce comme le blaireau non considéré comme un hôte réservoir de rage, menée pendant l'épizootie de la rage vulpine en Europe a montré la présence du virus dans les glandes salivaires de 83 % des blaireaux enrégés à des quantités équivalentes de celles mises en évidence dans les glandes salivaires de renards mais sans pour cela que le cycle ne se maintienne chez les blaireaux seuls. Si l'excrétion du virus par les glandes salivaires est un facteur important de l'extension de la rage et du maintien de son cycle dans une population, il ne semble donc pas être le seul facteur. D'autres comme la durée d'excrétion et son caractère intermittent ou continu doivent aussi très certainement être pris en considération.

IV.2. Système homologue sur renards

La même hypothèse de départ a été adoptée pour le renard, à savoir que plus un renard présentant du virus rabique dans les glandes salivaires survit longtemps, plus le risque de transmission de la maladie au sein de la population de renards est élevé.

Notre étude n'a pas pu mettre en évidence de lien statistiquement significatif entre la dose et le délai de mortalité mais nous devons ici noter le manque de puissance statistique de notre étude du fait que les effectifs de renards inoculés pour une souche donnée à des doses différentes sont faibles. L'étude de Blancou *et al.* de 1983 mettait en évidence une corrélation négative entre le délai de mortalité et la dose virale d'une souche française inoculée ainsi qu'une influence de cette dose sur l'excrétion salivaire. Ces résultats mériteraient d'être confirmés dans une étude ultérieure avec une puissance statistique suffisante.

Nous nous sommes intéressés à d'autres facteurs susceptibles potentiellement d'influer le suivi clinique des renards inoculés comme la souche. La question était de savoir si la souche vulpine inoculée avec une dose permettant d'engendrer une excrétion salivaire pouvait modifier l'intensité des caractéristiques cliniques de la rage telles que le délai de mortalité, afin de caractériser le risque de transmission de la maladie au sein d'une population vulpine.

Les résultats de l'analyse du lien entre les différentes souches à doses équivalentes isolées sur le terrain à des époques différentes et le délai de mortalité sont fortement significatifs :

- Une différence significative de délai de mortalité est retrouvée entre les groupes inoculés avec les différentes souches (GS3, GS5 et GS7-1)
- Le risque instantané de survenue de la mort est différent en fonction de la souche inoculée avec les différentes souches (GS3, GS5 et GS7-1). L'incidence de mortalité des renards inoculés avec la souche GS3 est moins élevée que celle des renards inoculés avec les souches GS5 et GS7-1.

Ces résultats signifient que pour un renard, l'infection avec la souche la plus ancienne (GS3, isolée en 1976) tue moins vite, donc favorise les rencontres avec d'autres animaux sains, augmentant le risque de transmission de la maladie. Pour les renards inoculés avec des souches plus récentes (GS, isolée en 1982 et GS7-1, isolée en 1986), l'incidence de mortalité est plus élevée, ce qui peut modifier la propagation et l'extension géographique de la maladie. En effet, une souche provoquant la mort trop rapide de renards contaminés par un même individu enrégé pourrait entraîner l'élimination de ces nouveaux porteurs du virus avant qu'ils ne contaminent à leur tour des congénères sains.

Notre étude a été réalisée à partir de données de différentes souches isolées sur le terrain entre 1976 et 1986. Le nombre de sujets faibles et variables en fonction des groupes, la représentativité des souches vulpines par rapport à l'ensemble des souches circulantes dans la nature et la sélection expérimentale de la GS7-1 nous incitent à des conclusions prudentes. Pour autant ce lien entre la souche vulpine et la rapidité de survenue de la mort des renards enrégés nous semble intéressant à mieux caractériser car il pourrait être l'un des facteurs de l'évolution de l'épizootie de la rage vulpine qui a eu lieu en Europe de l'Ouest.

IV.3. Système hétérologue sur renard

La question posée initialement était de savoir s'il était possible de faire un lien entre la dose virale inoculée et le délai de mortalité d'une part et la présence du virus dans les glandes salivaires d'une autre part en vue de caractériser le risque de transmission de la rage canine par le renard.

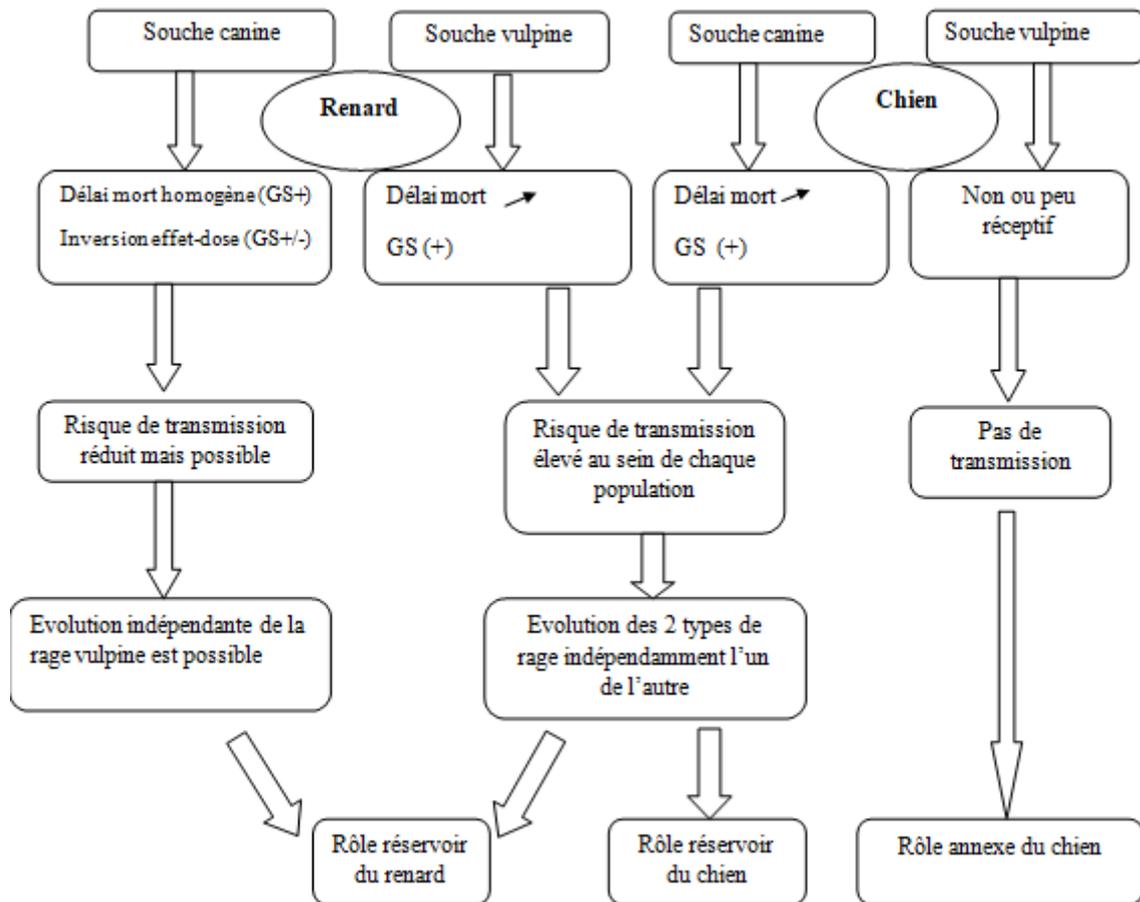
L'étude de cette question a été réalisée avec la souche canine utilisée dans le système homologue chien pour pouvoir comparer les systèmes homologue et hétérologue. La mortalité et l'excrétion du virus dans les glandes salivaires sont obtenues chez l'ensemble des renards inoculés avec les différentes doses de cette souche. Chez les renards inoculés avec la souche canine, aucune relation significative entre le délai de mortalité et la dose inoculée n'a été démontrée. Ce résultat pourrait provenir d'un manque de puissance statistique vu le faible nombre d'animaux éprouvés (12 renards), ou alors de l'inexistence d'une relation entre ces paramètres. Une étude menée par Blancou *et al.* en 1983 irait plutôt dans le sens de la première hypothèse puisqu'avec plus de 26 renards ils mettent en évidence une relation mais inverse de l'effet dose mis en évidence dans le système homologue chien. Le lien entre la dose et la mortalité mériterait d'être confirmé en système hétérologue sur un nombre plus important de renards mais peut-être aussi sur d'autre réservoir éventuel de la rage en Europe comme le chien viverrin par exemple. Cela permettrait de mieux comprendre l'apparition de la rage vulpine en Turquie (Johnson *et al.*, 2003) et de la rage du chien viverrin dans les pays de l'Est de l'Europe (Botvinkin *et al.*, 1983) où les différentes populations réservoir co-existent ; rage canine et rage vulpine en Turquie et rage du chien viverrin et du renard dans les pays de l'Europe de l'Est.

La comparaison des délais de mortalité chez les chiens et les renards inoculés avec la même souche canine tunisienne n'a pas mis en évidence de différence significative entre ces délais. Un renard infecté par une souche canine semble avoir le même délai de mortalité et donc le même temps de rencontre avec un individu sain qu'un chien infecté avec la même souche. Cette caractéristique pourrait avoir comme conséquence le maintien de la rage canine au sein de population vulpine contaminée par un virus canin comme cela s'est déjà produit en Europe dans les années 1980 (Blancou *et al.*, 1988).

Notre étude tend à montrer que le rôle des populations de renards et de chiens est différent dans l'épidémiologie de la rage en fonction de la souche de virus. En effet, lorsque la souche virale est d'origine canine, les populations de renards comme celles de chien jouent le rôle de population de maintenance du virus (Haydon *et al.*, 2002) comme cela est le cas en Turquie. Inversement, lorsque la souche virale est d'origine vulpine, seules les populations de renards sont capables de maintenir la rage, le chien jouant un rôle plus accessoire. Cela était le cas dans les pays de l'Europe de l'Ouest.

Finalement, en croisant les résultats (même fragmentaires) des analyses réalisées dans notre étude et les informations de la bibliographie nous proposons la synthèse ci-dessous concernant le risque de transmission et l'évolution de la rage canine et de la rage vulpine (Figure 24)

Figure 24 : Synthèse sur le risque de transmission et l'évolution de la rage canine et de la rage vulpine



V. Conclusion

L'exploitation de la base de données de la station expérimentale d'Atton du LRFSN nous a permis de mettre en évidence une relation entre les résultats de suivi clinique des chiens enrégés et la dose virale inoculée d'une part, et une relation entre cette dernière et le nombre de chien à glandes salivaires infectées. Un chien inoculé avec une faible dose de virus canin mettra plus de temps à mourir de la rage et la probabilité que le virus gagne ses glandes salivaires sera plus élevée. Pour les renards de notre base de données, c'est la souche vulpine inoculée qui est associée à la rapidité de survenue de la mort qui est d'autant plus rapide que la souche est récente.

Ainsi, pour répondre à la question posée sur les facteurs de risques impactant la transmission de la maladie sur le terrain et le maintien du cycle dans un système homologue, nos résultats montrent l'importance du délai de mortalité chez le chien et le renard qui ne doivent pas mourir trop vite afin que le virus puisse atteindre les glandes salivaires et que la probabilité de rencontre avec un congénère sain soit suffisamment importante. Ceci est d'autant plus vrai pour un maintien du cycle au sein de chaque de chaque population et une évolution indépendante des deux types de rage.

L'influence de l'âge de la souche est vraiment un résultat statistique intéressant. Cela pourrait être un des facteurs expliquant le ralentissement du front de la rage en Europe après les années 1980. Notre analyse a donné lieu à de nouvelles pistes de recherche. Des séquençages par NGS ont été mis en œuvre sur nos souches GS3, GS5 et GS7.1 pour explorer le génome des sous-populations constitutives et l'associer à une augmentation de la rapidité de survenue de la mort. L'étude de cette évolution des souches sera à poursuivre.

Concernant l'apport informatif du système hétérologue, nos résultats manquent de puissance pour conclure avec certitude sur le rôle du délai de mortalité et de la dose d'inoculation dans le maintien de la rage au sein des deux populations animales. D'autres types d'études telles que le suivi des animaux sur le terrain, des outils de modélisations statistiques complexes et de technologies de laboratoires perfectionnées (NGS) sont à entreprendre sur ces sujets pour mieux comprendre les mécanismes en jeu. Nos résultats montrent que les populations de renards et les populations de chiens n'ont pas le même rôle dans le maintien de la rage en fonction du virus considéré. L'épidémiologie de la rage est donc conditionnée par l'écologie du virus en lien avec l'écologie des populations animales dans un environnement donné.

BIBLIOGRAPHIE

- Afonso, Claudio L., Gaya K. Amarasinghe, Krisztián Bányai, Yīmíng Bào, Christopher F. Basler, Sina Bavari, Nicolás Bejerman, et al. 2016. « Taxonomy of the Order Mononegavirales: Update 2016 ». *Archives of Virology* 161 (8): 2351-60. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2880-1>
- Artois, M, M Aubert, J Blancou, J Barrat, ML Poulle, et P Stahl. 1991. « Écologie des comportements de transmission de la rage ». *Annales de Recherches Vétérinaires* 22 (2): 163-72.
- Aubert, MFA, J Blancou, J Barrat, M Artois, et M-J Barrat. « 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, n° 1 (1991): 77-93
- Banyard, Ashley C., David Hayman, Nicholas Johnson, Lorraine McElhinney, et Anthony R. Fooks. 2011. « Bats and Lyssaviruses ». *Advances in Virus Research* 79: 239-89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00012-3>.
- Banyard, Ashley C., Daniel L. Horton, Conrad Freuling, Thomas Müller, et Anthony R. Fooks. 2013. « Control and Prevention of Canine Rabies: The Need for Building Laboratory-Based Surveillance Capacity ». *Antiviral Research* 98 (3): 357-64. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.04.004>.
- Black, J. G., et K. F. Lawson. 1970. « Sylvatic Rabies Studies in the Silver Fox (*Vulpes vulpes*). Susceptibility and Immune Response ». *Canadian Journal of Comparative Medicine* 34 (4): 309-11.
- Blancou J., Barrat J. ET Aubert M.F.A. 1990. « Evolution du tropisme du virus de la rage vulpine et de la réaction immunitaire à l'infection ». *Revue Méd. Vét.*, 141, 7, 539 – 544.
- Blancou, J., M. F. A. Aubert, et J. P. Soulebot. 1983. « Différences dans le pouvoir pathogène de souches de virus rabique adaptées au renard ou au chien: Change in rabies virus pathogenicity with adaptation to fox or dog ». *Annales de l'Institut Pasteur / Virologie* 134 (4): 523-31. [https://doi.org/10.1016/S0769-2617\(83\)80024-0](https://doi.org/10.1016/S0769-2617(83)80024-0).
- Blancou, J., et J. Barrat. 1988. « The epidemiological role played by various animal species, in human exposure to rabies in Europe ». 1988. <https://doi.org/10.4267/2042/64587>.
- Blancou J., Aubert M.F.A, Andral L et Artois M. 1979. « Rage expérimentale du renard roux (*vulpes vulpes*). Sensibilité-symptômes-excrétion du virus. *Revue Méd. Vét.*, 130, 1001-1015.
- Botvinkin, A. D., L. Ia Gribanova, et T. A. Nikifirova. 1983. « [Experimental rabies in the raccoon dog] ». *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, I Immunobiologii*, n° 12 (décembre): 37-40
- Cliquet, Florence, Evelyne Picard-Meyer, et Emmanuelle Robardet. 2014. « Rabies in Europe: what are the risks? » *Expert Review of Anti-infective Therapy* 12 (8): 905-8. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.921570>.
- Dacheux Laurent, Jean-Marc Reynes, Philippe Buchy, Ong Sivuth, Bernard M. Diop, Dominique Rousset, Christian Rathat, et al. 2008. « A Reliable Diagnosis of Human Rabies Based on Analysis of Skin Biopsy Specimens ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 47 (11): 1410-17. <https://doi.org/10.1086/592969>.

Dodet, Betty, Africa Rabies Expert Bureau (AfroREB), E. V. Adjogoua, A. R. Aguemon, O. H. Amadou, A. L. Atipo, B. A. Baba, et al. 2008. « Fighting Rabies in Africa: The Africa Rabies Expert Bureau (AfroREB) ». *Vaccine* 26 (50): 6295-98. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.04.087>.

Dufour B., Toma B, et al. 2017, La rage, Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Mérial (Lyon), 65 p.

Fekadu, Makonnen, John H. Shaddock, et George M. Baer. 1982. « Excretion of Rabies Virus in the Saliva of Dogs ». *The Journal of Infectious Diseases* 145 (5): 715-19. <https://doi.org/10.1093/infdis/145.2.715>.

Fooks, Anthony R, Ashley C Banyard, Daniel L Horton, Nicholas Johnson, Lorraine M McElhinney, et Alan C Jackson. 2014. « Current Status of Rabies and Prospects for Elimination ». *The Lancet* 384 (9951): 1389-99. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62707-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62707-5).

Fooks, Anthony R., Florence Cliquet, Stefan Finke, Conrad Freuling, Thiravat Hemachudha, Reeta S. Mani, Thomas Müller, et al. 2017. « Rabies ». *Nature Reviews. Disease Primers* 3 (novembre): 17091. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.91>.

Gautret Philippe, Florence Ribadeau-Dumas, Philippe Parola, Philippe Brouqui, et Hervé Bourhy. 2011. « Risk for Rabies Importation from North Africa ». *Emerging Infectious Diseases* 17 (12): 2187-93. <https://doi.org/10.3201/eid1712.110300>.

Haddad, Nadia, et Hervé Bourhy. 2015. « La rage animale : risques autochtones et d'importation, mesures à prendre ». *Revue Francophone des Laboratoires* 2015 (472): 35-49. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(15\)30111-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(15)30111-8).

Hampson Katie, Laurent Coudeville, Tiziana Lembo, Maganga Sambo, Alexia Kieffer, Michaël Attlan, Jacques Barrat, et al. 2015. « Estimating the Global Burden of Endemic Canine Rabies ». *PLOS Neglected Tropical Diseases* 9 (4): e0003709. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003709>.

Hampson Katie, Jonathan Dushoff, Sarah Cleaveland, Daniel T. Haydon, Magai Kaare, Craig Packer, et Andy Dobson. 2009. « Transmission Dynamics and Prospects for the Elimination of Canine Rabies ». *PLOS Biology* 7 (3): e1000053. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000053>.

Hanke Dennis, Conrad M. Freuling, Susanne Fischer, Karsten Hueffer, Kris Hundertmark, Susan Nadin-Davis, Denise Marston, et al. 2016. « Spatio-Temporal Analysis of the Genetic Diversity of Arctic Rabies Viruses and Their Reservoir Hosts in Greenland ». *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10 (7): e0004779. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004779>.

Daniel T. Haydon, Sarah Cleaveland, Louise H. Taylor, and M. Karen Laurenson et al. 2002. « Identifying Reservoirs of Infection: A Conceptual and Practical Challenge. *Emerg Infect Dis.* 2002 Dec; 8(12): 1468–1473. <https://doi.org/10.3201/eid0812.010317>.

Hayman, David T. S., Anthony R. Fooks, Denise A. Marston, et Juan C. Garcia-R. 2016. « The Global Phylogeography of Lyssaviruses - Challenging the “Out of Africa” Hypothesis ». *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10 (12): e0005266. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005266>.

Johnson, Nicholas, Colin Black, Jemma Smith, Hikmet Un, Lorraine M. McElhinney, Orhan Aylan, et Anthony R. Fooks. 2003. « RABIES EMERGENCE AMONG FOXES IN TURKEY ». *Journal of Wildlife Diseases* 39 (2): 262-70. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-39.2.262>.

Jones, Rowena D., Louise Kelly, Anthony R. Fooks, et Marion Wooldridge. « Quantitative Risk Assessment of Rabies Entering Great Britain from North America via Cats and Dogs ».

Risk Analysis 25, n° 3 (s. d.): 533-42. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2005.00613>.

Knobel, Darryn L., Sarah Cleaveland, Paul G. Coleman, Eric M. Fèvre, Martin I. Meltzer, M. Elizabeth G. Miranda, Alexandra Shaw, Jakob Zinsstag, et François-Xavier Meslin. 2005. « Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. » *Bulletin of the World Health Organization* 83 (5): 360-68.

Koprowski H., Wiktor T.J., Abelseth M.K. 1985. « Cross-Reactivity and Cross-Protection: Rabies Variants and Rabies-Related Viruses ». In: Kuwert E., Mérieux C., Koprowski H., Bögel K. (eds) *Rabies in the Tropics*. Springer, Berlin, Heidelberg : Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-70060-6_4.

Kuzmin, I. V., G. J. Hughes, A. D. Botvinkin, S. G. Gribencha, et C. E. Rupprechet. 2008. « Arctic and Arctic-like rabies viruses: distribution, phylogeny and evolutionary history ». *Epidemiology and Infection* 136 (4): 509-19. <https://doi.org/10.1017/S095026880700903X>.

Lunney, Meg, Sonia J. S. Fèvre, Enid Stiles, Sowath Ly, Sorn San, et Sirenda Vong. 2012. « Knowledge, Attitudes and Practices of Rabies Prevention and Dog Bite Injuries in Urban and Peri-Urban Provinces in Cambodia, 2009 ». *International Health* 4 (1): 4-9. <https://doi.org/10.1016/j.inhe.2011.12.001>.

Matouch, O., J. Jaros, et P. Pohl. 1984. « Excretion of the rabies virus in foxes after experimental infection ». *Veterinarni Medicina* 29 (11): 653-58.

Mollentze, Nardus, Roman Biek, et Daniel G Streicker. 2014. « The role of viral evolution in rabies host shifts and emergence ». *Current Opinion in Virology* 8 : 68-72. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2014.07.004>.

Mulatti Paolo, Lezana Bonfanti, Tommaso Patregnani, Monica Lorenzetto, Nicola Ferrè, Laura Gagliazzo, Claudia Casarotto, Andrea Maroni Ponti, Gaetana Ferri, et Stefano Marangon. 2013. « 2008–2011 sylvatic rabies epidemic in Italy: challenges and experiences ». *Pathogens and Global Health* 107 (7): 346-53. <https://doi.org/10.1179/2047772413Z.000000000175>.

Nel, L. H., G. R. Thomson, et B. F. Von Teichman. 1993. « Molecular Epidemiology of Rabies Virus in South Africa ». *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 60 (4): 301-6.

Organisation mondiale de la santé (OMS) 2018. « Rage ». <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/rabies>. Consulté le 18 mars 2018.

Robardet, Emmanuelle, Evelyne Picard-Meyer, Marianna Dobroštana, Ingrida Jaceviciene, Katrin Mähar, Zita Muižniece, Gediminas Pridotkas, et al. 2016. « Rabies in the Baltic States: Decoding a Process of Control and Elimination ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004432>.

Schalamon, J. 2006. « Analysis of Dog Bites in Children Who Are Younger Than 17 Years ». *PEDIATRICS* 117 (3): e374-79. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-1451>.

Servat, A., Dacheux, L., Picard-Meyer, E., Rosières, X., Robardet, E., Bourhy, H., Cliquet, F., 2014. Bilan de la surveillance de la rage animale en France: deux cas détectés en 2013. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.* 64, 78-81

Suu-Ire, Richard, Lineke Begeman, Ashley C. Banyard, Andrew C. Breed, Christian Drosten, Elisa Eggerbauer, Conrad M. Freuling, et al. 2018. « Pathogenesis of Bat Rabies in a Natural Reservoir: Comparative Susceptibility of the Straw-Colored Fruit Bat (*Eidolon Helvum*) to Three Strains of Lagos Bat Virus ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 12 (3): e0006311. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006311>.

Taylor Louise H., Hampson K, Fahrion A, Abela-Ridder B, Nel L. H et al. 2017. « Difficulties in Estimating the Human Burden of Canine Rabies ». *Acta Tropica* 165 (janvier): 133-40. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.12.007>.

Vaughn JB, Jr., Gerhardt P, et Newell KW. 1965. « Excretion of street rabies virus in the saliva of dogs ». *JAMA* 193 (5): 363-68. <https://doi.org/10.1001/jama.1965.03090050039010>

Wallace, Ryan M., Amy Gilbert, Dennis Slate, Richard Chipman, Amber Singh, Cassie Wedd, et Jesse D. Blanton. 2014. « Right Place, Wrong Species: A 20-Year Review of Rabies Virus Cross Species Transmission among Terrestrial Mammals in the United States ». *PLOS ONE* 9 (10): e107539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107539>.

Wandeler A., Wachendorfer G., Forster U., Krekel H., Schale W. Muller J. AND Steck F. 1974 « Rabies in wild carnivores in Central Europe – I Epidemiological studies », *Zbl. Vet. Med. B*, 21, 735-756

WHO Rabies Bulletin. Site internet de WHO Rabies Bulletin. [en ligne] [<http://www.who-rabies-bulletin.org/Queries/Maps.aspx>]. Consulté le 08 mars 2018

Wu, Xiaojin, Yanyan Mi, Hui Yang, Ankang Hu, Qingguo Zhang, et Chunli Shang. 2013. « The Activation of HMGB1 as a Progression Factor on Inflammation Response in Normal Human Bronchial Epithelial Cells through RAGE/JNK/NF-KB Pathway ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 380 (1-2): 249-57. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1680-0>.