

**anses**

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

# Interprétation de tests antirabiques chez des chiots provenant de l'Union européenne

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Avril 2020 - Édition scientifique





**anses**

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître. évaluer. protéger*

# Interprétation des résultats des titrages des anticorps antirabiques chez des chiots faisant l'objet de mouvements commerciaux en provenance d'États membres de l'Union européenne vers la France

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Avril 2020 - Édition scientifique



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 2 avril 2020

## **AVIS**

### **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail complété**

**relatif à « l'interprétation des résultats de titrages des anticorps antirabiques  
chez des chiots faisant l'objet de mouvements commerciaux  
en provenance d'Etats membres de l'Union européenne vers la France »**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses a été saisie le 28 février 2018 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) – Brigade nationale d'enquête vétérinaire et phytosanitaire (BNEVP) pour la réalisation de l'expertise suivante : « demande d'avis relatif à l'interprétation des résultats de titrages des anticorps antirabiques chez des chiots faisant l'objet de mouvements commerciaux en provenance d'Etats membres de l'Union européenne vers la France ».

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

La réglementation relative aux échanges commerciaux de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'Union européenne (UE) vers la France précise notamment que la vaccination antirabique doit être réalisée, préalablement à ces échanges, selon les modalités suivantes : elle doit se faire à partir de l'âge de 12 semaines, et un délai minimal de 21 jours doit être respecté après l'injection pour qu'elle soit considérée comme valable. Selon l'article 5.a. de la directive 90/425, « l'autorité compétente peut, sur les lieux de destination des animaux ou des produits vérifier par des contrôles vétérinaires par sondage et de nature non discriminatoire, le respect des exigences de l'article 3 ; elle peut, à cette occasion, procéder à des prélèvements d'échantillons ».

La Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires (BNEVP) soupçonne que de nombreux échanges et introductions de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'UE vers la France sont réalisés sans respecter la réglementation européenne concernant la vaccination antirabique. A partir des éléments recueillis lors d'enquêtes judiciaires pour lesquels des échantillons sanguins ont été prélevés, la BNEVP constate fréquemment que 30 à 70 % d'animaux présentent un titre en anticorps antirabiques neutralisants inférieur à

0,5 UI/mL, suggérant un non-respect du protocole vaccinal. Des éléments d'enquête ont été étudiés en collaboration avec le Laboratoire de l'Anses à Nancy.

Selon les termes de la saisine, la BNEVP souhaiterait « *disposer d'un protocole permettant, sur la base des résultats d'analyse, de déterminer la conformité ou non du statut des animaux composant le lot expédié au regard de la vaccination antirabique et permettant de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primo-vaccination à 12 semaines et délai de 21 jours) est respecté.*

*Si un tel protocole était possible, il conviendrait de connaître :*

- *le nombre minimum d'animaux constituant un lot et le pourcentage de chiens à prélever dans un lot pour une meilleure interprétation des titrages sériques ;*
- *à partir de quel pourcentage de chiots pour lesquels le titrage est inférieur à 0,5 UI/ml, il est possible de conclure au non-respect du protocole vaccinal. »*

## **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'Anses a confié au groupe de travail (GT) « Rage », rattaché au comité d'experts spécialisé « SABA » (Santé et bien-être des animaux), l'instruction de cette saisine, qui a été traitée en deux temps :

- dans un premier temps, un appui scientifique et technique (AST) a été réalisé par le Laboratoire national de référence (LNR) Rage de l'Anses-Nancy, sur la base d'une recherche bibliographique et de l'interprétation des résultats de titrages antirabiques réalisés sur les lots de chiots contrôlés par la BNEVP ;
- dans un second temps, une expertise collective a été réalisée, sur la base des données de l'AST, pour répondre à la question de la saisine. Les travaux du GT ont également porté sur la question de la détermination de l'âge d'un chiot pour laquelle un rapporteur externe a été sollicité sur cette question.

Les travaux d'expertise du GT ont été soumis au CES SABA, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques, les 13 novembre 2018 et 19 février 2019. Le rapport a été présenté au CES pour validation le 19 mars 2019. Le rapport produit par le GT en mars 2019 tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Suite à l'envoi à la DGAL - BNEVP de l'avis du 25 avril 2019 et du rapport du GT de mars 2019, le demandeur a, dans le cadre d'échanges par mail et lors d'une réunion de restitution le 16 octobre 2019, posé une question complémentaire, portant « *sur la possibilité ou non de déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont < 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie dont la recherche de l'origine, possiblement variée et présentée dans le rapport, reviendra à la BNEVP (ex : 35 % de titres < 0.5 UI/mL : probabilité X qu'il y ait une anomalie ; 40% de titres < 0.5 UI/mL : probabilité Y qu'il y ait une anomalie ; 50 % de titres < 0.5 UI/mL : probabilité Z qu'il y ait une anomalie quant au respect des procédures de la vaccination [injection vaccinale])* ». Les experts se sont réunis les 15 novembre, 11 décembre 2019 et 13 janvier 2020 pour discuter cette question. Les travaux d'expertise ont été soumis au CES SABA le 4 février 2020, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport d'expertise complété a été présenté au CES SABA pour validation le 3 mars 2020. Ce rapport complété tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES ET GT RAGE

#### 3.1. Argumentaire

##### 3.1.1. Contexte : situation épidémiologique de la rage en Europe et aspects réglementaires

En Europe, la situation épidémiologique de la rage du Renard (*Vulpes vulpes*) et du Chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*), seuls réservoirs du virus rabique [RABV] sur ce continent, est satisfaisante. La majorité des pays d'Europe occidentale et centrale est indemne de rage selon les critères de l'OIE (Organisation mondiale de la santé animale), notamment l'Irlande, la Belgique, la République tchèque, les Pays Bas et la France, mentionnés dans les données de la BNEVP. La Bulgarie, la Slovaquie et la Hongrie sont des pays infectés de rage vulpine, les derniers cas ayant été rapportés en 2014, 2015 et 2017, respectivement. En 2017-2018, 14 cas de rage d'origine vulpine ont été rapportés en Roumanie, Pologne, Hongrie et Lituanie chez sept renards, deux chiens, deux chèvres, deux bovins et un chat.

D'un point de vue réglementaire, le respect des obligations détaillées dans le présent rapport (cf. § 2.2) fait qu'un carnivore domestique, dans le cadre des échanges commerciaux au sein de l'UE (sauf dérogation), ne peut être introduit sur le territoire français qu'à l'âge minimal de 15 semaines, accompagné d'un passeport attestant de son identification, réalisée à l'aide d'un transpondeur préalablement à sa vaccination antirabique effectuée au plus tôt à l'âge de 12 semaines.

Dans le cadre des échanges intracommunautaires, il n'est pas imposé d'épreuve de titrage des anticorps antirabiques.

##### 3.1.2. Détermination de l'âge des chiots<sup>1</sup>

La BNEVP mentionne que « *l'apparence juvénile de ces animaux amène les enquêteurs à estimer que leur âge est inférieur à celui déclaré, et qu'ils ont donc été vaccinés à moins de 12 semaines* ». Des chiots n'auraient régulièrement pas les 15 semaines requises pour être introduits depuis d'autres Etats membres de l'UE. La question porte donc sur la détermination de l'âge des chiots.

Durant la croissance, les chiots subissent de nombreuses évolutions, tant du point de vue anatomique, morphologique (croissance osseuse, denture) que physiologique (maturation de différents organes, paramètres physiologiques, hématologiques, biochimiques). Ces différentes modifications ont lieu à des tranches d'âge déterminées, mais sont accompagnées d'une variabilité plus ou moins importante selon les critères considérés (de quelques jours à plusieurs semaines ou mois).

Dans le cadre de la saisine, la période d'âge à considérer concerne les chiots de moins de quatre mois, principalement ceux de deux à quatre mois. Les critères les plus pertinents pour donner une approximation de l'âge dans ce contexte sont la prise en compte conjointe de l'aspect général, du poids et de la denture des chiots. Cette estimation sera toutefois accompagnée d'une incertitude variable selon les cas. Les experts soulignent à ce titre que, lorsque la date de naissance d'un chiot n'est pas connue, l'âge de ce chiot ne pourra être qu'estimé par des indices concordants, mais en aucun cas une valeur précise ne pourra être donnée. Un second examen, pratiqué environ deux à quatre semaines après le premier (intervalle à moduler en fonction de la première estimation), permettra cependant, sur la base de l'évolution de la dentition, de valider ou non les premières estimations d'âge.

##### 3.1.3. Vaccination et titrages des anticorps antirabiques : données bibliographiques

Il ressort de l'analyse des données bibliographiques réalisée dans le rapport (cf. § 4) que la vaccination contre la rage, administrée par voie parentérale, induit une réponse humorale se

<sup>1</sup> Le terme « chiot » désigne les jeunes animaux avant la puberté



traduisant par une production sérique d'anticorps neutralisants dirigés contre le virus rabique. Chez les chiens primovaccinés, le pic d'anticorps antirabiques neutralisants est généralement atteint environ un mois après la première stimulation antigénique. Cette réponse humorale est influencée par plusieurs facteurs, notamment une variabilité individuelle importante et le vaccin utilisé.

Les chiots peuvent présenter une réponse immunitaire à la vaccination antirabique dès l'âge de quatre semaines, en conditions expérimentales et de terrain. Chez des chiots issus d'une mère vaccinée, l'amplitude de la réponse sérologique peut être similaire ou inférieure à celle des chiots issus d'une mère non vaccinée.

En revanche, la production d'anticorps ne semble pas influencée par l'âge du chiot lors de la vaccination. Chez les animaux primovaccinés, l'observation d'un titre faible en anticorps antirabiques est généralement associée au délai entre la vaccination et la réalisation du titrage (titrage trop précoce ou trop tardif par rapport à la date de vaccination).

#### 3.1.4. Analyse des résultats de titrages antirabiques réalisés sur les lots d'animaux contrôlés par la BNEVP

Les données transmises à l'Anses relatives aux 17 lots (ou dossiers judiciaires) contrôlés par la BNEVP entre 2008 et 2018, incluent 946 animaux (937 chiens et neuf chats), parmi lesquels 645 animaux (639 chiots et six chats) ont un résultat sérologique (cf. § 5.2). Des analyses univariées et multivariées ont été réalisées sur cet échantillon de 645 animaux dans l'objectif, en réponse à la saisine, de rechercher une éventuelle relation entre les titres sérologiques et l'âge des animaux.

Différents paramètres ont été étudiés sur la population globale ayant un résultat sérologique et sur les différents lots d'animaux, afin de dégager des tendances qui permettraient de pouvoir répondre aux préoccupations de la BNEVP. Il convient de souligner que les interprétations sont assez limitées et certainement biaisées du fait de peu de données fiables dans les dossiers, en l'occurrence l'âge réel des animaux, et surtout la date de la vaccination. Toutes les études réalisées dans le domaine de la sérologie rage sur des animaux primovaccinés soulignent que le facteur déterminant pour interpréter les titres en anticorps de ces animaux est la prise en compte du délai entre la vaccination et la prise de sang. Un résultat de sérologie ne peut être interprété qu'à partir de données fiables (animal effectivement vacciné, connaissance de la date de la primo-vaccination, donc du délai entre la vaccination et la prise de sang, cf. § 4.2). En outre, les animaux d'un même lot n'ont pas tous le même historique sur les documents, et peuvent provenir de différents pays. Des différences parfois importantes entre la date de l'inspection, et donc de prélèvement, et la date de départ sont constatées dans la quasi-totalité des lots. Enfin, les données analysées n'ayant pas été collectées à des fins d'analyse statistique, elles sont de fait très hétérogènes. Il en résulte un manque d'ajustement du modèle aux données.

**Concernant les résultats des analyses univariées**, les résultats globaux des titres en anticorps antirabiques sur les 645 animaux testés montrent que 51 % d'entre eux ont produit une réponse immunitaire à un titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL, avec une variabilité des titres individuels importante. Ce résultat est très inférieur aux données de la littérature qui rapportent des pourcentages de l'ordre de 85 %, y compris chez des chiots âgés de moins de 12 semaines (cf. § 4.4). On peut considérer que ces chiens ayant un titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL ont été vaccinés et que la date de la prise de sang a été compatible avec la mise en évidence d'anticorps antirabiques. Cependant, le titre ainsi obtenu ne signifie pas que le délai minimal de 21 jours entre la vaccination et le titrage des anticorps a été respecté. Parmi les 49 % d'animaux ayant présenté un titre inférieur à 0,5 UI/mL, près de la moitié (répartis dans 15 lots) ont un titre proche de 0 UI/mL (inférieur à 0,1 UI/mL) et n'ont probablement pas été vaccinés, ou ils l'ont été à proximité du jour du départ. L'autre moitié des animaux présente des titres en anticorps compris entre 0,1 et 0,5 UI/mL, suggérant que ces animaux ont été vaccinés.



Aucun lot n'est complètement conforme réglementairement pour l'âge des chiots au moment de l'inspection. Les données analysées ont montré que la conformité d'âge à elle seule ne peut pas expliquer un résultat sérologique. Inversement, un titre en anticorps, qu'il soit supérieur ou inférieur à 0,5 UI/mL, ne permet pas de définir si un animal est conforme ou non en âge, ce constat étant également valable pour un lot d'animaux.

La grande hétérogénéité des titres observés pour un même pays, retrouvée sur plusieurs lots, montre qu'aucun pays ne peut être particulièrement visé par des contrôles. Les autres analyses, y compris celles des titres en anticorps en fonction des délais entre les dates de vaccination et de prise de sang et/ou entre dates de départ (dont on peut supposer qu'elle pourrait approximativement correspondre à une date de vaccination) et de prise de sang, ne permettent pas de dégager de tendance utilisable pour répondre à la saisine.

**Concernant les analyses multivariées**, des modèles intégrant toutes les combinaisons possibles parmi les variables explicatives testées ont été construits et comparés afin d'expliquer les valeurs des titres en anticorps antirabiques. L'âge du chien n'a pas pu être considéré compte-tenu de la non harmonisation du format de ces données dans les fichiers fournis. Le modèle sélectionné qui expliquait le mieux les données intégrait l'ensemble des variables présentées. Toutefois, il résulte de l'hétérogénéité et du manque de fiabilité des données, mentionnés ci-dessus, un manque d'ajustement des modèles aux données qui n'a pas permis d'obtenir des résultats exploitables.

**En conclusion**, les questionnements de la saisine se réfèrent à des lots, qui correspondent à des dossiers judiciaires et non à des groupes d'animaux réunis en fonction de critères scientifiques ou méthodologiques définis, ou à des animaux tirés au sort au sein d'une population. Les lots de la saisine ne sont pas homogènes, ils sont de taille variable et avec des animaux en provenance de différents pays. Par ailleurs, les lots comportent des animaux conformes et non conformes en âge (d'après les estimations des experts chargés d'examiner les chiots).

L'étude des 17 lots de carnivores domestiques théoriquement vaccinés contre la rage, en provenance de certains Etats membres et introduits en France, suggère une couverture vaccinale globalement insuffisante, avec une grande hétérogénéité selon les lots.

Les non conformités (non-respect de l'âge minimum à la vaccination et/ou non-respect de la période d'attente minimale de 21 jours après la vaccination) ne sont pas déductibles des résultats de sérologie, sauf lorsque, dans un lot, la totalité des animaux testés possède des titres proches du seuil de 0 UI/mL signifiant que les animaux n'ont pas été vaccinés. Le non-respect du délai de 21 jours peut expliquer l'obtention de titres inférieurs à 0,5 UI/mL, mais sans que ce soit la seule cause possible (animaux mauvais répondeurs...). Les résultats de sérologie ne permettent pas, qui plus est, sur de tels lots non homogènes dont les dates ne sont pas fiables (date de naissance et de vaccination en particulier), d'objectiver l'origine de la fraude, sauf s'il s'agit de détecter si des lots entiers de chiens sont complètement dépourvus d'anticorps.

Ainsi, un titre en anticorps, quel qu'il soit :

- ne permet pas de prédire qu'un animal est conforme ou non en âge,
- ne permet pas de prédire que la vaccination a été réalisée à l'âge minimal de 12 semaines et que le délai minimal de 21 jours entre la vaccination et la prise de sang a été respecté.

## **3.2. Réponse aux questions**

### **3.2.1. Question initiale de la saisine**

Concernant la pertinence de réaliser un protocole permettant de déterminer la conformité ou non du statut des animaux composant le lot expédié, les experts soulignent les points suivants :

- la réglementation européenne prévoit que chaque chiot ou chaton soumis à des échanges commerciaux intracommunautaires ait fait l'objet d'une vaccination antirabique répondant aux exigences de validité énoncées à l'annexe III du règlement (UE) n° 576/2013 (cf. § 2.2 du rapport) ;
- contrairement aux importations depuis des pays tiers dans lesquels le risque rabique n'est pas maîtrisé, ces exigences n'incluent pas un titrage des anticorps antirabiques (cf. § 2.2 du rapport). Dans le cadre de la présente saisine, ce titrage est demandé par les enquêteurs français, à leur initiative, afin de vérifier si les exigences de validité de la vaccination ont été respectées ou non ;
- un titrage des anticorps antirabiques, lorsqu'il est exigé dans le cadre des échanges avec des pays tiers, est effectué au moins 30 jours après la vaccination, et vise à vérifier que l'animal est valablement protégé (titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL) contre la rage. En effet, un animal présentant un titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL a une probabilité très élevée de survivre à une contamination rabique ultérieure (cf. § 4.2 du rapport). En pratique, dans ce cadre, lorsqu'un animal présente un titre inférieur à 0,5 UI/mL, une nouvelle vaccination antirabique est réalisée, qui conduit très généralement à une augmentation du titre au-delà de 0,5 UI/mL comme le rapporte la littérature (cf. § 4.2 du rapport) ;
- de l'analyse bibliographique, il ressort qu'un titrage des anticorps antirabiques ne peut être interprété qu'à partir de données fiables concernant l'animal testé, *i.e.* son âge, la date de vaccination et le délai entre cette vaccination et la prise de sang. Or, dans le cadre des contrôles de chiots et chatons objets de la saisine, il existe un manque de fiabilité des données présentées sur les documents accompagnant les animaux ;
- il existe, en outre, pour un vaccin donné, une variabilité liée, d'une part, à la méthode de titrage par séroneutralisation (le titre calculé pouvant varier d'un laboratoire à l'autre) et, d'autre part, à la réponse de chaque individu à la vaccination antirabique (cf. § 4.3 du rapport) ;
- un titre en anticorps antirabiques, quel qu'il soit, ne permet pas de conclure sur l'âge d'un animal. En particulier les chiots très jeunes (à partir de quatre semaines) peuvent répondre à la vaccination antirabique ;
- un titre inférieur à 0,5 UI/mL n'exclut pas la réalisation effective d'une primovaccination antirabique, de même qu'un titre proche de 0,5 UI/mL (qu'il soit plus faible ou plus élevé) n'implique pas que le délai requis entre la vaccination et le mouvement de l'animal ait été respecté ;
- un titre en anticorps antirabique, quel qu'il soit, ne permet pas de prédire que la vaccination a bien été réalisée à partir de l'âge de 12 semaines et que le délai de 21 jours minimum entre la vaccination et le mouvement de l'animal vers la France a été respecté.

En conclusion, le titrage des anticorps antirabiques ne constitue pas un indicateur pertinent pour montrer le non-respect de la réglementation relative à la vaccination antirabique dans le cadre d'échanges commerciaux intracommunautaires de carnivores domestiques introduits en France.

**Par conséquent, les experts considèrent qu'aucun protocole d'échantillonnage des chiots ne permettrait, sur la base du titrage des anticorps neutralisants antirabiques, de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primovaccination à partir de l'âge de 12 semaines et délai de 21 jours minimum) a été, ou non, respecté.**

### 3.2.2. Question complémentaire

En théorie, il est possible de déterminer, par une méthode statistique (test binomial), le nombre minimum de chiots d'un lot testé dans sa totalité devant présenter un titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL pour que ce lot soit considéré concordant avec les populations de chiens issues de la littérature.

Toutefois, pour pouvoir faire une interprétation statistique, il faudrait que le lot analysé ait les mêmes caractéristiques en termes d'hétérogénéité que les populations issues de la littérature, et soient comparables en termes d'état sanitaire et d'influence de facteurs de stress.

Les caractéristiques des lots de chiots contrôlés par la BNEVP diffèrent des populations de chiens des quatre études retenues. En effet, ces lots contrôlés incluent des chiots, qui présentent fréquemment un état général plus ou moins altéré, sont non ou mal sevrés, éventuellement parasités, parfois malades, et stressés par des transports longs et récents (pour leur introduction en France, voire pour le transport de l'élevage à l'opérateur dans le pays d'origine). Les experts soulignent que l'état sanitaire des chiots est un élément majeur dans la mesure où, quelle que soit la pratique vaccinale, une altération de l'état sanitaire peut entraîner une difficulté d'interprétation des titrages. La réponse vaccinale peut être altérée à un niveau variable et non quantifiable. En outre, les modalités de constitution d'un lot n'auront pas d'influence sur ce facteur sanitaire. De plus, de même que la date de naissance, la date effective de la vaccination, lorsqu'elle a été réalisée, est incertaine. Ces facteurs contribuent à une réponse vaccinale possiblement moindre (cf. § 4.3.6 du rapport), à un niveau difficilement quantifiable.

En outre, dans les 17 lots de la BNEVP analysés, il existe régulièrement des grappes de chiots d'une même race et d'une même origine (exemples : fratrie, même élevage, élevages différents mais soumis à de mêmes pratiques, etc.), ce qui conduit à des répétitions qui influencent les résultats du test statistique, et ce d'autant plus que les lots sont de petite taille. Cela se retrouvera sans doute dans les lots contrôlés.

De plus, il existe un niveau d'incertitude élevé sur les caractéristiques du lot contrôlé du fait de la falsification de certains documents : en effet, certains chiots ne proviennent pas du pays d'origine mentionné sur les documents officiels les accompagnant. En outre, un même opérateur expéditeur pourra avoir des chiots de différentes origines (différents éleveurs, particuliers), de différents âges, et obtenus à des moments différents.

**Par conséquent, les populations étudiées dans la littérature et les populations de chiots contrôlées par la BNEVP ne sont pas comparables, de même que leurs pourcentages respectifs de titres en anticorps antirabiques. Il n'est donc pas possible de déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont inférieurs à 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie, liée ou non à la pratique vaccinale.**

Les experts notent que, dans l'hypothèse où une comparaison aurait été envisageable (chiots non stressés, tous en bonne santé, pas de fratrie, ni même éleveur dans le lot...), des résultats concordants n'auraient pas permis d'exclure une pratique frauduleuse (tels des chiots non vaccinés ou vaccinés sans respecter l'âge minimal de 12 semaines et/ou le délai de 21 jours avant introduction).

### 3.3. Incertitudes

Dans le cadre de la présente saisine, les incertitudes, impactant l'analyse des données transmises par la BNEVP, sont principalement associées à (1) la détermination de l'âge des chiots, qui ne peut être réalisée que sur la base d'indices concordants (aspect général et denture principalement) et sera fournie dans une fourchette variable en fonction de l'âge présumé de l'animal, et (2) l'interprétation du titre en anticorps antirabiques, liée essentiellement au manque de fiabilité de la date de vaccination, donc du délai entre vaccination et titrage des anticorps antirabiques, ainsi qu'à l'état sanitaire des animaux.

Il convient de souligner que **ces incertitudes n'impactent pas la réponse aux questions**. En effet, même si elles étaient levées, elles ne remettraient pas en cause la non pertinence du titre en anticorps antirabiques en tant qu'indicateur pour le protocole visant à montrer que les chiots importés ne respectent pas les exigences réglementaires vis-à-vis de la vaccination antirabique.

### **3.4. Conclusions du groupe de travail**

Dans le cadre d'échanges commerciaux intracommunautaires de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'UE vers la France, des lots de chiots (et quelques chatons) sont introduits chaque année en France. Lors de contrôles de ces lots, la BNEVP soupçonne un non-respect récurrent de la réglementation : des animaux n'auraient pas l'âge requis de 15 semaines minimum, et le protocole de vaccination antirabique ne serait pas respecté en dépit des attestations figurant sur les documents d'accompagnement des animaux (passeports).

Les données bibliographiques et les résultats de l'analyse des données de 17 lots contrôlés par la BNEVP ont conduit les experts à conclure que le titre des anticorps antirabiques ne constituait pas un indicateur pertinent pour (i) servir de base à l'élaboration d'un protocole destiné à montrer le non-respect de la réglementation et (ii) déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont inférieurs à 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie, liée ou non à la pratique vaccinale.

Les experts soulignent les points d'attention suivants :

- l'estimation de l'âge d'un chiot peut être réalisée, basée principalement sur l'aspect général et la denture. Elle donne une fourchette d'âge plus ou moins large selon l'individu. Si elle ne permet pas d'attester formellement qu'un chiot est âgé ou non de 15 semaines, elle conduit cependant à identifier d'emblée des animaux beaucoup plus jeunes. Le cas échéant, une deuxième expertise de l'âge quelques semaines après la première, lorsqu'elle est possible, peut permettre d'affiner cette estimation de l'âge et de confirmer que l'animal était trop jeune au moment de son importation.  
Malgré le caractère approximatif de cette estimation, ce critère mériterait d'être davantage pris en compte pour évaluer le respect ou non de la réglementation de la vaccination antirabique ;
- le GT rappelle l'importance du respect des dispositions de l'arrêté du 3 avril 2014 (Annexe I, chapitre IV, Soins aux animaux) imposant un contrôle de l'état sanitaire des animaux à leur réception dans l'établissement et son suivi, notamment durant la période d'isolement réglementaire. De plus, il convient de rappeler l'obligation de déclarer à la DDecPP toute suspicion de rage en cas de constatation de signes susceptibles d'être rapportés à cette maladie (art. R223-25 du Code rural et de la pêche maritime) et, en cas de décès de l'animal, une recherche de virus rabique devra être réalisée par un laboratoire agréé pour le diagnostic de la rage ;
- la santé et, plus largement, le bien-être des chiots importés, devraient également être pris en compte, notamment s'il s'agit d'animaux jugés trop jeunes. A ce titre, le règlement (CE) n°1/2005 relatif à la protection animale prévoit que les chiots et chatons ne puissent être transportés qu'à partir de l'âge de huit semaines (sauf s'ils sont accompagnés de leur mère) et que tous les animaux soient aptes au transport.

## **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du GT Rage relatives à l'interprétation des résultats de titrages des anticorps antirabiques chez des chiots faisant l'objet de mouvements commerciaux en provenance d'Etats membres de l'Union européenne vers la France.

Dr Roger Genet

---

**Demande d'avis relatif à l'interprétation des résultats  
de titrages des anticorps antirabiques  
chez des chiots faisant l'objet de mouvements  
commerciaux en provenance  
d'Etats membres de l'Union européenne vers la France**

---

Saisine 2018-SA-0035

**RAPPORT  
d'expertise collective complété\***

**CES SABA  
GT Rage**

**Mars 2020**

\*Annule et remplace le rapport de mars 2019, suivi des modifications en annexe 5

## Mots clés

---

Vaccination, rage, titrage, anticorps, chiot, mouvements  
Vaccination, rabies, titration, antibody, puppy, movements

## Présentation des intervenants

**PRÉAMBULE :** Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

### GROUPE DE TRAVAIL

---

#### Président

M. Jean-Pierre GANIERE – Retraité, Oniris-Nantes - infectiologie, rage, réglementation, vaccinologie

#### Membres

Mme Florence CLIQUET – Chef de l'unité Lyssavirus, Anses Nancy - rage animale, immunologie, vaccinologie

M. Jean-Claude DESFONTIS – Professeur, Oniris-Nantes - physiologie du chien

Mme Viviane HENAU – Chargée de recherche, Anses Lyon – épidémiologie quantitative, échantillonnage

Mme Nathalie RUVOEN – Professeur, Oniris-Nantes - vaccinologie, rage

### RAPPORTEURS

---

M. Claude GUINTARD – Professeur, Oniris-Nantes, anatomie du chien

Mme Emmanuelle ROBARDET – Chargée de projet, Laboratoire de Référence de l'Union Européenne de l'unité Lyssavirus – Anses Nancy

### COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

---

- CES SABA – Dates 13/11/2018, 19/02/2019 et 19/03/2019, 04/02/2020 et 03/03/2020

#### Président

M. Gilles MEYER – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccinologie, maladies des ruminants

#### Membres

Mme Catherine BELLOC – Professeur, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes - Infectiologie, approche intégrée de la santé animale, maladies des monogastriques.

M. Stéphane BERTAGNOLI – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccination, maladies des lagomorphes.

M. Alain BOISSY – Directeur de Recherche INRA Clermont-Ferrand – Theix - Bien-être animal

M. Henri-Jean BOULOUIS – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Bactériologie, diagnostic de laboratoire, immunologie, vaccinologie

M. Eric COLLIN – Vétérinaire libéral - médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies vectorielles, maladies à prion, épidémiologie, maladies des ruminants.

M. Jean-Claude DESFONTIS – Professeur Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes – Physiologie animale, bien-être animal, médicament vétérinaire

Mme Maria-Eleni FILIPPITZI – Vétérinaire épidémiologiste, SCIENSANO (B) – épidémiologie quantitative, évaluation de risque.



- M. David FRETIN – Chef du service zoonoses bactériennes des animaux de rente. SCIENSANO (B) - Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire
- Mme Emmanuelle GILOT-FROMONT – Professeur, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon – Epidémiologie quantitative, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques, maladies réglementées.
- M. Etienne GIRAUD – Chargé de recherche, INRA Toulouse – Bactériologie, antibiorésistance, maladies des poissons.
- M. Lionel GRISOT – Vétérinaire libéral - Médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies des ruminants.
- Mme Nadia HADDAD – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Infectiologie, maladies réglementées, zoonoses.
- Mme Viviane HENAU – Chargée d'activités de recherche, Anses Lyon – Epidémiologie quantitative, évaluation de risque.
- Mme Elsa JOURDAIN – Chargée de recherche, INRA Clermont-Ferrand - Theix - Zoonoses, épidémiologie, interface faune sauvage-animaux domestiques.
- Mme Sophie LE BOUQUIN – LE NEVEU – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Epidémiologie, Santé et Bien-Etre, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Epidémiologie, évaluation de risque, approche intégrée de la santé animale
- Mme Sophie LE PODER – Maître de conférences, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - virologie, immunologie, vaccinologie
- Mme Elodie MONCHATRE-LEROY – Directrice du Laboratoire de la rage et de la faune sauvage, Anses Nancy - Virologie, épidémiologie, évaluation de risques, faune sauvage
- Mme Monique L'HOSTIS – Retraitée, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes – Parasitologie, santé des abeilles.
- M. François MEURENS – Professeur, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes - Virologie, immunologie, vaccinologie, pathologie porcine.
- Mme Virginie MICHEL – Coordinatrice Nationale Bien-être Animal - Anses - Bien-être animal approche intégrée de la santé animale, épidémiologie, évaluation de risque.
- M. Pierre MORMEDE – Directeur de recherche émérite INRA - Bien-être animal, stress.
- M. Hervé MORVAN – Chef de service du laboratoire de bactériologie vétérinaire, Labocéa 22 - Bactériologie, diagnostic de laboratoire.
- Mme Carine PARAUD – Chargée de projet de recherche en parasitologie, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort – Parasitologie, maladies des ruminants.
- Mme Ariane PAYNE – Chargée d'étude, ONCFS - Epidémiologie, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques.
- M. Michel PEPIN – Professeur, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon – Infectiologie, immunologie, vaccinologie, maladies des ruminants.
- Mme Carole PEROZ – Maître de conférences, Oniris Ecole Vétérinaire de Nantes - Infectiologie, maladies réglementées, approche intégrée de la santé animale.
- Mme Claire PONSART – Chef de l'unité des zoonoses bactériennes, Laboratoire de Santé Animale, Anses Maisons-Alfort - Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire.
- M. Claude SAEGERMAN – Professeur, Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège - Epidémiologie, évaluation de risque.
- Mme Gaëlle SIMON – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Virologie Immunologie Porcines, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Virologie, immunologie, maladies des monogastriques.
- M. Jean-Pierre VAILLANCOURT – Professeur, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal - Epidémiologie, biosécurité, zoonose, évaluation de risque.

---

**PARTICIPATION ANSES**

---

**Coordination scientifique**

Mme Catherine COLLIGNON – Chef de projet scientifique – Anses

Mme Florence ETORE – Adjointe de l'unité UERSABA – Anses

**Contribution scientifique**

Mme Florence CLIQUET – Chef de l'unité Lyssavirus – Anses Nancy

Mme Emmanuelle ROBARDET – Chargée de projet, Laboratoire de Référence de l'Union Européenne de l'unité Lyssavirus – Anses Nancy

M. Jean-Luc SCHEREFFER – Technicien de l'unité Lyssavirus – Anses Nancy

**Secrétariat administratif**

M. Régis MOLINET – Anses

---

**AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES**

---

M. Franck VERGER – Technicien à la Brigade nationale d'enquête vétérinaire et phytosanitaire (BNEVP)

M. Pierre GOSSELIN – Vétérinaire

## SOMMAIRE

Présentation des intervenants.....	3
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions .....	9
Sigles et abréviations .....	16
Glossaire.....	16
Liste des tableaux.....	17
Liste des figures .....	17
<b>1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise.....</b>	<b>18</b>
1.1 Contexte.....	18
1.2 Objet de la saisine.....	18
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation .....	18
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts. ....	19
<b>2 Contexte : situation épidémiologique de la rage en Europe et aspects réglementaires.....</b>	<b>20</b>
2.1 Situation épidémiologique de la rage en Europe.....	20
2.2 Aspects règlementaires.....	21
<b>3 Détermination de l'âge des chiots .....</b>	<b>24</b>
3.1 Aspects anatomiques .....	24
3.1.1 Aspect général .....	24
3.1.2 Croissance pondérale .....	24
3.1.3 Denture .....	25
3.1.3.1 Examen de la denture .....	25
3.1.3.2 Radiographie dentaire .....	27
3.2 Paramètres physiologiques liés à l'âge chez le chien.....	27
3.3 Conclusion.....	27
<b>4 Vaccination et titrages des anticorps antirabiques : données bibliographiques .....</b>	<b>29</b>
4.1 Généralités sur la vaccination antirabique des chiens .....	29
4.2 Réponse immunitaire chez des populations de chiens de tous âges.....	29
4.2.1 Méthodes de dosage des anticorps antirabiques .....	29
4.2.2 Réponse humorale post-vaccinale .....	30
4.2.3 Interprétation du résultat d'un titre en anticorps antirabiques.....	31
4.3 Facteurs influençant la réponse immunitaire chez le chien .....	31
4.3.1 Réponse individuelle.....	31
4.3.2 Sexe .....	31
4.3.3 Taille - race .....	31
4.3.4 Age.....	32
4.3.5 Statut vaccinal (animal primovacciné <i>versus</i> animal vacciné à plusieurs reprises).....	32
4.3.6 Etat sanitaire .....	33
4.3.7 Vaccins utilisés .....	33

4.3.7.1	Différence entre vaccins antirabiques .....	33
4.3.7.2	Différence entre vaccins monovalents et multivalents .....	34
4.3.8	Délai entre la dernière injection vaccinale et la prise de sang .....	34
<b>4.4</b>	<b>Réponse immunitaire sur des populations de chiots.....</b>	<b>34</b>
4.4.1	Etudes expérimentales .....	34
4.4.2	Etude en conditions de « terrain » .....	35
<b>4.5</b>	<b>Conclusion.....</b>	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>Analyse des résultats de titrages des anticorps antirabiques réalisés sur les lots d'animaux contrôlés par la BNEVP .....</b>	<b>38</b>
<b>5.1</b>	<b>Contexte.....</b>	<b>38</b>
<b>5.2</b>	<b>Description des données .....</b>	<b>39</b>
5.2.1	Animaux .....	39
5.2.2	Vaccins utilisés .....	39
5.2.3	Titres en anticorps antirabiques.....	39
<b>5.3</b>	<b>Analyse des données .....</b>	<b>40</b>
5.3.1	Analyses univariées .....	40
5.3.1.1	Sur l'ensemble des animaux .....	40
5.3.1.2	Par lots d'animaux.....	41
5.3.2	Analyse multivariée.....	42
<b>5.4</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>42</b>
5.4.1	Interprétation des titres en anticorps antirabiques séroneutralisants .....	42
5.4.2	Population de chiens étudiés.....	43
<b>5.5</b>	<b>Conclusion.....</b>	<b>44</b>
<b>6</b>	<b>Réponse aux questions .....</b>	<b>46</b>
<b>6.1</b>	<b>Réponse à la question de la saisine.....</b>	<b>46</b>
<b>6.2</b>	<b>Réponse à la question complémentaire de la DGAL - BNEVP .....</b>	<b>47</b>
6.2.1	Préambule.....	47
6.2.2	Estimation de la proportion de chiens présentant des titres sérologiques $\geq 0,5$ UI/mL au sein de populations de chiens vaccinés .....	47
6.2.2.1	Recherche d'études d'intérêt dans la littérature .....	47
6.2.2.2	Proportion moyenne et écart-type de chiens ayant un titre $\geq 0,5$ UI/mL dans les études retenues dans la littérature .....	48
6.2.3	Réponse à la question complémentaire .....	49
<b>7</b>	<b>Incertitudes.....</b>	<b>50</b>
<b>8</b>	<b>Conclusions du groupe de travail.....</b>	<b>51</b>
<b>9</b>	<b>Bibliographie .....</b>	<b>52</b>
<b>9.1</b>	<b>Publications.....</b>	<b>52</b>
<b>9.2</b>	<b>Normes.....</b>	<b>55</b>
<b>9.3</b>	<b>Législation et réglementation .....</b>	<b>55</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>.....</b>	<b>57</b>

<b>Annexe 1 : Lettre de saisine .....</b>	<b>58</b>
<b>Annexe 2 : Modifications anatomiques et physiologiques du chien en croissance .....</b>	<b>60</b>
<b>Annexe 3 : Variabilité de la croissance pondérale du chien selon la race .....</b>	<b>66</b>
<b>Annexe 4 : Titres en anticorps antirabiques neutralisants de chiots vaccinés en Afrique du Sud (d'après Morders <i>et al.</i> (2015)) .....</b>	<b>68</b>
<b>Annexe 5 Suivi des modifications du rapport .....</b>	<b>69</b>
<b>Annexe 6 Question complémentaire .....</b>	<b>70</b>

## Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions

### 1 Contexte et modalités d'expertise

La réglementation relative aux échanges commerciaux de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'Union européenne (UE) vers la France précise notamment que la vaccination antirabique doit être réalisée, préalablement à ces échanges, selon les modalités suivantes : elle doit se faire à partir de l'âge de 12 semaines, et un délai de 21 jours minimum doit être respecté après l'injection pour qu'elle soit considérée comme valable. Selon l'article 5.a. de la directive 90/425, « l'autorité compétente peut, sur les lieux de destination des animaux ou des produits vérifier par des contrôles vétérinaires par sondage et de nature non discriminatoire, le respect des exigences de l'article 3 ; elle peut, à cette occasion, procéder à des prélèvements d'échantillons ».

La Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires (BNEVP) soupçonne un non-respect de la réglementation européenne concernant la vaccination antirabique dans le cadre de nombreux mouvements commerciaux. A partir des éléments recueillis lors d'enquêtes judiciaires pour lesquels des échantillons sanguins ont été prélevés, la BNEVP constate fréquemment que 30 à 70 % d'animaux présentent un titre en anticorps antirabiques neutralisants inférieur à 0,5 UI/mL, suggérant un non-respect du protocole vaccinal.

Selon les termes de la saisine, la BNEVP souhaiterait « disposer d'un protocole permettant, sur la base des résultats d'analyse, de déterminer la conformité ou non du statut des animaux composant le lot expédié au regard de la vaccination antirabique et permettant de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primo-vaccination à 12 semaines et délai de 21 jours) est respecté. Si un tel protocole était possible, il conviendrait de connaître (1) le nombre minimum d'animaux constituant un lot et le pourcentage de chiens à prélever dans un lot pour une meilleure interprétation des titrages sériques ; (2) à partir de quel pourcentage de chiots pour lesquels le titrage est inférieur à 0,5 UI/ml, il est possible de conclure au non-respect du protocole vaccinal. »

L'Anses a confié au groupe de travail (GT) « Rage », rattaché au comité d'experts spécialisé Santé et bien-être des animaux (CES « SABA »), l'instruction de cette saisine qui a été traitée en deux temps. Dans un premier temps, un appui scientifique et technique (AST) a été réalisé par le Laboratoire national de référence (LNR) Rage de l'Anses-Nancy, sur la base d'une recherche bibliographique et de l'interprétation des résultats de titrages des anticorps antirabiques réalisés sur les lots de chiots contrôlés par la BNEVP. Dans un second temps, une expertise collective a été réalisée, sur la base des données de l'AST, pour répondre à la question de la saisine. Les travaux du GT ont également porté sur la question de la détermination de l'âge d'un chiot, pour laquelle un rapporteur externe a été sollicité.

Suite à l'envoi à la BNEVP et à la DGAL de l'avis du 25 avril 2019 et du rapport du GT de mars 2019, le demandeur a posé une question complémentaire, portant « sur la possibilité ou non de déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont < 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie dont la recherche de l'origine, possiblement variée et présentée dans le rapport, reviendra à la BNEVP (ex : 35 % de titres < 0.5 UI/mL : probabilité X qu'il y ait une anomalie ; 40% de titres < 0.5 UI/mL : probabilité Y qu'il y ait une anomalie ; 50 % de titres < 0.5 UI/mL : probabilité Z qu'il y ait une anomalie quant au respect des procédures de la vaccination [injection vaccinale]) ». L'expertise collective a conduit à l'ajout d'une réponse complémentaire au paragraphe 6.2 du rapport complété du 3 mars 2020.

Les travaux d'expertise du GT ont été soumis régulièrement au CES SABA, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport complété produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES. Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

## 2 Argumentaire

### 2.1 Contexte : situation épidémiologique de la rage en Europe et aspects réglementaires

En Europe, la situation épidémiologique de la rage du Renard (*Vulpes vulpes*) et du Chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*), seuls réservoirs du virus rabique [RABV] sur ce continent, est satisfaisante. La majorité des pays d'Europe occidentale et centrale est indemne de rage selon les critères de l'OIE (Organisation mondiale de la santé animale), notamment l'Irlande, la Belgique, la République tchèque, les Pays Bas et la France, mentionnés dans les données de la BNEVP. La Bulgarie, la Slovaquie et la Hongrie sont des pays infectés de rage vulpine, les derniers cas ayant été rapportés en 2014, 2015 et 2017, respectivement. En 2017-2018, 14 cas de rage d'origine vulpine ont été rapportés en Roumanie, Pologne, Hongrie et Lituanie chez sept renards, deux chiens, deux chèvres, deux bovins et un chat.

D'un point de vue réglementaire, le respect des obligations détaillées dans le présent rapport (cf. § 2.2) fait qu'un carnivore domestique, dans le cadre des échanges commerciaux au sein de l'UE (sauf dérogation), ne peut être introduit sur le territoire français qu'à l'âge minimal de 15 semaines, accompagné d'un passeport attestant de son identification, réalisée à l'aide d'un transpondeur préalablement à sa vaccination antirabique effectuée au plus tôt à l'âge de 12 semaines.

Dans le cadre des échanges intracommunautaires, il n'est pas imposé d'épreuve de titrage des anticorps antirabiques.

### 2.2 Détermination de l'âge des chiots<sup>1</sup>

La BNEVP mentionne que « *l'apparence juvénile de ces animaux amène les enquêteurs à estimer que leur âge est inférieur à celui déclaré, et qu'ils ont donc été vaccinés à moins de 12 semaines* ». Des chiots n'auraient régulièrement pas les 15 semaines requises pour être introduits depuis d'autres Etats membres de l'UE. La question porte donc sur la détermination de l'âge des chiots.

Durant la croissance, les chiots subissent de nombreuses évolutions, tant du point de vue anatomique, morphologique (croissance osseuse, denture) que physiologique (maturation de différents organes, paramètres physiologiques, hématologiques, biochimiques). Ces différentes modifications ont lieu à des tranches d'âge déterminées, mais sont accompagnées d'une variabilité plus ou moins importante selon les critères considérés (de quelques jours à plusieurs semaines ou mois).

Dans le cadre de la saisine, la période d'âge à considérer concerne les chiots de moins de quatre mois, principalement ceux de deux à quatre mois. Les critères les plus pertinents pour donner une approximation de l'âge dans ce contexte sont la prise en compte conjointe de l'aspect général, du poids et de la denture des chiots. Cette estimation sera toutefois accompagnée d'une incertitude variable selon les cas. Les experts soulignent à ce titre que, lorsque la date de naissance d'un chiot n'est pas connue, l'âge de ce chiot ne pourra être qu'estimé par des indices concordants, mais en aucun cas une valeur précise ne pourra être donnée. Un second examen, pratiqué environ deux à quatre semaines après le premier (intervalle à moduler en fonction de la première estimation), permettra cependant, sur la base de l'évolution de la dentition, de valider ou non les premières estimations d'âge.

### 2.3 Vaccination et titrages des anticorps antirabiques : données bibliographiques

Il ressort de l'analyse des données bibliographiques réalisée dans le rapport (cf. § 4) que la vaccination contre la rage, administrée par voie parentérale, induit une réponse humorale se traduisant par une production sérique d'anticorps neutralisants dirigés contre le virus rabique. Chez les chiens primovaccinés, le pic d'anticorps antirabiques neutralisants est généralement atteint environ un mois après la première stimulation antigénique. Cette réponse humorale est

<sup>1</sup> Le terme « chiot » désigne les jeunes animaux avant la puberté



influencée par plusieurs facteurs, notamment une variabilité individuelle importante et le vaccin utilisé.

Les chiots peuvent présenter une réponse immunitaire à la vaccination antirabique dès l'âge de quatre semaines, en conditions expérimentales et de terrain. Chez des chiots issus d'une mère vaccinée, l'amplitude de la réponse sérologique peut être similaire ou inférieure à celle des chiots issus d'une mère non vaccinée.

En revanche, la production d'anticorps ne semble pas influencée par l'âge du chiot lors de la vaccination. Chez les animaux primovaccinés, l'observation d'un titre faible en anticorps antirabiques est généralement associée au délai entre la vaccination et la réalisation du titrage (titrage trop précoce ou trop tardif par rapport à la date de vaccination).

#### 2.4 Analyse des résultats de titrages antirabiques réalisés sur les lots d'animaux contrôlés par la BNEVP

Les données transmises à l'Anses relatives aux 17 lots (ou dossiers judiciaires) contrôlés par la BNEVP entre 2008 et 2018, incluent 946 animaux (937 chiens et neuf chats), parmi lesquels 645 animaux (639 chiots et six chats) ont un résultat sérologique (cf. § 5.2). Des analyses univariées et multivariées ont été réalisées sur cet échantillon de 645 animaux dans l'objectif, en réponse à la saisine, de rechercher une éventuelle relation entre les titres sérologiques et l'âge des animaux.

Différents paramètres ont été étudiés sur la population globale ayant un résultat sérologique et sur les différents lots d'animaux, afin de dégager des tendances qui permettraient de pouvoir répondre aux préoccupations de la BNEVP. Il convient de souligner que les interprétations sont assez limitées et certainement biaisées du fait de peu de données fiables dans les dossiers, en l'occurrence l'âge réel des animaux, et surtout la date de la vaccination. Toutes les études réalisées dans le domaine de la sérologie rage sur des animaux primovaccinés soulignent que le facteur déterminant pour interpréter les titres en anticorps de ces animaux est la prise en compte du délai entre la vaccination et la prise de sang. Un résultat de sérologie ne peut être interprété qu'à partir de données fiables (animal effectivement vacciné, connaissance de la date de la primo-vaccination, donc du délai entre la vaccination et la prise de sang, cf. § 4.2). En outre, les animaux d'un même lot n'ont pas tous le même historique sur les documents, et peuvent provenir de différents pays. Des différences parfois importantes entre la date de l'inspection, et donc de prélèvement, et la date de départ sont constatées dans la quasi-totalité des lots. Enfin, les données analysées n'ayant pas été collectées à des fins d'analyse statistique, elles sont de fait très hétérogènes. Il en résulte un manque d'ajustement du modèle aux données.

**Concernant les résultats des analyses univariées**, les résultats globaux des titres en anticorps antirabiques sur les 645 animaux testés montrent que 51 % d'entre eux ont produit une réponse immunitaire à un titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL, avec une variabilité des titres individuels importante. Ce résultat est très inférieur aux données de la littérature qui rapportent des pourcentages de l'ordre de 85 %, y compris chez des chiots âgés de moins de 12 semaines (cf. § 4.4). On peut considérer que ces chiens ayant un titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL ont été vaccinés et que la date de la prise de sang a été compatible avec la mise en évidence d'anticorps antirabiques. Cependant, le titre ainsi obtenu ne signifie pas que le délai minimal de 21 jours entre la vaccination et le titrage des anticorps a été respecté. Parmi les 49 % d'animaux ayant présenté un titre inférieur à 0,5 UI/mL, près de la moitié (répartis dans 15 lots) ont un titre proche de 0 UI/mL (inférieur à 0,1 UI/mL) et n'ont probablement pas été vaccinés, ou ils l'ont été à proximité du jour du départ. L'autre moitié des animaux présente des titres en anticorps compris entre 0,1 et 0,5 UI/mL, suggérant que ces animaux ont été vaccinés.

Aucun lot n'est complètement conforme réglementairement pour l'âge des chiots au moment de l'inspection. Les données analysées ont montré que la conformité d'âge à elle seule ne peut pas expliquer un résultat sérologique. Inversement, un titre en anticorps, qu'il soit supérieur ou inférieur à 0,5 UI/mL, ne permet pas de définir si un animal est conforme ou non en âge, ce constat étant également valable pour un lot d'animaux.

La grande hétérogénéité des titres observés pour un même pays, retrouvée sur plusieurs lots, montre qu'aucun pays ne peut être particulièrement visé par des contrôles. Les autres analyses, y compris celles des titres en anticorps en fonction des délais entre les dates de vaccination et de prise de sang et/ou entre dates de départ (dont on peut supposer qu'elle pourrait approximativement correspondre à une date de vaccination) et de prise de sang, ne permettent pas de dégager de tendance utilisable pour répondre à la saisine.

**Concernant les analyses multivariées**, des modèles intégrant toutes les combinaisons possibles parmi les variables explicatives testées ont été construits et comparés afin d'expliquer les valeurs des titres en anticorps antirabiques. L'âge du chien n'a pas pu être considéré compte-tenu de la non harmonisation du format de ces données dans les fichiers fournis. Le modèle sélectionné qui expliquait le mieux les données intégrait l'ensemble des variables présentées. Toutefois, il résulte de l'hétérogénéité et du manque de fiabilité des données, mentionnés ci-dessus, un manque d'ajustement des modèles aux données qui n'a pas permis d'obtenir des résultats exploitables.

**En conclusion**, les questionnements de la saisine se réfèrent à des lots, qui correspondent à des dossiers judiciaires et non à des groupes d'animaux réunis en fonction de critères scientifiques ou méthodologiques définis, ou à des animaux tirés au sort au sein d'une population. Les lots de la saisine ne sont pas homogènes, ils sont de taille variable et avec des animaux en provenance de différents pays. Par ailleurs, les lots comportent des animaux conformes et non conformes en âge (d'après les estimations des experts chargés d'examiner les chiots).

L'étude des 17 lots de carnivores domestiques théoriquement vaccinés contre la rage, en provenance de certains Etats membres et introduits en France, suggère une couverture vaccinale globalement insuffisante, avec une grande hétérogénéité selon les lots.

Les non conformités (non-respect de l'âge minimum à la vaccination et/ou non-respect de la période d'attente minimale de 21 jours après la vaccination) ne sont pas déductibles des résultats de sérologie, sauf lorsque, dans un lot, la totalité des animaux testés possède des titres proches du seuil de 0 UI/mL signifiant que les animaux n'ont pas été vaccinés. Le non-respect du délai de 21 jours peut expliquer l'obtention de titres inférieurs à 0,5 UI/mL, mais sans que ce soit la seule cause possible (animaux mauvais répondeurs...). Les résultats de sérologie ne permettent pas, qui plus est, sur de tels lots non homogènes dont les dates ne sont pas fiables (date de naissance et de vaccination en particulier), d'objectiver l'origine de la fraude, sauf s'il s'agit de détecter si des lots entiers de chiens sont complètement dépourvus d'anticorps.

Ainsi, un titre en anticorps, quel qu'il soit :

- ne permet pas de prédire qu'un animal est conforme ou non en âge,
- ne permet pas de prédire que la vaccination a été réalisée à l'âge minimal de 12 semaines et que le délai minimal de 21 jours entre la vaccination et la prise de sang a été respecté.

### 3 Réponse aux questions

#### 3.1 Question initiale de la saisine

Concernant la pertinence de réaliser un protocole permettant de déterminer la conformité ou non du statut des animaux composant le lot expédié, les experts soulignent les points suivants :

- la réglementation européenne prévoit que chaque chiot ou chaton soumis à des échanges commerciaux intracommunautaires ait fait l'objet d'une vaccination antirabique répondant aux exigences de validité énoncées à l'annexe III du règlement (UE) n° 576/2013 (cf. § 2.2 du rapport) ;
- contrairement aux importations depuis des pays tiers dans lesquels le risque rabique n'est pas maîtrisé, ces exigences n'incluent pas un titrage des anticorps antirabiques (cf. § 2.2 du rapport). Dans le cadre de la présente saisine, ce titrage est demandé par les enquêteurs français, à leur initiative, afin de vérifier si les exigences de validité de la vaccination ont été respectées ou non ;
- un titrage des anticorps antirabiques, lorsqu'il est exigé dans le cadre des échanges avec des pays tiers, est effectué au moins 30 jours après la vaccination, et vise à vérifier que l'animal est valablement protégé (titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL) contre la rage. En effet, un animal

présentant un titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL a une probabilité très élevée de survivre à une contamination rabique ultérieure (cf. § 4.2 du rapport). En pratique, dans ce cadre, lorsqu'un animal présente un titre inférieur à 0,5 UI/mL, une nouvelle vaccination antirabique est réalisée, qui conduit très généralement à une augmentation du titre au-delà de 0,5 UI/mL comme le rapporte la littérature (cf. § 4.2 du rapport) ;

- de l'analyse bibliographique, il ressort qu'un titrage des anticorps antirabiques ne peut être interprété qu'à partir de données fiables concernant l'animal testé, *i.e.* son âge, la date de vaccination et le délai entre cette vaccination et la prise de sang. Or, dans le cadre des contrôles de chiots et chatons objets de la saisine, il existe un manque de fiabilité des données présentées sur les documents accompagnant les animaux ;

- il existe, en outre, pour un vaccin donné, une variabilité liée, d'une part, à la méthode de titrage par séroneutralisation (le titre calculé pouvant varier d'un laboratoire à l'autre) et, d'autre part, à la réponse de chaque individu à la vaccination antirabique (cf. § 4.3 du rapport) ;

- un titre en anticorps antirabiques, quel qu'il soit, ne permet pas de conclure sur l'âge d'un animal. En particulier les chiots très jeunes (à partir de quatre semaines) peuvent répondre à la vaccination antirabique ;

- un titre inférieur à 0,5 UI/mL n'exclut pas la réalisation effective d'une primovaccination antirabique, de même qu'un titre proche de 0,5 UI/mL (qu'il soit plus faible ou plus élevé) n'implique pas que le délai requis entre la vaccination et le mouvement de l'animal ait été respecté ;

- un titre en anticorps antirabique, quel qu'il soit, ne permet pas de prédire que la vaccination a bien été réalisée à partir de l'âge de 12 semaines et que le délai de 21 jours minimum entre la vaccination et le mouvement de l'animal vers la France a été respecté.

En conclusion, le titrage des anticorps antirabiques ne constitue pas un indicateur pertinent pour montrer le non-respect de la réglementation relative à la vaccination antirabique dans le cadre d'échanges commerciaux intracommunautaires de carnivores domestiques introduits en France.

**Par conséquent, les experts considèrent qu'aucun protocole d'échantillonnage des chiots ne permettrait, sur la base du titrage des anticorps neutralisants antirabiques, de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primovaccination à partir de l'âge de 12 semaines et délai de 21 jours minimum) a été, ou non, respecté.**

### 3.2 Question complémentaire

En théorie, il est possible de déterminer, par une méthode statistique (test binomial), le nombre minimum de chiots d'un lot testé dans sa totalité devant présenter un titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL pour que ce lot soit considéré concordant avec les populations de chiens issues de la littérature.

Toutefois, pour pouvoir faire une interprétation statistique, il faudrait que le lot analysé ait les mêmes caractéristiques en termes d'hétérogénéité que les populations issues de la littérature, et soient comparables en termes d'état sanitaire et d'influence de facteurs de stress.

Les caractéristiques des lots de chiots contrôlés par la BNEVP diffèrent des populations de chiens des quatre études retenues. En effet, ces lots contrôlés incluent des chiots, qui présentent fréquemment un état général plus ou moins altéré, sont non ou mal sevrés, éventuellement parasités, parfois malades, et stressés par des transports longs et récents (pour leur introduction en France, voire pour le transport de l'élevage à l'opérateur dans le pays d'origine). Les experts soulignent que l'état sanitaire des chiots est un élément majeur dans la mesure où, quelle que soit la pratique vaccinale, une altération de l'état sanitaire peut entraîner une difficulté d'interprétation des titrages. La réponse vaccinale peut être altérée à un niveau variable et non quantifiable. En outre, les modalités de constitution d'un lot n'auront pas d'influence sur ce facteur sanitaire. De plus, de même que la date de naissance, la date effective de la vaccination, lorsqu'elle a été réalisée, est incertaine. Ces facteurs contribuent à une réponse vaccinale possiblement moindre (cf. § 4.3.6 du rapport), à un niveau difficilement quantifiable.

En outre, dans les 17 lots de la BNEVP analysés, il existe régulièrement des grappes de chiots d'une même race et d'une même origine (exemples : fratrie, même élevage, élevages différents mais soumis à de mêmes pratiques, etc.), ce qui conduit à des répétitions qui influencent les résultats du test statistique, et ce d'autant plus que les lots sont de petite taille. Cela se retrouvera sans doute dans les lots contrôlés.

De plus, il existe un niveau d'incertitude élevé sur les caractéristiques du lot contrôlé du fait de la falsification de certains documents : en effet, certains chiots ne proviennent pas du pays d'origine mentionné sur les documents officiels les accompagnant. En outre, un même opérateur expéditeur pourra avoir des chiots de différentes origines (différents éleveurs, particuliers), de différents âges, et obtenus à des moments différents.

**Par conséquent, les populations étudiées dans la littérature et les populations de chiots contrôlées par la BNEVP ne sont pas comparables, de même que leurs pourcentages respectifs de titres en anticorps antirabiques. Il n'est donc pas possible de déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont inférieurs à 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie, liée ou non à la pratique vaccinale.**

Les experts notent que, dans l'hypothèse où une comparaison aurait été envisageable (chiots non stressés, tous en bonne santé, pas de fratrie, ni même éleveur dans le lot...), des résultats concordants n'auraient pas permis d'exclure une pratique frauduleuse (tels des chiots non vaccinés ou vaccinés sans respecter l'âge minimal de 12 semaines et/ou le délai de 21 jours avant introduction).

#### 4 Incertitudes

Dans le cadre de la présente saisine, les incertitudes, impactant l'analyse des données transmises par la BNEVP, sont principalement associées à (1) la détermination de l'âge des chiots, qui ne peut être réalisée que sur la base d'indices concordants (aspect général et denture principalement) et sera fournie dans une fourchette variable en fonction de l'âge présumé de l'animal, et (2) l'interprétation du titre en anticorps antirabiques, liée essentiellement au manque de fiabilité de la date de vaccination, donc du délai entre vaccination et titrage des anticorps antirabiques, ainsi qu'à l'état sanitaire des animaux.

Il convient de souligner que **ces incertitudes n'impactent pas la réponse aux questions**. En effet, même si elles étaient levées, elles ne remettraient pas en cause la non pertinence du titre en anticorps antirabiques en tant qu'indicateur pour le protocole visant à montrer que les chiots importés ne respectent pas les exigences réglementaires vis-à-vis de la vaccination antirabique.

#### 5 Conclusions du groupe de travail

Dans le cadre d'échanges commerciaux intracommunautaires de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'UE vers la France, des lots de chiots (et quelques chatons) sont introduits chaque année en France. Lors de contrôles de ces lots, la BNEVP soupçonne un non-respect récurrent de la réglementation : des animaux n'auraient pas l'âge requis de 15 semaines minimum et le protocole de vaccination antirabique ne serait pas respecté en dépit des attestations figurant sur les documents d'accompagnement des animaux (passeports).

Les données bibliographiques et les résultats de l'analyse des données de 17 lots contrôlés par la BNEVP ont conduit les experts à conclure que le titre des anticorps antirabiques ne constituait pas un indicateur pertinent pour (i) servir de base à l'élaboration d'un protocole destiné à montrer le non-respect de la réglementation et (ii) déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont inférieurs à 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie, liée ou non à la pratique vaccinale.

Les experts soulignent les points d'attention suivants :

-l'estimation de l'âge d'un chiot peut être réalisée, basée principalement sur l'aspect général et la denture. Elle donne une fourchette d'âge plus ou moins large selon l'individu. Si elle ne permet pas d'attester formellement qu'un chiot est âgé ou non de 15 semaines, elle conduit cependant à identifier d'emblée des animaux beaucoup plus jeunes. Le cas échéant, une deuxième expertise

de l'âge quelques semaines après la première, lorsqu'elle est possible, peut permettre d'affiner cette estimation de l'âge et de confirmer que l'animal était trop jeune au moment de son importation.

Malgré le caractère approximatif de cette estimation, ce critère mériterait d'être davantage pris en compte pour évaluer le respect ou non de la réglementation de la vaccination antirabique ;

- le GT rappelle l'importance du respect des dispositions de l'arrêté du 3 avril 2014 (Annexe I, chapitre IV, Soins aux animaux) imposant un contrôle de l'état sanitaire des animaux à leur réception dans l'établissement et son suivi, notamment durant la période d'isolement réglementaire. De plus, il convient de rappeler l'obligation de déclarer à la DDecPP toute suspicion de rage en cas de constatation de signes susceptibles d'être rapportés à cette maladie (art. R223-25 du Code rural et de la pêche maritime) et, en cas de décès de l'animal, une recherche de virus rabique devra être réalisée par un laboratoire agréé pour le diagnostic de la rage ;

- la santé et, plus largement, le bien-être des chiots importés, devraient également être pris en compte, notamment s'il s'agit d'animaux jugés trop jeunes. A ce titre, le règlement (CE) n°1/2005 relatif à la protection animale prévoit que les chiots et chatons ne puissent être transportés qu'à partir de l'âge de huit semaines (sauf s'ils sont accompagnés de leur mère) et que tous les animaux soient aptes au transport.

## Sigles et abréviations

<b>BNEVP</b>	Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires
<b>EFSA</b>	European food safety authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immunosorbent assay (dosage immuno-enzymatique sur support solide)
<b>FAVN Test</b>	Fluorescent antibody virus neutralization test
<b>IC</b>	Intervalle de confiance
<b>LNR</b>	Laboratoire national de référence
<b>OIE</b>	Organisation internationale des épizooties (Organisation mondiale de la santé animale)
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>RCP</b>	Résumé des caractéristiques du produit
<b>RFFIT</b>	Rapid fluorescent focus inhibition test
<b>TRACES</b>	TRAde control and expert system
<b>UE</b>	Union européenne
<b>UI/mL</b>	Unité internationale par millilitre

## Glossaire

<b>Dentition</b>	Formation et éruption des dents
<b>Denture</b>	Ensemble des dents naturellement présentes à un instant donné
<b>Fidélité</b>	Étroitesse de l'accord entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées
<b>Répétabilité</b>	Fidélité dans les conditions de mesures suivantes : « conditions qui comprennent la même procédure de mesure, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps »
<b>Reproductibilité</b>	Fidélité dans les conditions de mesures suivantes : « conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires
<b>Vétérinaire habilité</b>	Vétérinaire autorisé par l'autorité compétente à effectuer certaines tâches spécifiques conformément au règlement (délivrance du passeport, vaccination rage par exemple)
<b>Vétérinaire officiel</b>	Vétérinaire désigné par autorité compétente



## Liste des tableaux

Tableau 1 Chronologie de l'éruption dentaire chez le chien (Guintard 2013).....	25
Tableau 2 Evolution dans le temps de la proportion de chiens primovaccinés avec deux vaccins monovalents différents (15 chiens par vaccin) présentant un titre en anticorps antirabiques égal ou supérieur à 0,5 UI/mL (d'après Minke <i>et al.</i> (2009)).....	33
Tableau 3 Comparaison des taux de séroconversion chez des chiots primovaccinés à différents âges (d'après Wallace <i>et al.</i> (2017)).....	36
Tableau 4 Répartition des titres en anticorps antirabiques et significations possibles .....	43
Tableau 5 Proportion moyenne et écart-type d'animaux ayant un titre en anticorps antirabiques $\geq 0,5$ UI/mL dans les quatre études retenues (chiens primovaccinés ou âgés de 12 à 16 semaines).....	48
Tableau 6 : Sources et types d'incertitudes .....	50
Tableau 7 Tranches d'âge pour l'épiphyse des principaux os du squelette selon différents auteurs .....	61

## Liste des figures

Figure 1 Situation épidémiologique de la rage dans l'Union européenne.....	21
Figure 2 Courbes de croissance pondérale moyennes de 12 races de chiens (n = 173) (Hawthorne <i>et al.</i> 2004) .....	24
Figure 3 Principales modifications de la denture d'un chiot entre deux et quatre mois .....	26
Figure 4 Cinétique d'anticorps antirabiques après primovaccination et rappels par voie parentérale* .....	30
Figure 5 Nombre d'animaux présentant un titre inférieur ou supérieur à 0,5 UI/mL en fonction du nombre d'injections vaccinales (Cliquet <i>et al.</i> 2003).....	33
Figure 6 Influence du type de vaccin (mono ou multivalent) sur la proportion d'animaux présentant un titre inférieur ou supérieur à 0,5 UI/mL chez (a) des chiens primovaccinés et (b) des chiens plurivaccinés (Cliquet <i>et al.</i> 2003).....	34
Figure 7 Pourcentages de chiots primovaccinés présentant des titres en anticorps antirabiques inférieurs à 0,5 UI/mL (trois groupes de chiots confondus) en fonction du temps écoulé entre la vaccination et la prise de sang (d'après Wallace <i>et al.</i> (2017)).....	36
Figure 8 Schéma chronologique du dispositif réglementaire et de l'inspection judiciaire (en italique sur fond strié sont indiquées les données fiables).....	38
Figure 9 Distribution des titres en anticorps antirabiques (UI/mL) chez 639 chiots (données BNEVP)*.....	40
Figure 10 Distribution des titres en anticorps antirabiques pour les lots 1 à 17 (sont représentées les médianes des titres, les quartiles et valeurs extrêmes) (données BNEVP)*.....	41
Figure 11 Evolution des compositions isotopiques en azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ) dans tous les tissus de couples mères-enfants (Homme) durant la période d'allaitement et de sevrage (Herrscher 2013) .....	62
Figure 12 Evolution de la température rectale de la naissance au sevrage (n=437) (Catteau 2014).....	63
Figure 13 Courbes de croissance pondérale médiane de l'ensemble de l'espèce canine et de différentes races (n = 4 159 chiots) (d'après Lecarpentier et Martinez (2017)) .....	66
Figure 14 Taux de croissance (en pourcentage du poids adulte) chez sept races de chiens (d'après Fiszdon et Kowalczyk (2009)) .....	67
Figure 15 Courbes de croissance pour deux races canines de la naissance à 60 jours (d'après Lecarpentier et Martinez (2017)).....	67



# 1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

## 1.1 Contexte

La réglementation relative aux échanges commerciaux de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'Union européenne (UE) vers la France précise notamment que la vaccination antirabique doit être réalisée, préalablement à ces échanges, selon les modalités suivantes : elle doit se faire à partir de l'âge de 12 semaines, et un délai minimal de 21 jours doit être respecté après l'injection pour qu'elle soit considérée comme valable. Selon l'article 5.a. de la directive 90/425, « l'autorité compétente peut, sur les lieux de destination des animaux ou des produits vérifier par des contrôles vétérinaires par sondage et de nature non discriminatoire, le respect des exigences de l'article 3 ; elle peut, à cette occasion, procéder à des prélèvements d'échantillons ».

La Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires (BNEVP) soupçonne que de nombreux échanges et introductions de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'UE vers la France sont réalisés sans respecter la réglementation européenne concernant la vaccination antirabique. A partir des éléments recueillis lors d'enquêtes judiciaires pour lesquels des échantillons sanguins ont été prélevés, la BNEVP constate fréquemment que 30 à 70 % d'animaux présentent un titre en anticorps antirabiques neutralisants inférieur à 0,5 UI/mL, suggérant un non-respect du protocole vaccinal. Des éléments d'enquête ont été étudiés en collaboration avec le Laboratoire de l'Anses à Nancy.

## 1.2 Objet de la saisine

Selon les termes de la saisine, la BNEVP souhaiterait « disposer d'un protocole permettant, sur la base des résultats d'analyse, de déterminer la conformité ou non du statut des animaux composant le lot expédié au regard de la vaccination antirabique et permettant de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primo-vaccination à 12 semaines et délai de 21 jours) est respecté.

Si un tel protocole était possible, il conviendrait de connaître :

- le nombre minimum d'animaux constituant un lot et le pourcentage de chiens à prélever dans un lot pour une meilleure interprétation des titrages sériques ;
- à partir de quel pourcentage de chiots pour lesquels le titrage est inférieur à 0,5 UI/ml, il est possible de conclure au non-respect du protocole vaccinal. »

## 1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail (GT) « Rage », rattaché au comité d'experts spécialisé « SABA » (Santé et bien-être des animaux) l'instruction de cette saisine, qui a été traitée en deux temps :

- dans un premier temps, un appui scientifique et technique (AST) a été réalisé par le Laboratoire national de référence (LNR) Rage de l'Anses-Nancy, sur la base d'une recherche bibliographique et de l'interprétation des résultats de titrages antirabiques réalisés sur les lots de chiots contrôlés par la BNEVP ;
- dans un second temps, une expertise collective a été réalisée, sur la base des données de l'AST, pour répondre à la question de la saisine. Les travaux du GT ont également porté sur la question de la détermination de l'âge d'un chiot. Un rapporteur externe a été sollicité sur cette question. Les experts se sont réunis les 6 septembre, 23 octobre, 16 novembre 2018, 13 janvier et 26 février 2019.

Les travaux d'expertise du GT ont été soumis au CES SABA, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques, les 13 novembre 2018 et 19 février 2019. Le rapport a été présenté au CES pour validation le 19 mars 2019. Le rapport produit par le GT en mars 2019 tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Suite à l'envoi à la DGAL - BNEVP de l'avis du 25 avril 2019 et du rapport du GT de mars 2019, le demandeur a, dans le cadre d'échanges par mail et lors d'une réunion de restitution le 16 octobre

2019, posé une question complémentaire, portant « *sur la possibilité ou non de déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont < 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie dont la recherche de l'origine, possiblement variée et présentée dans le rapport, reviendra à la BNEVP (ex : 35 % de titres < 0.5 UI/mL : probabilité X qu'il y ait une anomalie ; 40% de titres < 0.5 UI/mL : probabilité Y qu'il y ait une anomalie ; 50 % de titres < 0.5 UI/mL : probabilité Z qu'il y ait une anomalie quant au respect des procédures de la vaccination [injection vaccinale])* ». Les experts se sont réunis les 15 novembre, 11 décembre 2019 et 13 janvier 2020 pour discuter cette question. Les travaux d'expertise ont été soumis au CES SABA le 4 février 2020, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport d'expertise complété a été présenté au CES SABA pour validation le 3 mars 2020. Ce rapport tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES SABA.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

#### **1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.**

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'agence ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## 2 Contexte : situation épidémiologique de la rage en Europe et aspects réglementaires

### 2.1 Situation épidémiologique de la rage en Europe

La rage est une zoonose virale provoquant une encéphalomyélite aiguë qui peut affecter tous les mammifères, y compris l'être humain.

En Europe, le réservoir et vecteur principal de la rage (due au RABV) est le Renard roux (*Vulpes vulpes*). Le Chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) joue également un rôle épidémiologique important, notamment dans les pays d'Europe du Nord (OMS 2018). En l'absence de réservoir canin, les quelques cas de rage canine observés au cours des dernières années sont soit consécutifs à une contamination locale par les espèces précédentes, soit l'introduction d'un carnivore domestique introduit après avoir été contaminé dans un pays tiers infecté.

La situation épidémiologique de la rage du renard et du chien viverrin en Europe est depuis quelques années satisfaisante. En effet, la quasi-totalité des pays d'Europe de l'Ouest et d'Europe centrale, ainsi que ceux d'Europe du Nord, sont désormais indemnes de rage selon les critères de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (OIE 2017) (Figure 1). La méthode de lutte contre la rage vulpine utilisée, consistant à distribuer par voie aérienne des appâts vaccinaux oraux dans les zones infectées, s'est montrée très efficace. Aujourd'hui, seuls quelques pays de l'Union européenne (UE) (notamment la Roumanie et la Pologne) enregistrent quelques cas chaque année et sont encore impliqués dans des programmes nationaux de vaccination orale des renards cofinancés par l'UE<sup>2</sup>. La rage subsiste encore dans les pays limitrophes de l'UE (Ukraine, Biélorussie, Moldavie, Balkans, etc.) qui ne sont pas engagés dans des programmes de vaccination orale à grande échelle.

En 2017, six cas de rage d'origine vulpine (souches vulpines de RABV) ont été rapportés en Europe : deux cas (un chien et un bovin) en Roumanie, deux cas (un renard et un chat) en Pologne, et deux cas (deux chèvres) en Hongrie. En 2018, huit cas ont été enregistrés : trois cas (un chien, un bovin et un renard) en Roumanie, quatre cas (quatre renards) en Pologne et un cas (un renard) en Lituanie<sup>3</sup>.

Pour ce qui est de la situation épidémiologique des pays qui seront mentionnés dans ce rapport, l'Irlande, la Belgique, la République tchèque, les Pays Bas et la France sont des pays indemnes de rage depuis plusieurs années. La Bulgarie, la Slovaquie et la Hongrie sont des pays infectés de rage qui poursuivent les campagnes de vaccination orale des renards, deux fois par an, sur des surfaces limitées situées en bordure de pays infectés ou de pays n'ayant pas le statut de pays indemne. La Hongrie a détecté les derniers cas de rage vulpine en 2017, la Slovaquie en 2015 (cinq cas) et la Bulgarie a enregistré le dernier cas en 2014<sup>2</sup>. Pour ce dernier pays, il convient de souligner que la surveillance événementielle de la rage est estimée insuffisante (Robardet *et al.* 2014).

---

<sup>2</sup> [https://ec.europa.eu/food/funding/animal-health/national-veterinary-programmes\\_en](https://ec.europa.eu/food/funding/animal-health/national-veterinary-programmes_en)

<sup>3</sup> [https://ec.europa.eu/food/animals/animal-diseases/not-system\\_en](https://ec.europa.eu/food/animals/animal-diseases/not-system_en)

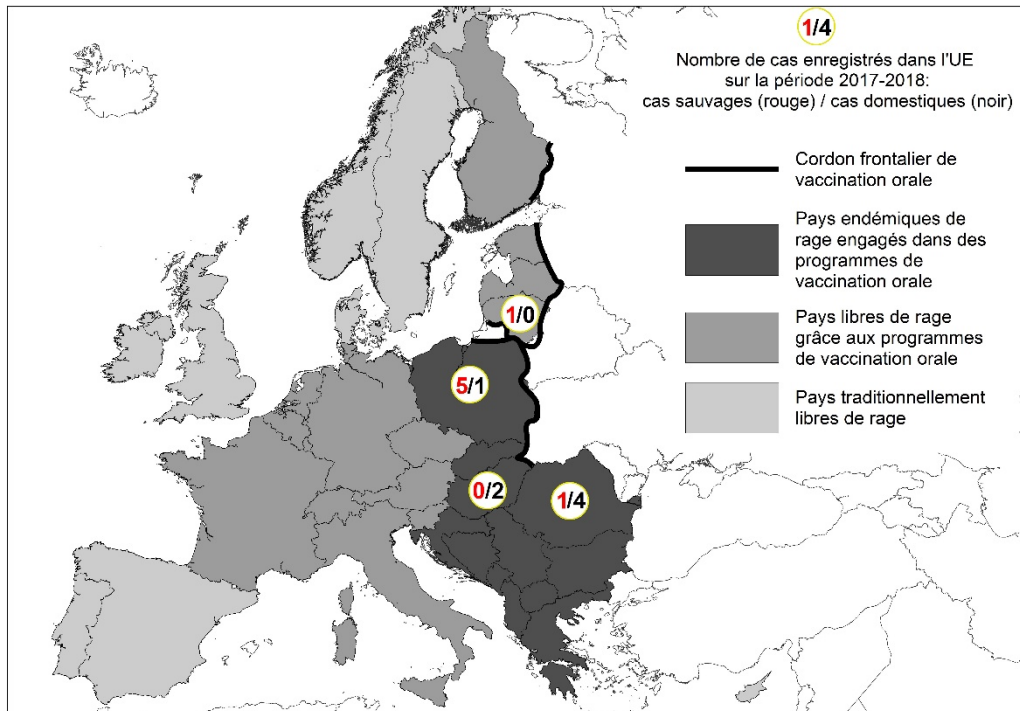


Figure 1 Situation épidémiologique de la rage dans l'Union européenne

## 2.2 Aspects réglementaires

En France, la rage est une maladie de première catégorie au sens de l'arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégories pour les espèces animales. Il s'agit d'une maladie à déclaration obligatoire auprès de l'OIE (OIE 2019).

Les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans l'UE de chiens, de chats et de furets figurent dans la directive 92/65/CEE (article 10, paragraphe 2) définissant les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans la Communauté d'animaux, de spermatozoïdes, d'ovules et d'embryons, modifiée par la directive 2013/31/UE. En ce qui concerne les carnivores domestiques, ces conditions renvoient aux conditions applicables aux mouvements non commerciaux d'animaux de compagnie énoncées dans le règlement (UE) n°576/2013 du Parlement européen et du Conseil du 12 juin 2013 abrogeant le règlement (CE) n°998/2003. La transposition de la directive 2013/31/UE et la définition des conditions d'application du règlement (UE) n°576/2013 sont transcrits dans l'arrêté du 9 décembre 2014 relatif aux conditions de police sanitaire régissant les échanges commerciaux et non commerciaux au sein de l'UE ainsi que les importations et mouvements non commerciaux en provenance d'un pays tiers de certains carnivores.

Ainsi, dans le cadre des mouvements commerciaux en provenance d'un autre Etat membre de l'UE, les carnivores domestiques destinés à être introduits ou à transiter sur le territoire français doivent satisfaire aux conditions suivantes :

- 1) répondre aux conditions de l'article 6 du règlement (UE) n°576/2013 susvisé, i.e. :
  - ils sont *identifiés* par l'implantation d'un transpondeur conforme à des exigences techniques (annexe II du règlement (UE) n°576/2013) (ou par un tatouage clairement lisible ayant été appliqué avant le 3 juillet 2011) ;
  - ils ont fait l'objet d'une *vaccination antirabique*. Cette vaccination doit être réalisée à l'aide d'un vaccin à virus inactivé (ou recombinant chez le chat) contenant au moins une unité antigénique par dose (recommandation de l'OMS). Ce vaccin doit avoir bénéficié d'une autorisation de mise sur le marché. Il est *administré par un vétérinaire habilité* sur un animal âgé d'au moins 12 semaines, et postérieurement à la date d'implantation du transpondeur. La période de validité de la vaccination débute au moment où l'immunité

protectrice est établie, soit 21 jours minimum après l'achèvement du protocole de vaccination défini par le fabricant du vaccin pour la vaccination primaire, et court jusqu'au terme de la durée de l'immunité protectrice, spécifiée dans l'autorisation de mise sur le marché ;

- ils *satisfont à toute mesure sanitaire de prévention de maladies ou d'infections autres que la rage* qui sont susceptibles de se propager du fait de leur déplacement ;
  - ils sont *accompagnés d'un document d'identification dûment complété, correspondant au passeport européen pour animal de compagnie*, dont le modèle figure à l'annexe III du règlement d'exécution (UE) n°577/2013 de la Commission. Le passeport est délivré et rempli par un vétérinaire habilité après avoir vérifié que l'animal était réglementairement identifié. Il contient plusieurs sections, en particulier :
    - ✓ les rubriques I à IV précisant, respectivement, les coordonnées du propriétaire de l'animal, la description de l'animal (notamment l'espèce, la race et la date de naissance déclarée par le propriétaire), le marquage de l'animal (notamment le code alphanumérique du transpondeur et sa date d'implantation ou de lecture) et les coordonnées du vétérinaire habilité ayant délivré le document ;
    - ✓ les rubriques V et VI relatives à la vaccination antirabique. Dans la rubrique V, le vétérinaire habilité notifie la vaccination qu'il a lui-même réalisée (date d'administration, vaccin utilisé et durée de validité). Il convient de souligner que l'information relative au titrage des anticorps antirabiques correspondant à la rubrique VI est requise uniquement quand l'animal rentre dans l'UE après un déplacement dans certains territoires ou pays tiers, et doit être renseignée par un vétérinaire habilité avant que l'animal ne quitte l'UE ;
    - ✓ la rubrique X, requise uniquement lorsque l'animal est accompagné d'un certificat sanitaire, porte sur l'examen clinique effectué par le vétérinaire habilité (voir ci-après) ;
- 2) avoir fait l'objet, dans les quarante-huit heures précédant l'heure d'expédition des animaux, d'un examen clinique réalisé par un vétérinaire habilité qui déclare que l'animal ne présente aucun signe de maladie et est apte à effectuer le voyage prévu ;
- 3) être accompagnés, durant le transport et jusqu'au lieu de destination, d'un certificat sanitaire, signé par un vétérinaire officiel attestant que le vétérinaire habilité a consigné, dans la rubrique X du passeport pour animal de compagnie, que l'examen clinique démontre qu'au moment dudit examen, les animaux étaient aptes à effectuer le voyage prévu conformément au règlement (CE) n°1/2005 du Conseil du 22 décembre 2004 relatif à la protection des animaux pendant le transport (transport commercial) et les opérations annexes. A ce titre, ne sont considérés comme aptes à être transportés que des *chiens et des chats âgés d'au moins huit semaines* (sauf lorsqu'ils sont accompagnés de leur mère) qui ne présentent aucune blessure, faiblesse physiologique ou état pathologique (annexe I chapitre I du règlement [CE] n°1/2005).

S'agissant de mouvements commerciaux, le déplacement des animaux doit en outre avoir fait l'objet, par les services vétérinaires, d'une notification sur le système TRACES.

Dans le cadre des échanges intracommunautaires, il n'est pas imposé d'épreuve de titrage des anticorps antirabiques. Ce titrage est en revanche obligatoire pour les mouvements commerciaux ou non commerciaux depuis un pays tiers autorisé, sauf si ce pays répond à certains critères permettant d'attester que la rage en est absente ou maîtrisée, et s'il est inscrit dans la liste établie en vertu du règlement (UE) n°576/2013, article 13, et figure à l'annexe II du règlement d'exécution (UE) n°577/2013. Le titrage doit être réalisé sur un échantillon sanguin prélevé au moins 30 jours après la vaccination antirabique. Il doit être réalisé par un laboratoire agréé (*cf.* décision 2000/258/CE article 3) selon une méthode de séroneutralisation figurant dans le manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE (OIE 2018). Un titre en anticorps séroneutralisants supérieur ou égal à 0,5 UI/mL doit être obtenu, et ce au moins trois mois avant

le mouvement depuis le pays tiers vers le territoire membre<sup>4</sup>. Un titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL est considéré comme positif (OMS 2018) et est associé à une forte probabilité que l'animal soit protégé contre la rage<sup>5</sup>. Il convient de souligner que le titrage n'est pas demandé après les rappels ultérieurs, à la seule condition que ces derniers aient été réalisés avant la fin de la période de validité de la vaccination antirabique (variable en fonction du vaccin utilisé et mentionnée dans le résumé des caractéristiques du produit – RCP).

Le respect des obligations réglementaires décrites ci-dessus fait qu'un carnivore domestique, dans le cadre des échanges commerciaux au sein de l'UE (sauf, sur dérogation, lorsque les animaux sont destinés à des recherches scientifiques), ne peut être introduit sur le territoire français qu'à l'âge minimal de 15 semaines, accompagné d'un passeport attestant de son identification réalisée préalablement à sa vaccination antirabique effectuée au plus tôt à l'âge de 12 semaines. Dans le cadre des échanges intracommunautaires, il n'est pas imposé d'épreuve de titrage des anticorps antirabiques.

---

<sup>4</sup> En provenance d'un pays tiers, si l'ensemble des conditions réglementaires est respecté, ne peuvent être importés que des carnivores de plus de sept mois (12 semaines + 30 jours + trois mois de quarantaine).

<sup>5</sup> Il faut noter toutefois que, selon l'arrêté du 9 août 2011, un carnivore domestique reconnu « contaminé » de rage, peut faire l'objet d'une dérogation à l'euthanasie seulement s'il est valablement vacciné et a reçu une vaccination de rappel dans un délai de quarante-huit heures suivant la réception de la validation définitive du diagnostic de la rage chez l'animal à l'origine de la contamination par les services en charge de la protection des populations.



### 3 Détermination de l'âge des chiots

Dans le contexte de la saisine, les chiots<sup>6</sup> introduits en France doivent règlementairement être âgés d'au moins 15 semaines (*i.e.* vaccination contre la rage à l'âge de 12 semaines minimum, puis délai de 21 jours minimum avant mouvement). Pourtant, la BNEVP mentionne que « *l'apparence juvénile de ces animaux amène les enquêteurs à estimer que leur âge est inférieur à celui déclaré, et qu'ils ont donc été vaccinés à moins de 12 semaines* », certains chiots semblant être âgés d'à peine deux mois. La question porte donc sur la détermination de l'âge des chiots dans une fourchette d'âge comprise entre deux et quatre mois. Pour y répondre, les modifications anatomiques, morphologiques et physiologiques lors de la croissance des chiots ont été examinées. Dans ce chapitre, seules les modifications d'intérêt pour estimer l'âge d'un chiot de deux à quatre mois sont présentées. Sont mentionnés en Annexe 2 les autres critères non utilisables pour cette détermination, soit parce qu'ils ne portent pas sur la tranche d'âge d'intérêt, soit parce qu'ils sont à un stade expérimental.

#### 3.1 Aspects anatomiques

##### 3.1.1 Aspect général

L'estimation de l'âge, sur la base de l'aspect général de l'animal, pour la tranche d'âge comprise entre deux et quatre mois, s'appuie sur différents critères, principalement la conformation générale, le tonus musculaire et la démarche. À huit semaines, l'aspect d'un chiot est encore très juvénile, pataud, alors que vers quatre mois, son aspect se rapproche davantage de celui d'un jeune adulte, surtout chez les chiens de petit et moyen formats. Ce critère ne permet cependant qu'une estimation très approximative de l'âge. Les autres critères (aspect du poil, de l'œil, descente testiculaire, ossification – *cf.* Annexe 2) ne sont pas pertinents pour cette tranche d'âge.

##### 3.1.2 Croissance pondérale

Le poids vif (en kg) de l'animal est une variable facile à mesurer qui renseigne sur la croissance du chien. Cependant, selon la race considérée, le poids à un âge donné varie avec des courbes de croissance très différentes (Figure 2 et Annexe 3).

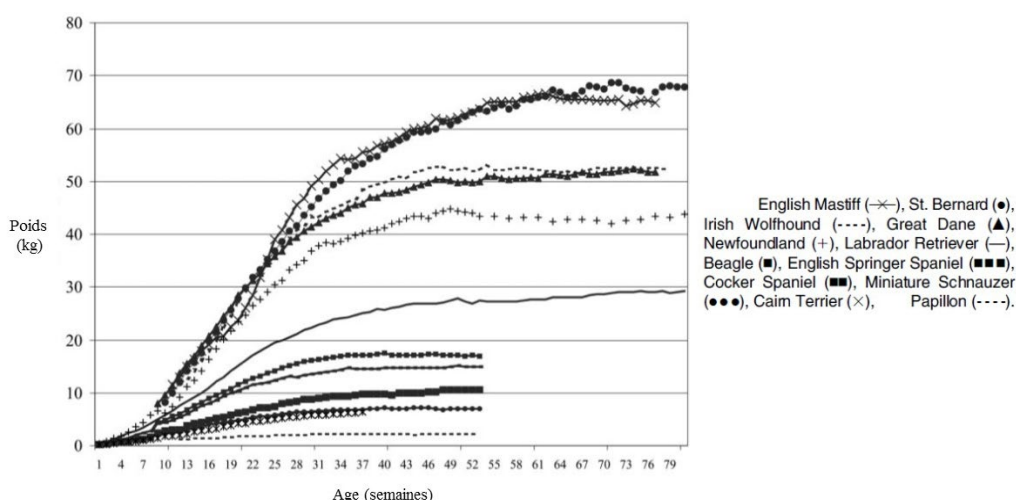


Figure 2 Courbes de croissance pondérale moyennes de 12 races de chiens (n = 173) (Hawthorne et al. 2004)

<sup>6</sup> Le terme « chiot » désigne les jeunes animaux avant la puberté



Compte tenu de ces importantes variations de poids des chiots, y compris au sein d'une même race, l'estimation de l'âge d'un chiot, sur la base de ce critère pondéral, est très aléatoire et peu informative. Pour une race donnée, et si la croissance du chiot n'est pas aux extrêmes de la population, ce critère pondéral peut être pris en compte comme un critère supplémentaire, mais jamais utilisé seul.

### 3.1.3 Denture

#### 3.1.3.1 Examen de la denture

Chez le chien, deux générations de dents se succèdent : les dents de lait (dents déciduales ou lactéales) et les dents adultes (ou dents définitives). Suivant l'âge du chien au moment d'un examen de sa denture, le sujet aura une denture lactéale (où toutes les dents sont des dents de lait), une denture mixte (associant des dents de lait et des dents définitives), ou une denture adulte (lorsque toutes les dents sont des dents définitives).

La formule dentaire du chiot comprend 28 dents soit, par demi-mâchoire, trois incisives (pince, mitoyenne et coin), une canine et trois prémolaires (Pm<sup>7</sup>). Chez l'adulte, elle comprend 42 dents : trois incisives, une canine, quatre prémolaires (PM) et deux molaires (M) supérieures ou trois molaires inférieures par demi-mâchoire. A l'âge de sept mois, toutes les dents sont définitives.

Une fois sorties, les dents vont s'user : l'usure des dents déciduales dure peu de temps (une dizaine de semaines) et est concomitante des phénomènes d'éruption des dents adultes, phénomènes plus caractéristiques d'un âge donné. Elle peut toutefois apporter des renseignements, une usure importante des incisives de lait étant en faveur d'un âge de trois mois et demi à quatre mois, alors qu'une usure peu prononcée évoque plutôt un animal âgé d'un à deux mois. Cependant, dans le cadre de la saisine, c'est la chronologie d'éruption des dents qu'il convient d'observer (Tableau 1).

Concernant la chronologie d'éruption des dents de lait, la canine de lait est la première dent à apparaître dans la bouche du chien, vers 21 jours. La chronologie d'éruption des incisives de lait est bien établie chez le chiot et varie très peu d'une race à l'autre. Elle a son rythme propre qui n'est en lien ni avec le sexe, ni avec la vitesse de croissance, ni avec la précocité sexuelle de l'animal. Selon les individus, la date d'éruption des dents de lait peut varier de quelques jours<sup>8</sup>. Généralement, les incisives de lait apparaissent entre trois et quatre semaines. La première prémolaire (Pm1) apparaît vers trois à quatre mois. Concernant la chronologie d'éruption des dents adultes, les canines adultes apparaissent entre quatre et six mois, après les incisives, en même temps que les prémolaires définitives. Les molaires apparaissent dans le sens M 1 à M 3 entre 4 et 6-7 mois.

**Tableau 1 Chronologie de l'éruption dentaire chez le chien (Guintard 2013)**

Age (fourchettes habituelles)	Dents	Remarques
21 jours (3 à 4 semaines)	Eruption canines de lait	
25 jours (3 à 4 semaines)	Eruption coins de lait	
28 jours (3 à 4 semaines)	Eruption mitoyennes de lait	Eruption des dents supérieures avant les inférieures
30 jours (3 à 4 semaines)	Eruption pinces de lait	
3 à 4 semaines	Eruption Pm 3 et Pm 4 de lait	
4 à 5 semaines	Eruption Pm 2 de lait	

<sup>7</sup> L'abréviation « Pm » correspond aux dents de lait, « PM » ou « M » aux dents définitives

<sup>8</sup> Pour les premières incisives à sortir (éruption des coins de lait), l'éruption varie peu dans le temps (+/-1 ou 2-3 jours), pour la mitoyenne la variation est de l'ordre de la semaine.

3 à 4 mois	Eruption Pm1 et début du remplacement des incisives de lait	Remplacement des incisives dans l'ordre pinces, moyennes, coins
4 mois	Eruption M 1 adulte	
5 mois	Toutes les incisives adultes sont sorties	
5 – 6 mois	Eruption M 2 inférieures adultes Eruption canines adultes Eruption M 2 supérieures, remplacement des Pm	Canine : 4 à 6 mois Dans l'ordre PM 4, PM 3, PM 2 (Pm 1 restera chez l'adulte)
6 à 7 mois	Eruption M 3	Le chien a toutes ses dents adultes = bouche faite.

Par conséquent, entre l'âge de deux et quatre mois, des modifications de la denture peuvent apporter des informations sur l'âge des chiots (Figure 3). Dans cette fourchette d'âge, les animaux n'ont pas de canine adulte. S'ils ont des dents de lait peu usées, ils sont dans la fourchette basse (vers deux mois). Si les incisives de lait sont très usées, les chiots s'approchent de trois à quatre mois. S'ils ont des incisives adultes (pinces), ils sont dans la fourchette haute (vers trois mois et demi - quatre mois), âge auquel la Pm1 doit apparaître. Si la pince et la mitoyenne adultes, ainsi que la Pm1 et la M1, sont présentes, les animaux ont plus de quatre mois. Normalement, la canine adulte apparaît légèrement plus tardivement. La confirmation par l'examen de la présence ou l'absence de la PM1, de la M1 ou de la mitoyenne adulte sont autant de critères à prendre en compte à cet âge. Les variations les plus communes sont de l'ordre de deux semaines, de sorte qu'à 15 semaines (presque quatre mois), la pince adulte peut ne pas être encore sortie. Dans ce cas, les incisives de lait apparaîtront très usées.

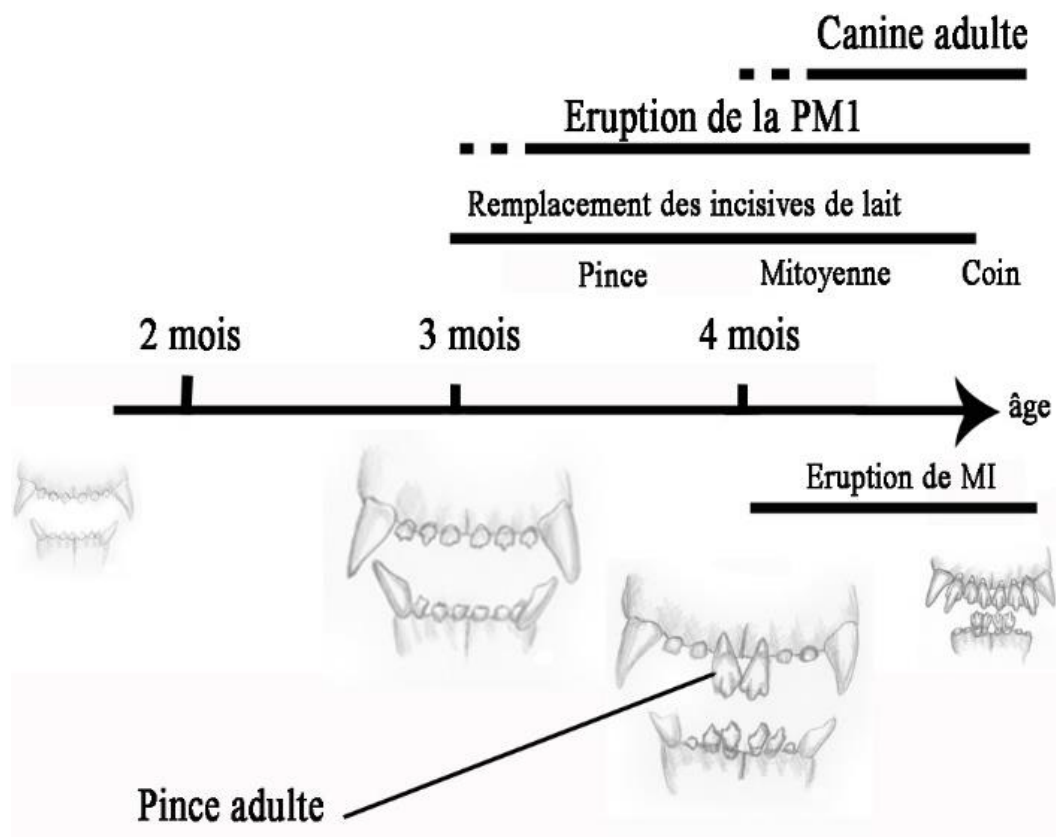


Figure 3 Principales modifications de la denture d'un chiot entre deux et quatre mois

Il peut être intéressant de procéder à un nouvel examen de la denture environ deux à quatre semaines après le premier examen (intervalle à moduler en fonction de la première estimation), et ainsi de lever les doutes éventuels lors du premier examen. Ce second examen n'apportera pas des fourchettes de variabilité différentes<sup>9</sup>, mais permettra de confirmer que le chiot était (ou non) dans la fourchette très basse d'âge, ou plus proche de trois mois par exemple lors du premier examen.

Par conséquent, l'examen de la denture permet d'estimer une fourchette d'âge dans laquelle se situe un chiot, avec une incertitude variable selon l'âge du chiot.

### 3.1.3.2 Radiographie dentaire

La réalisation d'une radiographie dentaire, même si elle constitue un examen plus lourd qu'un examen visuel de la denture, peut permettre, à l'âge de quatre mois, de s'assurer que la pince adulte (si elle n'est pas sortie) est bien formée dans la gencive et qu'elle n'est pas au stade du bourgeon dentaire. Dans ce dernier cas, l'animal est probablement plus jeune. Une radiographie dentaire peut permettre de visualiser, sous les dents de lait, les bourgeons calcifiés des dents définitives vers l'âge de 10 à 12 semaines (Hennet et Boutoille 2013). A la connaissance des experts, il n'existe pas de tables de radiographies des bourgeons dentaires chez le chien, affichant les fourchettes de variabilité, selon le stade du bourgeon. L'examen sera donc qualitatif et ne permettra que d'anticiper une éruption qui ne devrait plus tarder à quatre mois. Un second examen de la denture (comme indiqué précédemment) apportera le même type d'information.

## 3.2 Paramètres physiologiques liés à l'âge chez le chien

De nombreuses modifications d'ordre physiologique se produisent au cours du développement. Elles sont cependant peu documentées, avec des données souvent anciennes portant essentiellement sur des chiots de moins de huit semaines. Ne seront évoquées ici que les paramètres physiologiques qui évoluent durant les premiers mois de la vie du chien.

Les points essentiels qui caractérisent le développement physiologique sont la maturation de la fonctionnalité de certains organes (reins, foie), l'évolution des paramètres biologiques (hématologiques, biochimiques, température corporelle, pression artérielle, etc.), le sevrage alimentaire et le développement comportemental (cf. Annexe 2).

Certaines données sont bien connues chez le chiot : ainsi la température, les fréquences respiratoire et cardiaque sont légèrement plus élevées que chez l'adulte. Mais, l'importante variabilité observée entre les individus au sein d'une même race, entre races (Brenten *et al.* 2016), et d'une étude à l'autre ne permet pas de définir des valeurs fixes et reproductibles mois par mois utilisables pour une détermination précise de l'âge des chiots.

## 3.3 Conclusion

Durant la croissance, les chiots subissent de nombreuses évolutions tant du point de vue anatomique, morphologique (croissance osseuse, denture) que physiologique (maturation de différents organes, paramètres physiologiques, hématologiques, biochimiques). Ces différentes modifications ont lieu à des tranches d'âge déterminées, mais sont accompagnées d'une variabilité plus ou moins importante selon les critères considérés (de quelques jours à plusieurs semaines ou mois).

Dans le cadre de la saisine, la période d'âge à considérer concerne les chiots de moins de quatre mois, principalement ceux de deux à quatre mois, dans la mesure où, selon la BNEVP, les chiots n'auraient régulièrement pas les 15 semaines requises pour être importés depuis d'autres Etats

---

<sup>9</sup> Dans la mesure où le recrutement des chiots est très large et correspond à des animaux issus d'élevages très différents, la variabilité que l'on peut attendre dans l'éruption dentaire est celle de l'espèce canine dans son ensemble. Si les chiots proviennent tous du même élevage, voire de la même portée, les variabilités sont beaucoup moins importantes, de quelques jours seulement pour l'éruption de la pince de lait, d'une semaine maximum pour la mitoyenne et au plus d'une dizaine de jours pour le coin. L'éruption de la pince adulte démarre vers l'âge de trois mois – trois mois et demi. Dans tous les cas, plus on s'éloigne de la naissance, plus les fourchettes de temps augmentent.

membres de l'UE. Les critères les plus pertinents pour donner une approximation de l'âge dans ce contexte sont la prise en compte conjointe de l'aspect général, le poids et la denture des chiots. Cette estimation sera toutefois accompagnée d'une incertitude variable selon les cas. Les experts soulignent à ce titre que, lorsque la date de naissance d'un chiot n'est pas connue, l'âge de ce chiot ne pourra être qu'estimé par des indices concordants mais en aucun cas une valeur précise ne pourra être donnée. Un second examen, pratiqué environ deux à quatre semaines après le premier (intervalle modulable en fonction de la première estimation), permettra cependant, sur la base de l'évolution de la dentition, de valider ou non les premières estimations d'âge.

## 4 Vaccination et titrages des anticorps antirabiques : données bibliographiques

Le laboratoire de la rage et de la faune sauvage de l'Anses à Nancy assure une veille régulière des publications et informations relatives à la rage. Par ailleurs, plusieurs documents de l'OMS, de l'OIE, de l'UE et de l'EFSA (European Food Safety Authority) ont été consultés pour la recherche d'éléments sur la vaccination antirabique des chiens. L'ensemble de ces sources bibliographiques a été utilisé pour la rédaction du présent chapitre.

### 4.1 Généralités sur la vaccination antirabique des chiens

La vaccination contre la rage n'est pas obligatoire en France métropolitaine en raison de son statut indemne (selon les critères de l'OIE), sauf pour les chiens susceptibles d'être dangereux de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> catégorie (loi du 6 janvier 1999) et, dans certaines conditions, pour les carnivores domestiques faisant l'objet de mouvements, commerciaux ou non, entre Etats membres ou introduits depuis des pays tiers (cf. § 2.2).

Les vaccins antirabiques utilisés en Europe pour le chien sont des vaccins à virus inactivés, adjuvés ou non, administrés sous forme monovalente ou multivalente<sup>10</sup>, et contenant au moins une unité antigénique par dose. Ils peuvent être administrés, selon le cas, par voie intramusculaire ou sous cutanée. Ils sont produits à partir de virus rabique (RABV) produit sur culture cellulaire (cellules primaires ou lignées continues). Les vaccins disponibles diffèrent en termes de fabrication (selon la souche virale utilisée et les caractéristiques du substrat cellulaire choisi pour sa production) et de valeur antigénique (selon le nombre d'unités antigéniques par dose). Selon les vaccins, et selon la législation en vigueur dans les différents pays, la durée d'immunité indiquée par les producteurs varie d'un à trois ans.

### 4.2 Réponse immunitaire chez des populations de chiens de tous âges

La vaccination antirabique des carnivores domestiques induit une réponse immunitaire humorale se traduisant par la production d'anticorps sériques neutralisant le virus rabique (Aubert 1993), ainsi qu'une réponse à médiation cellulaire. Il n'existe pas de test utilisable en pratique pour mesurer la réponse à médiation cellulaire, conditionnant l'appréciation de la réponse vaccinale à la seule recherche des anticorps antirabiques.

#### 4.2.1 Méthodes de dosage des anticorps antirabiques

Les anticorps antirabiques peuvent être dosés par différentes méthodes sérologiques, soit des méthodes de séroneutralisation, dont le test FAVN et le RFFIT, soit des tests ELISA. Le test FAVN est la méthode de référence recommandée par l'OIE et décrite dans le manuel OIE (OIE 2018). Il a été développé en 1998 (Cliquet, Aubert et Sagne 1998) dans le but d'améliorer les performances de l'unique test référencé (le RFFIT), en particulier pour faciliter la lecture de la fluorescence (ce qui induit une meilleure reproductibilité et une meilleure répétabilité), et pour améliorer la spécificité et la sensibilité. Cette technique est aujourd'hui utilisée par 86 % des quelque 80 laboratoires mondiaux agréés pour la sérologie rage par la Commission européenne dans le cadre des échanges internationaux. Ce test étant reconnu par l'OIE et l'OMS, il est très largement utilisé pour le titrage des anticorps antirabiques chez l'animal (carnivores domestiques et sauvages) et l'Homme. Sa spécificité est de 100 %. Sa sensibilité, testée en comparaison avec le RFFIT, est également très satisfaisante, démontrant notamment un très faible « bruit de fond », d'où une meilleure discrimination entre les animaux vaccinés présentant des faibles titres en anticorps par rapport aux animaux naïfs (Cliquet, Aubert et Sagne 1998). La reproductibilité montre que, pour des sérums autour du seuil de 0,5 UI/mL, selon les laboratoires, les résultats peuvent être positifs ou légèrement

---

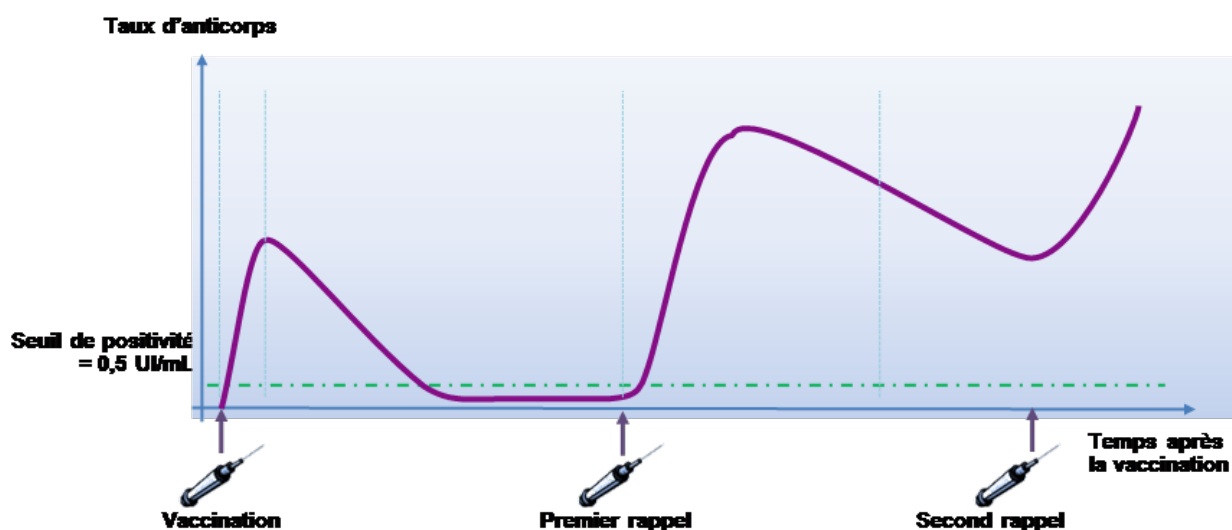
<sup>10</sup> Certains vaccins peuvent inclure plusieurs valences associées à la rage : maladie de Carré, hépatite de Rubarth, parvovirose et leptospirose

en dessous du seuil (Cliquet communication personnelle). Il convient de noter que les techniques actuelles utilisées en sérologie ne permettent pas de différencier les anticorps séroneutralisants produits par un animal vacciné de ceux éventuellement produits par un animal (vacciné ou non) en fin d'incubation de rage (Aubert 1993, OMS 2018).

#### 4.2.2 Réponse humorale post-vaccinale

Suite à une primovaccination (première stimulation antigénique), la réponse humorale à la vaccination antirabique par voie parentérale chez un carnivore suit un profil classique : la courbe de production d'anticorps commence par une phase de latence, suivie d'une phase ascendante, puis un plateau et une décroissance. Pendant la phase ascendante, le titre en anticorps dépasse généralement le seuil de 0,5 UI/mL rapidement, pour atteindre un pic de séroconversion, puis ce titre chute en quelques semaines à quelques mois à des valeurs proches ou en dessous du seuil de 0,5 UI/mL (cf. Figure 4). Le pic en anticorps séroneutralisants est atteint environ un mois après la primovaccination (Barth, Gruschkau et Jaeger 1985, Sugiyama *et al.* 1997). Il faut souligner toutefois que, selon le RCP de certains vaccins (vaccins multivalents en particulier), le titre en anticorps peut être inférieur à 0,5 UI/mL bien que les animaux soient considérés comme protégés sur la base des épreuves virulentes réalisées dans le cadre du contrôle d'efficacité exigé par la pharmacopée. Le vétérinaire peut alors envisager de renouveler l'injection vaccinale pour permettre à l'animal d'atteindre le seuil réglementaire de 0,5 UI/mL exigé pour certains déplacements.

Le premier rappel, réalisé un an après primovaccination pour la majorité des vaccins disponibles, provoque une réponse anamnésique<sup>11</sup> forte et rapide, avec production d'anticorps qui persistent à des titres supérieurs à 0,5 UI/mL chez la majorité des animaux immunocompétents. Selon le vaccin, les rappels ultérieurs sont préconisés à intervalles d'un à trois ans. Ces rappels sont nécessaires pour maintenir les anticorps à un niveau satisfaisant.



**Figure 4 Cinétique d'anticorps antirabiques après primovaccination et rappels par voie parentérale\***

\*le pic après primovaccination se situe environ un mois après l'injection

Selon l'OMS et l'OIE, un animal vacciné et présentant un titre en anticorps supérieur ou égal à 0,5 UI/mL a une probabilité très élevée de survivre à une contamination rabique ultérieure, et cela même si le titre en anticorps est repassé en dessous de 0,5 UI/mL, voire est devenu nul ou proche

<sup>11</sup> Réaction immunitaire secondaire observée après une nouvelle inoculation de l'antigène, plus rapide, plus intense et plus spécifique que la réaction immunitaire primaire, et qui est liée à l'existence d'une mémoire immunologique



de 0 au moment de cette contamination. Par conséquent, la détermination du titre en anticorps neutralisants produits en réponse à la vaccination contre la rage environ un mois après la primovaccination est considérée comme la plus pratique des méthodes pour prédire la protection contre une infection rabique (Aubert 1993). Afin de vérifier la présence d'un titre supérieur à 0,5 UI/mL chez un animal primovacciné, il convient donc de procéder à une prise de sang à la période la plus propice, c'est-à-dire environ un mois après la primovaccination.

#### 4.2.3 Interprétation du résultat d'un titre en anticorps antirabiques

Les experts soulignent qu'**un résultat de sérologie seul, mesuré à un temps donné, ne peut être interprété que dans le cas d'un animal effectivement vacciné, dont on connaît la date exacte de la (primo)vaccination, donc le délai entre cette dernière et la prise de sang.**

Dans le cadre de la présente saisine :

- **si l'animal présente un titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL**, il a été vacciné. Cependant, cela ne permet pas de déduire ou de prédire l'âge auquel l'animal a été vacciné, ni le délai entre la vaccination et la prise de sang pour le titrage ;
- **si l'animal présente un titre inférieur à 0,5 UI/mL**, plusieurs situations peuvent être envisagées :
  - l'animal a été vacciné mais le titre en anticorps est repassé en dessous de 0,5 UI/mL au moment où la prise de sang est réalisée ;
  - l'animal a été vacciné mais n'a pas encore produit suffisamment d'anticorps au moment où la prise de sang est réalisée (phase de latence de quelques jours) ;
  - l'animal est immunodéprimé ou faible répondeur.

En outre, **dans le cas où ce titre est proche de 0 (inférieur à 0,1 UI/mL)**, l'animal a pu ne pas être vacciné, la réaction observée pouvant résulter du bruit de fond précédemment évoqué.

### 4.3 Facteurs influençant la réponse immunitaire chez le chien

La réponse immunitaire humorale a fait l'objet de plusieurs études expérimentales et épidémiologiques, dans des conditions de laboratoire (le plus souvent pour évaluer les performances des vaccins antirabiques) et dans des conditions de terrain. Ces études décrivent, généralement de façon rétrospective, les résultats sérologiques obtenus en analysant les facteurs qui peuvent influencer la réponse immunitaire. La plupart du temps, les travaux publiés concernent des cohortes de chiens de « terrain » de tous âges vaccinés selon les instructions d'utilisation des vaccins préconisées par les producteurs, c'est-à-dire une vaccination antirabique à partir de l'âge de 12 semaines. Certaines études ont été réalisées sur des chiens de laboratoire, réputés être de meilleurs répondeurs. Les paragraphes ci-dessous présentent de façon synthétique les facteurs étudiés susceptibles d'influer ou non sur la réponse immunitaire des chiens suite à la vaccination antirabique par voie parentérale.

#### 4.3.1 Réponse individuelle

Les titres en anticorps produits suite à la vaccination antirabique présentent de grandes variations individuelles, certains chiens pouvant atteindre des valeurs de plus de 100 UI/mL (Aubert 1993, Cliquet *et al.* 2003, Seghaier *et al.* 1999), et d'autres ayant des titres inférieurs à 0,5 UI/mL, voire nuls, comme précisé dans le RCP de certains vaccins.

#### 4.3.2 Sexe

La réponse immunitaire de type humoral suite à la vaccination antirabique par voie injectable est équivalente chez les deux sexes, qu'il s'agisse de l'amplitude de la réponse, de la valeur des titres en anticorps spécifiques ou des taux de séroconversion (Berndtsson *et al.* 2011, Kennedy *et al.* 2007, Mansfield *et al.* 2004, Wallace *et al.* 2017).

#### 4.3.3 Taille - race

Plusieurs études montrent une corrélation inverse entre la taille de l'animal et les titres en anticorps antirabiques, les chiens de petite taille produisant des titres en anticorps plus élevés (Kennedy *et al.*



2007, Mansfield *et al.* 2004). Une autre étude montre qu'à partir de la deuxième vaccination, cette différence diminue (Berndtsson *et al.* 2011). Plusieurs hypothèses ont été émises, telle la loi dose-effet, mais aucune n'est à ce jour confirmée.

Par ailleurs, des analyses ont montré que les chiens de race pure produisaient des titres en anticorps plus bas que les chiens de race mixte de façon statistiquement plus fréquente (Berndtsson *et al.* 2011, Rota Nodari *et al.* 2017, Wallace *et al.* 2017).

#### 4.3.4 Age

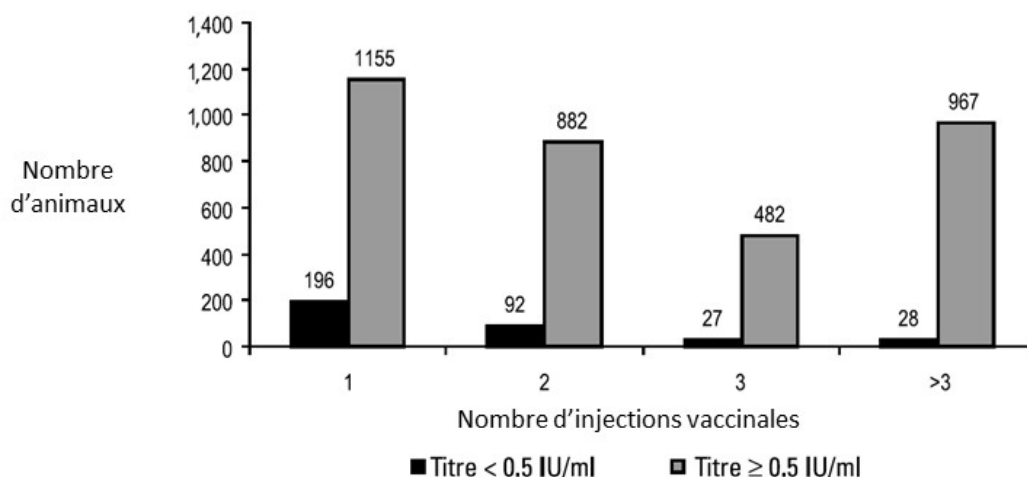
Les jeunes animaux de moins d'un an (Mansfield *et al.* 2004, Tasioudi *et al.* 2018), ainsi que les chiens de plus de sept ans, semblent produire des anticorps à des titres plus faibles que ceux de la classe un-trois ans (EFSA 2006, Kennedy *et al.* 2007).

En revanche, une étude a été réalisée sur des chiens de différentes classes d'âge (un groupe de 3-6 mois, un groupe à 6-12 mois et un autre groupe de plus de 12 mois), tous vaccinés dans les mêmes conditions. Les auteurs ont montré que les moyennes géométriques des titres en anticorps n'étaient significativement pas différentes entre les trois groupes de chiens, sur des prélèvements réalisés à J0 (jour de la vaccination), J14, J30, J60, J180 et J360 après la vaccination (Tepsumethanon *et al.* 1991).

#### 4.3.5 Statut vaccinal (animal primovacciné versus animal vacciné à plusieurs reprises)

Les chiens vaccinés à plusieurs reprises contre la rage produisent des titres en anticorps plus fréquemment au-dessus de 0,5 UI/mL que ceux vaccinés pour la première fois (Cliquet *et al.* 2003, Mansfield *et al.* 2004, Sage *et al.* 1993, Sihvonen *et al.* 1995, Tepsumethanon *et al.* 1991). Parmi les études citées, Cliquet *et al.* (2003) ont montré que 14,5 % des chiens primovaccinés (dans un effectif total de 1 351 chiens) présentaient un titre en anticorps inférieur à 0,5 UI/mL, et que cette proportion diminuait à 9,4 %, 5,3 % et 2,8 % pour une, deux, trois, et plus de trois injections vaccinales, respectivement. La Figure 5 représente le nombre d'individus présentant un titre inférieur ou supérieur à 0,5 en fonction du nombre d'injections de vaccins. Les chiens ayant été vaccinés deux fois ou plus (à un an d'intervalle) présentent des titres significativement plus élevés que les chiens primovaccinés. Après deux injections, la différence entre ces pourcentages n'est plus significative

Il est à noter que la différence entre les taux de séroconversion observés chez les chiens primovaccinés et ceux vaccinés deux fois à un an d'intervalle ne peut pas s'expliquer par une différence d'âge entre les chiens des deux groupes. En effet, les moyennes d'âge des chiens appartenant à ces deux populations ne sont pas statistiquement différentes. De plus l'âge moyen des chiens primovaccinés ayant présenté des titres inférieurs à 0,5 UI/mL n'est pas statistiquement différent de celui des chiens primovaccinés ayant présenté des titres supérieurs à 0,5 UI/mL (Cliquet *et al.* 2003).



**Figure 5** Nombre d'animaux présentant un titre inférieur ou supérieur à 0,5 UI/mL en fonction du nombre d'injections vaccinales (Cliquet *et al.* 2003)

#### 4.3.6 Etat sanitaire

De nombreux facteurs propres à l'individu peuvent également entraîner une réponse immunitaire faible malgré une vaccination correcte : stress, parasitisme, carence alimentaire ou malnutrition, défaillance du système immunitaire, affections intercurrentes, *etc.* (Aubert 1993, Dionigi *et al.* 1977, Haddad *et al.* 1987, Kruth et Ellis 1998, Mojžišová *et al.* 2007, Sykes 2010). Par exemple, Mojžišová *et al.* (2007) ont observé, chez des chiots infestés par *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* et *Trichuris vulpis*, parasites cosmopolites, des titres en anticorps antirabiques très faibles, sept et 28 jours après vaccination.

#### 4.3.7 Vaccins utilisés

##### 4.3.7.1 **Différence entre vaccins antirabiques**

L'influence d'un effet vaccin sur la réponse en anticorps est illustrée par une étude comparant les effets de deux vaccins monovalents adjuvés (Rabisin® et Nobivac® Rage) administrés en primovaccination à deux groupes de chiens de laboratoire (15 chiens par groupe). Les résultats (Tableau 2) indiquent que les titres en anticorps ainsi que leur cinétique sur quatre mois présentent des différences significatives entre les deux vaccins (Minke *et al.* 2009). Plusieurs autres études relèvent des différences entre les titres obtenus selon les vaccins monovalents utilisés (Berndtsson *et al.* 2011, Kennedy *et al.* 2007, Mansfield *et al.* 2004) et soulignent que cet effet vaccin n'existe plus après un rappel vaccinal (Mansfield *et al.* 2004).

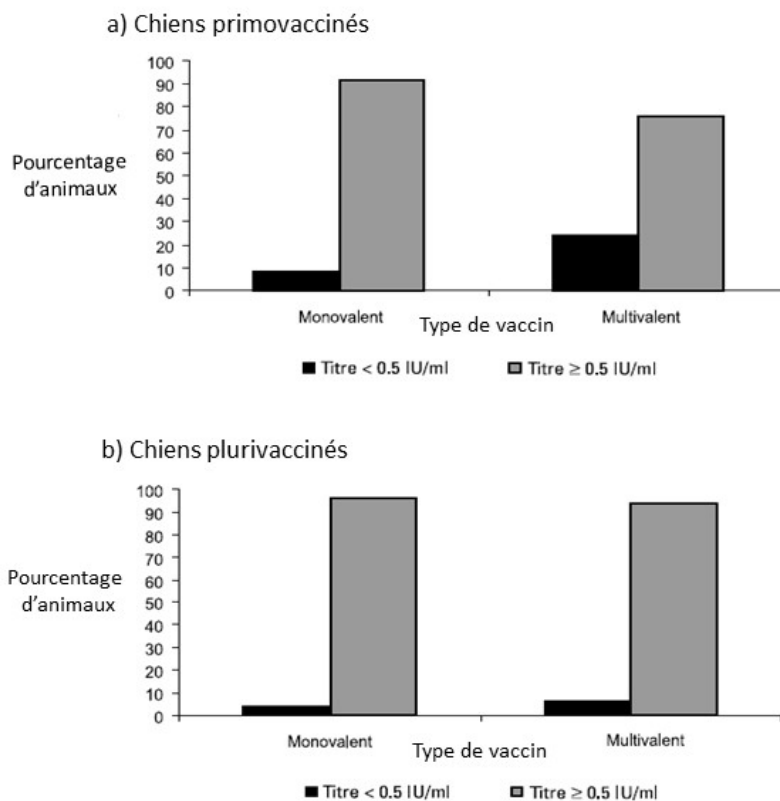
**Tableau 2** Evolution dans le temps de la proportion de chiens primovaccinés avec deux vaccins monovalents différents (15 chiens par vaccin) présentant un titre en anticorps antirabiques égal ou supérieur à 0,5 UI/mL (d'après Minke *et al.* (2009))

	J0 (vaccination)	J14	J28	J56	J84	J112	J120
<b>Vaccin Rabisin®</b>	0	93	93	87	67	60	40
<b>Vaccin Nobivac® Rage</b>	0	100	67	0	0	7	7

Ces résultats sont confirmés par l'étude de Berndtsson *et al.* (2011) réalisée sur un effectif de 6 789 chiens vaccinés dans le cadre des échanges internationaux, dont 1 766 primovaccinés, qui indique que le vaccin Rabisin® permet de réduire le risque d'obtenir un résultat inférieur à 0,5 UI/mL d'un facteur de 0,2 en comparaison du vaccin Nobivac® Rage.

#### 4.3.7.2 Différence entre vaccins monovalents et multivalents

Plusieurs études ont comparé les titres en anticorps antirabiques obtenus chez des chiens primovaccinés et des chiens ayant reçu des injections de rappel en fonction de la formulation vaccinale (vaccin monovalent ou multivalents) (Cliquet *et al.* 2003, Tasioudi *et al.* 2018). Il en ressort que, chez les chiens primovaccinés, les vaccins multivalents induisent significativement moins fréquemment un titre considéré comme protecteur que les vaccins monovalents (Figure 6) ; la différence n'est pas statistiquement significative chez les chiens ayant reçu des injections de rappel.



**Figure 6 Influence du type de vaccin (mono ou multivalent) sur la proportion d'animaux présentant un titre inférieur ou supérieur à 0,5 UI/mL chez (a) des chiens primovaccinés et (b) des chiens plurivaccinés (Cliquet *et al.* 2003)**

#### 4.3.8 Délai entre la dernière injection vaccinale et la prise de sang

Chez les chiens primovaccinés, les titres en anticorps atteignent leur pic environ un mois après la vaccination et chutent ensuite en quelques semaines à quelques mois. Dans l'étude de Cliquet *et al.* (2003), le pourcentage de chiens primovaccinés possédant des titres inférieurs à 0,5 UI/mL est de 7,8 % deux mois après la vaccination, de 19 % deux à quatre mois après, de 25 % quatre à six mois après et de 22 % au-delà de six mois (Cliquet *et al.* 2003). Ces données sont confirmées par d'autres auteurs dans d'autres pays (Mansfield *et al.* 2004, Sage *et al.* 1993).

En revanche, pour les chiens vaccinés plusieurs fois contre la rage, les titres en anticorps neutralisants sont indépendants du délai après la dernière vaccination et demeurent supérieurs à 0,5 UI/mL, tant que le protocole vaccinal est respecté (Berndtsson *et al.* 2011, Cliquet *et al.* 2003).

### 4.4 Réponse immunitaire sur des populations de chiots

#### 4.4.1 Etudes expérimentales

Même si les chiots nouveau-nés sont immunologiquement compétents, ils reçoivent, *via* le colostrum et le lait lors de l'allaitement maternel, des anticorps (immunité passive ou immunité maternelle) qui leur offrent une protection de quelques semaines (Chappuis 1998). L'immunité maternelle diminue assez rapidement et à partir d'environ trois mois, la vaccination du chiot est considérée comme efficace pour stimuler le système immunitaire propre de l'animal.

Dès 1985, Précausta *et al.* ont montré que des chiots de laboratoire, issus de mères non vaccinées, et eux-mêmes vaccinés à l'aide du vaccin Rabisin® à l'âge d'un mois, produisaient des anticorps antirabiques à des titres aussi élevés que des chiens vaccinés à l'âge de sept mois (Précausta *et al.* 1985).

Dans une autre étude, réalisée sur quatre chiots de laboratoire nés de mères vaccinées contre la rage, les chiots ont été vaccinés à l'âge de 14 jours (Chappuis 1998) puis soumis, à l'âge de quatre mois, à une épreuve virulente par inoculation d'une souche de virus rabique tuant l'ensemble des chiens contrôles non vaccinés. Les quatre chiots avaient des anticorps maternels le jour de leur vaccination et ces titres en anticorps ont ensuite chuté, devenant tous inférieurs à 0,5 UI/mL à partir de cinq semaines après la vaccination (J49). Les chiots ont néanmoins tous résisté à l'épreuve virulente. Ces résultats montrent l'aptitude de ces chiots à développer une immunité protectrice (sans doute liée au développement d'une réponse cellulaire) après vaccination, sans pour autant montrer une séroconversion détectable.

Ces données suggèrent que des chiots peuvent être aptes à développer une immunité protectrice s'ils sont vaccinés contre la rage avant l'âge de trois mois, qu'ils soient nés ou non d'une mère vaccinée.

Depuis, d'autres travaux ont été publiés sur l'immunité humorale conférée par la vaccination antirabique à des chiots âgés de moins de trois mois dans des conditions de « terrain ».

#### 4.4.2 Etude en conditions de « terrain »

En 1990, une étude a été réalisée au Nigéria chez des chiots nés de mères vaccinées (avec un vaccin à virus atténués) ou non, et vaccinés eux-mêmes à différents âges (quatre, six, huit, dix ou 12 semaines) à l'aide du même vaccin. Tous les chiots issus de mères non vaccinées ont bien répondu à la vaccination, et les chiots issus de mères vaccinées ont présenté une séroconversion à partir de 10 semaines (Aghomo, Oduye et Rupprecht 1990). En 1999, une étude réalisée en Tunisie a montré que des chiots tout venant de moins de trois mois et vaccinés (à l'aide d'un vaccin à virus inactivé) présentaient une séroconversion même s'ils étaient issus de mères vaccinées et même si l'amplitude de cette réponse un mois après vaccination était plus faible que celle de chiots issus de mères non vaccinées (Seghaier *et al.* 1999).

En 2017, une étude, conduite au Sri Lanka sur des chiens vaccinés (avec le vaccin Nobivac® Rage) entre l'âge de six semaines et trois mois, a montré des taux de séroconversion similaires entre le groupe de chiots issus de mères vaccinées contre la rage et celui de chiots issus de mères non vaccinées (Pimburage *et al.* 2017).

Une étude américaine récente (Wallace *et al.* 2017) a analysé la réponse humorale dans une cohorte de plus de 8 000 jeunes chiens vaccinés aux Etats-Unis (les noms des vaccins ne sont pas mentionnés) à moins d'un an d'âge (classés en trois groupes d'âge : moins de 12 semaines, 12 à 16 semaines, plus de 16 semaines). Cette étude constitue la seule, à la connaissance des experts, à analyser la réponse immunitaire de chiots avec des délais aussi courts après la vaccination. Les résultats sont les suivants :

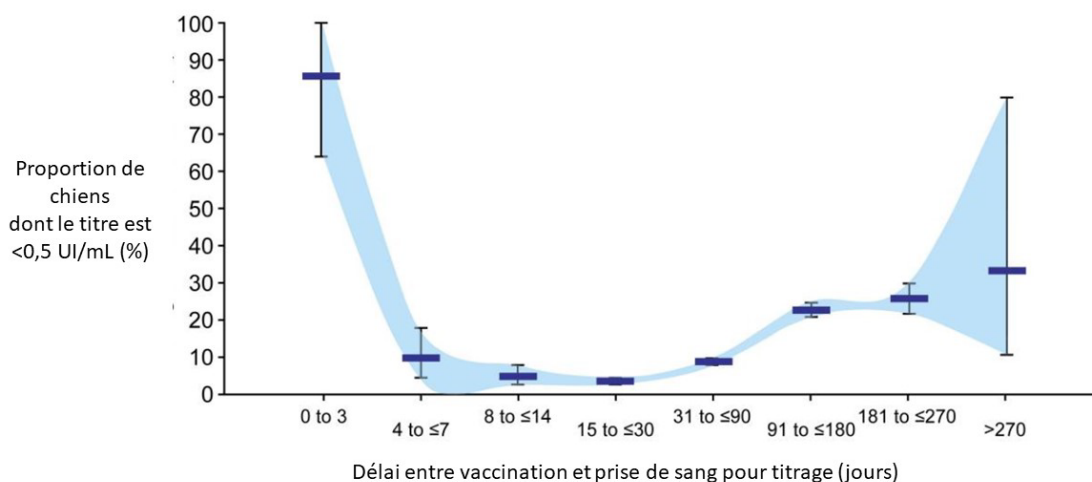
- les chiots de moins de 12 semaines répondent à la vaccination de la même manière que ceux vaccinés entre 12 et 16 semaines (taux de séroconversion et valeurs des titres en anticorps ; test Anova avec valeur de  $p > 0.05$ ). En revanche les chiots de plus de 16 semaines répondent significativement mieux à la vaccination ( $p < 0.01$ ). Le Tableau 3 synthétise les résultats de cette étude ;
- quel que soit l'âge du chiot, une réponse à la vaccination antirabique est obtenue chez environ 14 % des animaux trois jours après la vaccination. Cette donnée est cependant à prendre avec précaution car très peu d'animaux ont été testés dans ce délai après vaccination. En revanche, quatre à sept jours après la vaccination, environ 86 % (Intervalle de confiance – IC - entre 64 % et 100 % au seuil de 95 %) des animaux possèdent des titres supérieurs à 0,5 UI/mL ;

quel que soit l'âge des chiots au moment de la vaccination (moins de 12 semaines à plus de 16 semaines), les titres inférieurs à 0,5 UI/mL sont associés au délai entre la vaccination et le titrage en anticorps. Dans cette étude, la meilleure fenêtre pour obtenir un titre supérieur

à 0,5 UI/mL (3,7 % de résultats en dessous de 0,5 UI/mL, IC entre 2,9 % et 4,6 % au seuil de 95 %) se situe entre huit et 30 jours post-vaccination (Figure 7), les titres devenant inférieurs à 0,5 UI/mL 160 jours après la vaccination.

**Tableau 3 Comparaison des taux de séroconversion chez des chiots primovaccinés à différents âges (d'après Wallace *et al.* (2017))**

Pourcentage et (nombre d'animaux) en fonction des titres en anticorps antirabiques et par classes d'âge					
Age au moment de la vaccination	< 0,5 UI/mL	≥ 0,5 UI/mL	0,5-2,62 UI/mL	≥ 2,62 UI/mL	Moyenne géométrique des titres
< 12 semaines	16,6 % (48)	83,4 % (242)	41,4 % (120)	42,1 % (122)	1,22
12-16 semaines	15,5 % (346)	84,5 % (1 892)	42,9 % (959)	41,7 % (933)	1,21
> 16 semaines	10,4 % (570)	89,6 % (4 913)	35,8 % (1 965)	53,8 % (2 948)	1,64



**Figure 7 Pourcentages de chiots primovaccinés présentant des titres en anticorps antirabiques inférieurs à 0,5 UI/mL (trois groupes de chiots confondus) en fonction du temps écoulé entre la vaccination et la prise de sang (d'après Wallace *et al.* (2017))**

Une autre étude, réalisée en Afrique du Sud sur des chiots tout venant, vaccinés à l'aide du vaccin Rabisin®, a montré également qu'ils étaient capables de répondre très jeunes à la vaccination. Tous les chiots (n=19) vaccinés ont présenté une séroconversion 30 jours plus tard avec des titres très supérieurs à 0,5 UI/mL. Un total de 17 d'entre eux était issu de huit mères dont les titres en anticorps étaient tous inférieurs à 0,5 UI/mL au moment de la vaccination des chiots (Morters *et al.* 2015) (cf. tableau en Annexe 4).

**En résumé**, les différentes études montrent que les chiots peuvent présenter une réponse immunitaire à la vaccination antirabique dès l'âge de quatre semaines, en conditions expérimentales et de terrain. Chez des chiots issus de mères vaccinées, l'amplitude de la réponse sérologique peut être similaire ou inférieure à celle des chiots issus de mères non vaccinées. Expérimentalement, une réponse immunitaire similaire a été observée chez des chiots de quatre semaines et des chiens âgés de sept mois. En revanche, en conditions de terrain, une étude rapporte une moins bonne réponse chez les chiots de moins de 16 semaines par rapport aux animaux de plus de 16 semaines (Wallace *et al.* 2017). Dans cette étude, à la différence des données disponibles sur des chiens de tous âges, la meilleure fenêtre pour observer un titre supérieur à 0,5 UI/mL se situe entre huit et 30 jours après vaccination.

## 4.5 Conclusion

La vaccination contre la rage, administrée par voie parentérale, induit une réponse humorale avec production sérique d'anticorps neutralisants contre la rage. Chez les chiens primovaccinés, le pic d'anticorps antirabiques neutralisants est généralement atteint environ un mois après l'injection. Cette réponse humorale est influencée par plusieurs facteurs, notamment une variabilité individuelle importante et le vaccin utilisé.

En revanche, la production d'anticorps ne semble pas influencée par l'âge chez des chiots. Chez les animaux primovaccinés, l'observation d'un titre faible en anticorps antirabique est généralement associée au délai entre la vaccination et la réalisation du titrage (trop précoce ou trop tardif par rapport à la date de vaccination). Compte tenu de ces données sur l'âge des chiots (Cliquet *et al.* 2001, Seghaier *et al.* 1999) et sur leur capacité à répondre à la vaccination antirabique, l'OMS recommande depuis peu la vaccination de tous les chiots, quel que soit leur âge, et indépendamment des instructions des producteurs de vaccins, lors des campagnes de vaccination de masse des chiens dans les pays où la rage canine est enzootique (en particulier en Afrique et en Asie) (OMS 2013, 2018). Cette recommandation vise notamment à conférer une immunité protectrice le plus tôt possible aux chiots, qui sont en contact permanent avec les enfants.



## 5 Analyse des résultats de titrages des anticorps antirabiques réalisés sur les lots d'animaux contrôlés par la BNEVP

L'objectif de cette analyse était, en réponse à la saisine, de rechercher une éventuelle relation entre les titres sérologiques et l'âge des animaux à partir des données fournies par la BNEVP.

### 5.1 Contexte

La BNEVP fait appel à plusieurs laboratoires français pour la réalisation de titrages des anticorps antirabiques sur des carnivores domestiques (chiens et chats) afin de connaître le statut immunologique des animaux vis-à-vis de la rage. Ces laboratoires sont approuvés chaque année par la Commission européenne pour les analyses sérologiques antirabiques de carnivores domestiques vaccinés destinés à des mouvements non commerciaux entre pays membres ou à partir de certains pays vers l'UE. La technique d'analyse utilisée dans ces laboratoires est le test FAVN. Les laboratoires envoient à la BNEVP un rapport détaillé présentant les résultats des analyses.

L'analyse présentée dans ce rapport a porté sur les résultats sérologiques de 17 lots de chiots et chatons contrôlés par la BNEVP entre 2008 et 2018, un lot correspondant à un dossier suite à une inspection judiciaire. Pour les besoins de la saisine, la BNEVP a communiqué à l'Anses un tableau synthétisant l'historique des résultats de sérologie avec les informations disponibles pour l'interprétation des données : lots d'animaux, espèce animale, identification, race, sexe, date de naissance, date de la première injection vaccinale, date de la seconde injection, nom du vaccin, date du départ de l'animal, pays d'origine, âge de l'animal selon un expert, âge de l'animal indiqué sur le certificat d'accompagnement, conformité de l'âge de l'animal par rapport aux données de l'expert, date du prélèvement sanguin et titre en anticorps par rapport au titre de 0,5 UI/mL.

Selon la réglementation, les animaux doivent être valablement vaccinés contre la rage (*cf.* § 2.2), donc un animal arrivant sur le territoire français doit avoir au minimum 15 semaines d'âge. La BNEVP a indiqué que, lors des contrôles, et selon les cas, un expert vérifiait l'âge des chiens (par examen dentaire, poids et morphologie) à leur arrivée en France (en général quelques jours après leur arrivée). Il est donc possible d'estimer pour chaque lot le pourcentage d'animaux plus jeunes que celui consigné sur les documents d'accompagnement des animaux, ainsi que le pourcentage d'animaux conformes en âge, en se basant sur l'avis de l'expert. Le cas échéant, une deuxième estimation de l'âge est réalisée environ un mois après la première, afin de suivre l'évolution et d'infirmer ou confirmer la première estimation (des dents d'adulte doivent commencer à apparaître). Dans certaines contre-expertises, des examens radiographiques dentaires sont également réalisés.

La Figure 8 résume les différentes étapes dans le temps afin de mieux situer les analyses réalisées dans la suite du rapport. Les indications de dates, en italique, sont les seules à être fiables, à savoir la date de départ et les dates des deux expertises. Par conséquent, le GT souligne le niveau d'incertitude élevé associé aux données disponibles, en particulier sur l'âge des chiots, la réalité de la vaccination antirabique et la date de cette vaccination.

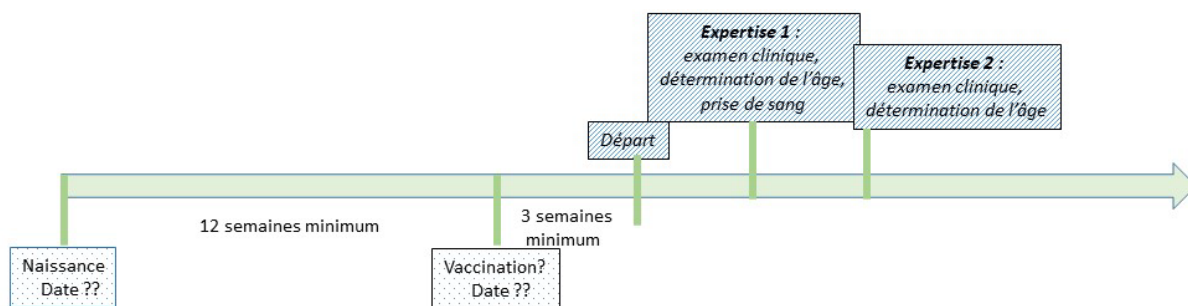


Figure 8 Schéma chronologique du dispositif réglementaire et de l'inspection judiciaire (en italique sur fond strié sont indiquées les données fiables)



## 5.2 Description des données

### 5.2.1 Animaux

Un total de 946 animaux a été considéré, incluant 937 chiens (99 %) et neuf chats (1 %), 535 mâles (57 %) et 411 femelles (43 %). Seulement 645 (68 %) de ces animaux (639 chiens et six chats) ont un résultat sérologique. Les analyses ont donc porté sur cet échantillon de 645 animaux pour lesquels un résultat sérologique était disponible.

Les animaux se répartissent en 17 lots dont les effectifs ayant un résultat sérologique vont de neuf à 89 chiens, les six chats se répartissant dans trois lots (deux chats par lot).

Pour les animaux de moins de 15 semaines, l'âge estimé lors de l'expertise est en général de deux à deux mois et demi (huit à dix semaines), mais il peut aller jusqu'à sept à neuf semaines, voire quatre semaines.

D'après les documents fournis, les animaux proviennent principalement de Slovaquie (n=417, 44 %) et de Hongrie (n=378, 40 %), le reste se répartissant entre Irlande (7 %), Belgique (6,5 %), Bulgarie (1 %), puis Pays-Bas (1 %) et République tchèque (0,5 %).

Les animaux ayant fait l'objet d'un titrage sérologique proviennent des pays suivants : Hongrie (n=292, 45,3 %), Slovaquie (n=234, 36,3 %), Belgique (8,5 %), Irlande (7,3 %), Bulgarie (0,8 %), Pays Bas (1,2 %) et République tchèque (0,6 %).

D'après les documents fournis, une majorité importante de chiens sont primovaccinés (602 chiens) ce qui représente 94 % de la population totale des chiens pour lesquels une sérologie a été réalisée (639 chiens).

### 5.2.2 Vaccins utilisés

D'après les documents fournis, le vaccin Rabisin® a été administré à 522 chiens en primovaccination, ce qui représente 87 % des animaux primovaccinés. Les autres chiens ont été vaccinés avec le vaccin Nobivac® Rage (n=47, 8 %), le vaccin Biocan® R (5,3 %) et le vaccin Vanguard® R (un animal). Pour les 6 % (n=37) de chiens vaccinés deux fois, deux cas se présentent : 22 chiens ont été vaccinés à l'aide du vaccin Rabicell®, puis Rabisin®. Quinze autres chiens ont fait l'objet de deux injections de primovaccination avec le vaccin Rabisin® à trois semaines d'intervalle.

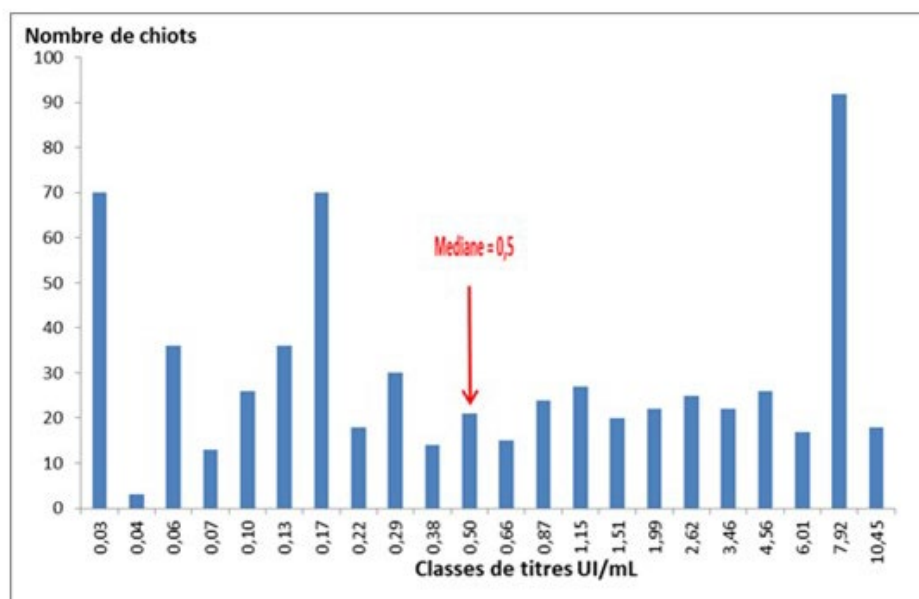
Les six chats sont tous primovaccinés avec le vaccin Rabisin®.

### 5.2.3 Titres en anticorps antirabiques

Sur un total de 645 animaux (639 chiens et six chats) pour lesquels un titrage a été réalisé, 329 d'entre eux (51 %) ont produit une réponse immunitaire supérieure ou égale à 0,5 UI/mL.

Les six chats ont produit des titres en anticorps élevés (supérieurs à 7,92 UI/mL).

Pour les 639 chiots, la médiane se situe à 0,5 UI/mL, avec le premier quartile à 0,13 et le troisième quartile à 3,46 UI/mL (Figure 9). Sur les 49 % de chiots présentant un titre inférieur à 0,5 UI/mL, la moitié est proche de 0 UI/mL, l'autre se situe entre 0,1 et 0,5 UI/mL. Il est à noter que, concernant les 37 chiens plurivaccinés (les 10 chiens du lot 6, cinq chiens du lot 9 et 22 chiens du lot 17), 21 d'entre eux ont des titres inférieurs à 0,5 UI/mL (57 %).



**Figure 9 Distribution des titres en anticorps antirabiques (UI/mL) chez 639 chiots (données BNEVP)\***

\*Certaines valeurs 0,13 UI/mL et 0,17 UI/mL sont inférieures ou égales à 0,13 UI/mL et à 0,17 UI/mL. Les titres à 7,92 UI/mL et 10,45 UI/mL sont en fait supérieurs ou égaux à ces valeurs.

### 5.3 Analyse des données

Des analyses univariées et multivariées ont été réalisées en considérant un seuil de significativité statistique de 5 %. L'évaluation de l'association entre l'obtention des titres en anticorps supérieurs ou inférieurs à 0,5 UI/mL et l'ensemble des variables a été réalisée par régressions logistiques. Plus spécifiquement, les analyses ont été réalisées en ajustant des modèles mixtes à effet aléatoire, afin de prendre en compte la variabilité due au lot. Les variables explicatives étudiées, sur la base des données fournies, sont : le délai entre la vaccination et le contrôle (jours), la taille du chien (petit, moyen, grand, très grand), le(s) vaccin(s) utilisé(s) (Rabisin®, Biocan® R, Novibac® Rage, et, pour les animaux plurivaccinés, Rabicell®-Rabisin®, Rabisin®-Rabisin®), le laboratoire qui a fait les analyses (départements 31, 54, 62, 72), et le pays d'origine (Belgique, Bulgarie, Irlande, Hongrie, Pays-Bas, Slovaquie, République tchèque).

#### 5.3.1 Analyses univariées

##### 5.3.1.1 **Sur l'ensemble des animaux**

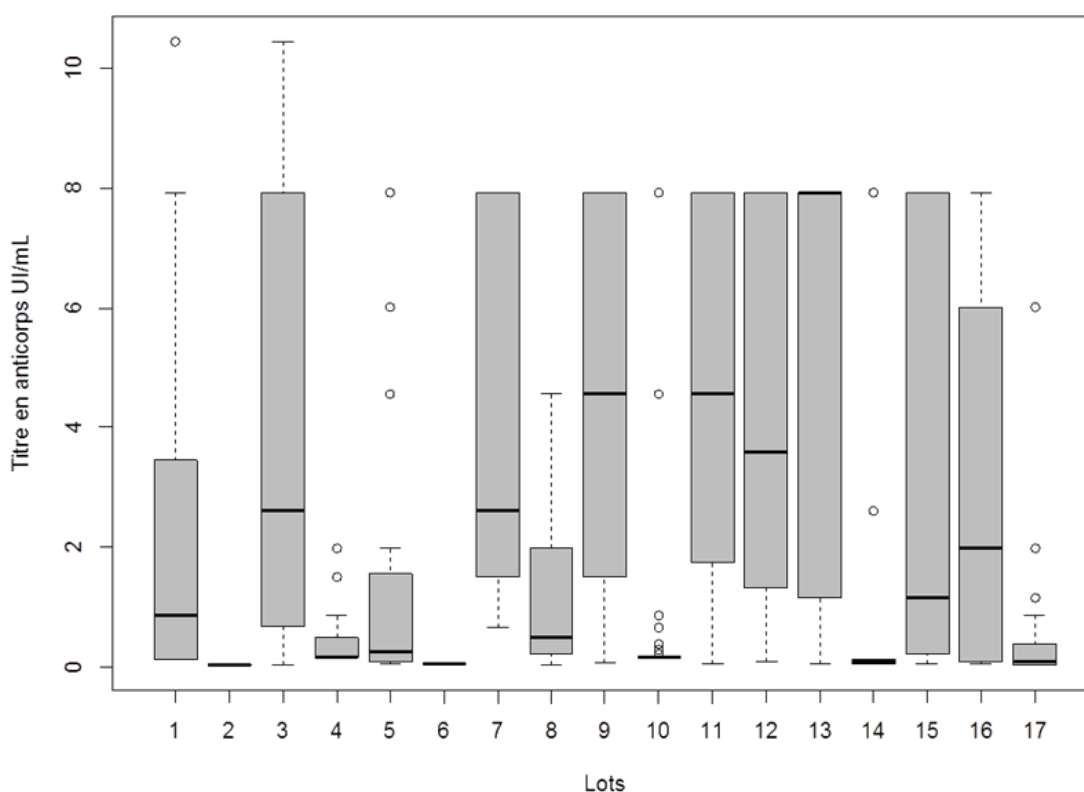
Les analyses univariées conduisent aux résultats suivants :

- les proportions d'animaux dont les titres en anticorps antirabiques sont supérieurs à 0,5 UI/mL sont faibles (51 % des animaux), avec l'ensemble des vaccins, ce qui ne correspond pas aux données de la littérature (Berndtsson *et al.* 2011, Cliquet *et al.* 2003, Mansfield *et al.* 2004, Wallace *et al.* 2017) ;
- aucun effet sexe n'est observé (il n'y a pas de différence significative entre les 48 % de mâles et 53 % de femelles présentant des titres supérieurs à 0,5 UI/mL), comme rapporté dans la littérature (Berndtsson *et al.* 2011, Kennedy *et al.* 2007, Mansfield *et al.* 2004, Wallace *et al.* 2017) (*cf.* § 4.3.2) ;
- aucun effet taille n'est observé à la différence de certaines études (Berndtsson *et al.* 2011, Kennedy *et al.* 2007, Mansfield *et al.* 2004) (*cf.* § 4.3.3) ;
- le vaccin Rabisin® fournit un pourcentage de titres supérieurs à 0,5 UI/mL statistiquement supérieur aux pourcentages fournis par les vaccins Nobivac® Rage et Biocan® R, en cohérence avec les données de la littérature ;

- l'impact du temps écoulé après la vaccination des chiots sur la valeur des titres, largement décrit dans la littérature (Cliquet *et al.* 2003, Wallace *et al.* 2017) (cf. § 4.3.8), n'a pas été constaté dans cette population de chiots primovaccinés.

### 5.3.1.2 Par lots d'animaux

Dans un même dossier (ce qui correspond à un lot), il peut y avoir plusieurs arrivages d'animaux, de provenances différentes, et donc plusieurs pays d'origine. Après une enquête pouvant durer de plusieurs semaines à plusieurs mois, la BNEVP intervient auprès des parties en cause. Tous les chiens présents le jour de l'inspection sont examinés, mais seuls les chiots provenant d'autres pays membres de l'UE, livrés le jour de l'inspection ou quelques jours à quelques semaines avant, sont inclus dans un lot. La Figure 10 présente la distribution des titres sérologiques pour les 17 lots de la BNEVP.



**Figure 10 Distribution des titres en anticorps antirabiques pour les lots 1 à 17 (sont représentées les médianes des titres, les quartiles et valeurs extrêmes) (données BNEVP)\***

\*Certaines valeurs 0,13 UI/mL et 0,17 UI/mL des lots 1, 4 et 10 sont inférieures ou égales à 0,13 UI/mL et à 0,17 UI/mL. Les titres à 7,92 UI/mL et 10,45 UI/mL sont en fait supérieurs ou égaux à ces valeurs.

Les points suivants ressortent des analyses univariées réalisées par lots d'animaux :

- une grande hétérogénéité des titres en anticorps est observée entre les chiots d'un même lot. Elle se retrouve également entre les lots, dans lesquels la proportion de titres supérieurs à 0,5 UI/mL fluctue de 0 % (deux lots) à 100 % (un lot) ;
- pour les chiots, des non conformités liées à l'âge (l'expert ayant estimé que les chiots avaient moins de 15 semaines) ont été observées dans tous les lots. Les données globales des experts sur les estimations d'âge révèlent que les chiots non conformes ont généralement 10 à 12 semaines au moment de la prise de sang ;
- l'analyse des non conformités en âge et des résultats sérologiques montre que la réponse immunitaire n'est pas liée à l'âge déclaré des chiots.

### 5.3.2 Analyse multivariée

Des modèles intégrant toutes les combinaisons possibles parmi les variables explicatives précédemment citées (cf. introduction du § 5.3) ont été construits et comparés afin d'expliquer les valeurs des titres en anticorps antirabiques. L'âge du chien n'a pas pu être considéré compte-tenu de la non harmonisation du format de ces données dans les fichiers fournis. Le modèle sélectionné qui expliquait le mieux les données intégrait l'ensemble des variables présentées. Toutefois, les données analysées n'ayant pas été collectées à des fins d'analyse statistique, elles sont de fait très hétérogènes. Il en résulte un manque d'ajustement des modèles aux données qui n'a pas permis d'obtenir des résultats exploitables.

## 5.4 Discussion

Dans ce travail, les données et résultats sérologiques de 17 dossiers judiciaires (ou lots) fournis par la BNEVP à l'Anses-Nancy ont été analysés et interprétés. Il s'agit de lots de carnivores domestiques provenant de certains Etats membres et destinés aux échanges ou importations vers la France. La BNEVP souhaiterait savoir si la sérologie, réalisée sur la base d'un échantillonnage de chiens au sein de chaque lot, est un outil qui pourrait permettre de déterminer si le protocole vaccinal de ce lot a respecté la réglementation (primovaccination à partir de l'âge de 12 semaines et délai de 21 jours minimum entre la vaccination et le départ respectés).

Différents paramètres ont été étudiés sur la population globale des chiots analysés et sur les différents lots, afin de dégager des tendances qui permettraient de pouvoir répondre aux préoccupations de la BNEVP. Il convient de rappeler que les interprétations sont assez limitées et certainement biaisées du fait de peu de données fiables dans les dossiers, en l'occurrence l'âge réel des animaux, et surtout la date de vaccination. Toutes les études réalisées dans le domaine de la sérologie rage sur des animaux primovaccinés soulignent que le facteur déterminant pour interpréter les titres en anticorps de ces animaux est la prise en compte du délai entre la prise de sang et la vaccination. Un résultat de sérologie ne peut être interprété qu'à partir de données fiables (animal effectivement vacciné, connaissance de la date de la primo-vaccination, donc du délai entre la vaccination et la prise de sang, cf. § 4.2)

### 5.4.1 Interprétation des titres en anticorps antirabiques séroneutralisants

En ce qui concerne l'interprétation des titrages des anticorps antirabiques dans les lots de la BNEVP, le Tableau 4 présente la répartition des titres obtenus, mise en perspective de l'interprétation de ces titres présentée dans la partie bibliographique. Des titres en anticorps neutralisants non nuls mais inférieurs à 0,10 UI/mL peuvent soit correspondre à un bruit de fond, comme il est possible de le rencontrer avec tout sérum, y compris des sérums d'animaux naïfs non vaccinés, soit correspondre à des traces d'anticorps en limite de détectabilité observables chez des sujets trop récemment vaccinés (en tout début de réponse à la vaccination lorsque les taux n'atteignent pas encore 0,10 UI/mL), ou trop anciennement vaccinés chez lesquels ils ont progressivement décliné (Aubert 1993, Ganière *et al.* 1989).

Tableau 4 Répartition des titres en anticorps antirabiques et significations possibles

Valeurs de titres en anticorps antirabiques (UI/mL)	< 0,10 UI/mL	0,10 – 0,49 UI/mL	≥ 0,5 UI/mL
Pourcentage de chiots pour l'ensemble des lots (n=639)	26 %	23 %	51 %
Lots concernés (n total=17)	15 lots	14 lots	15 lots
Pourcentage de chiots dans les différents lots	1,7 % à 100 %	3 % à 90 %	10 % à 100 %
Signification biologique	Non vacciné OU Vacciné mais plus d'anticorps décelables (phase descendante) OU Vacciné mais pas encore d'anticorps décelable (phase ascendante) OU Immunodéprimé ou faible répondeur	Vacciné mais plus d'anticorps décelables (phase descendante) OU Vacciné mais pas encore d'anticorps décelable (phase ascendante) OU Immunodéprimé ou faible répondeur	Vacciné et date de prise de sang permettant la détection des anticorps MAIS ne signifie pas respect du protocole vaccinal*

\*Le fait qu'un chiot présente un titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL ne permet pas de déduire ou de prédire qu'il a été vacciné à l'âge de 12 semaines minimum, ni qu'il a été soumis à une attente de 21 jours minimum avant son départ. Plusieurs cas de figure sont en effet envisageables :

- le chiot a effectivement été valablement vacciné ;
- il peut avoir été vacciné à 12 semaines minimum, mais la période de 21 jours a pu être raccourcie ;
- il peut avoir été vacciné à moins de 12 semaines, et avoir respecté les 21 jours ;
- il a été vacciné à moins de 12 semaines, et le délai de 21 jours minimum n'a pas été respecté.

#### 5.4.2 Population de chiens étudiés

Les résultats globaux montrent que 51 % des animaux ont produit une réponse immunitaire supérieure ou égale à 0,5 UI/mL, avec une variabilité des titres individuels importante. Ce résultat est très inférieur aux données de la littérature qui rapportent des pourcentages de l'ordre de 85 %, y compris chez des chiots âgés de moins de 12 semaines (Berndtsson *et al.* 2011, Cliquet *et al.* 2003, Mansfield *et al.* 2004, Wallace *et al.* 2017) (*cf.* § 4.4). Ces résultats se rapprochent de ceux de Klevar *et al.* (2015) et Kaila, Marjoniemi et Nokireki (2019), sur des chiens introduits en Norvège et en Finlande, respectivement (principalement depuis la Roumanie et la Russie). Les 51 % d'animaux présentant des titres supérieurs à 0,5 UI/mL sont répartis dans 15 des 17 lots. On peut considérer qu'ils ont été vaccinés et que la date de la prise de sang a été compatible avec la mise en évidence d'anticorps antirabiques. Cependant, ce résultat ne signifie pas que le délai minimal de 21 jours entre vaccination et titrage en anticorps a été respecté.

Parmi les 49 % d'animaux ayant présenté des titres inférieurs à 0,5 UI/mL :

- près de la moitié (répartis dans 15 lots) ont des titres proches de 0 UI/mL (inférieur à 0,1 UI/mL) et n'ont probablement pas été vaccinés, ou ils l'ont été le jour du départ ;

- l'autre moitié présente des titres en anticorps compris entre 0,1 et 0,5 UI/mL suggérant que ces animaux ont été vaccinés. Il est important de noter que dans tous les lots testés (sauf dans le lot 7 [dont tous les animaux, à une exception près, ont des titres supérieurs à 0,5 UI/mL] et les lots 2 et 6 [entièrement dépourvus d'anticorps]), des titres en anticorps entre 0,1 et 0,5 UI/mL ont été détectés en proportions plus ou moins importantes.

Aucun lot n'est complètement conforme réglementairement pour l'âge des chiens au moment de son inspection. Les données analysées ont montré que la conformité d'âge à elle seule ne peut pas expliquer un résultat sérologique. Inversement, un titre en anticorps, qu'il soit supérieur ou inférieur à 0,5 UI/mL, ne permet pas de définir si un animal est conforme ou non en âge. Ce constat est valable aussi pour un groupe d'animaux. Les chiens des lots 7 et 9 présentent tous des titres supérieurs à 0,5 UI/mL (sauf un chien) et, pour ces lots, respectivement 78 % et 74 % des animaux n'étaient pas conformes en âge. Par exemple, les animaux des lots 10 et 17 présentent des pourcentages faibles de titres supérieurs à 0,5 UI/mL parmi les chiens conformes en âge (respectivement 8 et 17 %).

L'interprétation des résultats de titrages au niveau d'un groupe d'animaux (17 lots ici) se heurte à d'importantes limites :

- les dates de vaccination annoncées dans les documents ne sont pas fiables,
- les animaux d'un même lot n'ont pas tous le même historique sur les documents, et peuvent provenir de différents pays,
- des différences parfois importantes entre la date de l'inspection, et donc de prélèvement, et la date de départ sont constatées dans la quasi-totalité des lots,
- les données analysées n'ont pas été collectées à des fins d'analyse statistique et sont de fait très hétérogènes. Il en résulte un manque d'ajustement du modèle aux données.

La grande hétérogénéité des titres observés pour un même pays, retrouvée sur plusieurs lots, montre qu'aucun pays ne peut être particulièrement visé par des contrôles. A titre d'exemple, le lot présentant le plus de titres supérieurs à 0,5 UI/mL, et les deux lots dont les animaux sont entièrement dépourvus d'anticorps proviennent du même pays.

Les autres analyses, y compris celle des titres en anticorps en fonction des délais entre les dates de vaccination et de prise de sang et/ou entre dates de départ (dont on peut supposer qu'elle pourrait correspondre approximativement à une date de vaccination) et de prise de sang, ne permettent pas de dégager de tendance utilisable pour répondre à la saisine.

## 5.5 Conclusion

Les questionnements de la saisine se réfèrent à des lots, qui correspondent à des dossiers judiciaires et non à des groupes d'animaux réunis en fonction de critères scientifiques ou méthodologiques définis, ou à des animaux tirés au sort au sein d'une population. Les lots de la saisine ne sont pas homogènes, de taille variable et avec des animaux en provenance de différents pays. Par ailleurs, les lots comportent des animaux conformes et non conformes en âge (d'après les estimations des experts).

L'étude des 17 dossiers de carnivores domestiques théoriquement vaccinés contre la rage, en provenance de certains Etats membres et introduits en France, suggère une couverture vaccinale globalement insuffisante, avec une grande hétérogénéité selon les lots. Aucun lot n'est en outre conforme pour l'âge des chiens.

**Les non conformités (non-respect de l'âge minimal à la vaccination et/ou non-respect de la période d'attente minimale de 21 jours après la vaccination) ne sont pas déductibles des résultats de sérologie, sauf lorsque, dans un lot, la totalité des animaux testés possède des titres proches de 0 UI/mL (inférieurs à 0,1 UI/mL).** Le non-respect du délai de 21 jours peut expliquer l'obtention de titres inférieurs à 0,5 UI/mL, mais sans que ce soit la seule cause possible. Les résultats de sérologie ne permettent pas, qui plus est sur de tels lots non homogènes dont les dates ne sont pas fiables (date de naissance et de vaccination en particulier), d'objectiver l'origine de la fraude, sauf s'il s'agit de détecter si des lots entiers de chiens sont complètement dépourvus d'anticorps.

**Ainsi, un titre en anticorps, quel qu'il soit :**

- **ne permet pas de prédire qu'un animal est conforme ou non en âge,**
- **ne permet pas de prédire que la vaccination a été réalisée à l'âge minimal de 12 semaines et que le délai minimal de 21 jours entre la vaccination et la prise de sang a été respecté.**



## 6 Réponse aux questions

### 6.1 Réponse à la question de la saisine

La saisine interroge en premier lieu sur la possibilité de « *disposer d'un protocole permettant, sur la base des résultats d'analyse, de déterminer la conformité ou non du statut des animaux composant le lot expédié au regard de la vaccination antirabique et permettant de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primo-vaccination à 12 semaines et délai de 21 jours) est respecté* ».

Concernant la pertinence de réaliser un tel protocole, les experts soulignent les points suivants, développés dans les précédentes parties du rapport :

- La réglementation européenne prévoit que chaque chiot soumis à des échanges commerciaux intracommunautaires ait fait l'objet d'une vaccination antirabique répondant aux exigences de validité énoncées à l'annexe III du règlement (UE) n° 576/2013 (cf. § 2.2).
- En revanche, contrairement aux importations depuis des pays tiers dans lesquels le risque rabique n'est pas maîtrisé, ces exigences n'incluent pas un titrage des anticorps antirabiques (cf. § 2.2). Dans le cadre de la présente saisine, ce titrage est demandé par les enquêteurs français à leur initiative afin de vérifier si les exigences de validité de la vaccination ont été respectées ou non.
- Un titrage des anticorps antirabiques, lorsqu'il est exigé dans le cadre des échanges avec des pays tiers, est effectué au moins 30 jours après la vaccination, et vise à vérifier que l'animal est valablement protégé (titre supérieur ou égal à 0,5 UI/mL) contre la rage. En effet, un animal présentant un titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL a une probabilité très élevée de survivre à une infection rabique ultérieure (cf. § 4.2). En pratique, dans ce cadre, lorsqu'un animal présente un titre inférieur à 0,5 UI/mL, une nouvelle vaccination antirabique est réalisée, qui conduit très généralement à une augmentation du titre au-delà de 0,5 UI/mL comme le rapporte la littérature (cf. § 4.2).
- De l'analyse bibliographique, il ressort qu'un titrage en anticorps antirabiques ne peut être interprété qu'à partir de données fiables concernant l'animal testé, *i.e.* la date de vaccination et le délai entre cette vaccination et la prise de sang. Or, dans le cadre des contrôles de chiots et chatons objets de la saisine, il existe un manque de fiabilité des données présentées sur les documents accompagnant les animaux.
- Il existe, en outre, pour un vaccin donné, une variabilité liée, d'une part, à la méthode de titrage par séroneutralisation (le titre calculé pouvant varier d'un laboratoire à l'autre) et, d'autre part, à la réponse de chaque individu à la vaccination antirabique (cf. § 4.3).
- Un titre en anticorps antirabiques, quel qu'il soit, ne permet pas de conclure sur l'âge d'un animal. En particulier les chiots très jeunes (à partir de quatre semaines) peuvent répondre à la vaccination antirabique.
- Un titre inférieur à 0,5 UI/mL n'exclut pas la réalisation effective d'une primovaccination antirabique, de même qu'un titre proche de 0,5 UI/mL (qu'il soit plus faible ou plus élevé) n'implique pas que le délai requis entre la vaccination et le mouvement de l'animal ait été respecté.
- Un titre en anticorps antirabique, quel qu'il soit, ne permet pas de prédire que la vaccination a bien été réalisée à partir de l'âge de 12 semaines et que le délai de 21 jours minimum entre la vaccination et le mouvement de l'animal vers la France a été respecté.

En conclusion, le titrage des anticorps antirabiques ne constitue pas un indicateur pertinent pour montrer le non-respect de la réglementation relative à la vaccination antirabique dans le cadre d'échanges commerciaux intracommunautaires de carnivores domestiques introduits en France.

Par conséquent, les experts considèrent qu'aucun protocole d'échantillonnage des chiots ne permettrait, sur la base du titrage des anticorps antirabiques, de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primo-vaccination à partir de l'âge de 12 semaines et délai de 21 jours minimum) a été, ou non, respecté.

## 6.2 Réponse à la question complémentaire de la DGAL - BNEVP

### 6.2.1 Préambule

Suite à l'envoi à la DGAL - BNEVP du rapport du GT de mars 2019 et de l'avis du 25 avril 2019, le demandeur a posé une question complémentaire portant « *sur la possibilité ou non de déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont < 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie dont la recherche de l'origine, possiblement variée et présentée dans le rapport, reviendra à la BNEVP (ex : 35 % de titres < 0,5 UI/mL : probabilité X qu'il y ait une anomalie ; 40% de titres < 0.5 UI/mL : probabilité Y qu'il y ait une anomalie ; 50 % de titres < 0,5 UI/mL : probabilité Z qu'il y ait une anomalie quant au respect des procédures de la vaccination [injection vaccinale])* » (cf. § 1.3). Cette question se base sur le fait que les données de la littérature rapportent des pourcentages de titres  $\geq 0,5$  UI/mL de l'ordre de 85 %, y compris chez des chiots (cf. § 4.4 et 5.4.2). La BNEVP considère donc que, dans la mesure où les chiots introduits en France sont censés être vaccinés depuis au moins trois semaines, de tels pourcentages devraient être retrouvés dans les lots contrôlés.

Il convient de rappeler que le titrage des anticorps antirabiques n'est pas imposé par la réglementation dans le cadre de l'introduction de chiens en France depuis des pays de l'Union européenne (cf. § 2.2). De plus, les experts soulignent que cette démarche ne permet pas de déterminer la conformité en âge des chiots contrôlés. En effet, comme indiqué dans le § 5.4.1, un titre en anticorps  $\geq 0,5$  UI/mL ne permet pas de déduire qu'un chiot, ou un lot de chiots, a été vacciné à l'âge de 12 semaines minimum, ni qu'il a été soumis à une attente de 21 jours minimum avant son départ. A titre d'exemple, dans les lots de la BNEVP analysés dans le présent rapport, les chiens des lots 7 et 9 présentent tous des titres  $\geq 0,5$  UI/mL (sauf un chien) et, pour ces lots, respectivement 78 % et 74 % des animaux n'étaient pas conformes en âge (cf. § 5.4.2). Les experts s'interrogent donc sur la pertinence de ne prendre en compte que les titres en anticorps antirabiques dans le cadre de cette question complémentaire.

Pour répondre à la question complémentaire posée, il convient de (1) connaître la proportion de chiens ayant un titre en anticorps antirabiques  $\geq 0,5$  UI/mL dans les populations de chiens supposés valablement vaccinés contre la rage, et (2) considérer la possibilité de déterminer la concordance théorique d'un lot de chiots contrôlés avec ces populations, à l'aide de tests statistiques sur les résultats sérologiques des chiots du lot.

### 6.2.2 Estimation de la proportion de chiens présentant des titres sérologiques $\geq 0,5$ UI/mL au sein de populations de chiens vaccinés

En se basant sur les 17 lots de la BNEVP analysés, les experts ont constaté une grande hétérogénéité des titres en anticorps entre les chiots d'un même lot. Elle se retrouve également entre les lots, dans lesquels la proportion de titres  $\geq 0,5$  UI/mL fluctue de 0 % (deux lots) à 100 % (un lot) (cf. § 5.3.1.2.). Il convient de noter que la taille des lots (neuf à 154 animaux) et la proportion d'animaux testés dans chaque lot (28 à 100 %, et réalisée sans protocole d'échantillonnage) sont très variables. Par conséquent, le pourcentage de titres  $\geq 0,5$  UI/mL obtenu sur les animaux testés ne correspond pas nécessairement au pourcentage sur le lot entier. Les résultats de l'analyse de ces 17 lots ne permettent pas de donner des prédictions ni des probabilités dans la mesure où les données sur ces lots (âge, commémoratifs...) sont déclarées par les exportateurs, certaines sont inexactes, et elles n'ont rien d'aléatoire (cf. § 5). Ils ne peuvent donc pas être utilisés pour répondre à cette question complémentaire.

Il convient donc de voir si des études rapportant des pourcentages de titres en anticorps antirabiques permettent d'établir des fourchettes de valeurs.

#### 6.2.2.1 **Recherche d'études d'intérêt dans la littérature**

- Etudes expérimentales

Dans la littérature (cf. § 4.3 et 4.4), certaines études (Chappuis 1998, Minke *et al.* 2009, Précausta *et al.* 1985) ont été réalisées sur des chiens de laboratoire, très homogènes (race, alimentation,

mode de vie...) et réputés être de meilleurs répondeurs (Aubert 1992). Ces caractéristiques, trop éloignées de celles des lots contrôlés par la BNEVP, ont donc conduit à ne pas retenir ces études.

• Etudes de « terrain »

Les publications relatives à des populations de chiens en Asie et en Afrique (Aghomo, Oduye et Rupprecht 1990, Morters *et al.* 2015, Pimburage *et al.* 2017, Seghaier *et al.* 1999) n'ont pas été retenues, car ces populations sont trop éloignées de celles de chiens européens.

Les travaux publiés sur la réponse immunitaire humorale en Europe et aux Etats-Unis concernent des études rétrospectives portant sur des cohortes de chiens « tout venants » : il s'agit de chiens de propriétaires, de tous âges, de toutes races, en bonne santé, bien entretenus et probablement soumis à beaucoup moins de facteurs de stress que des chiots transportés à travers l'Europe. Ces chiens ont été vaccinés une ou plusieurs fois, avec des vaccins mono- ou plurivalents, et ont fait l'objet d'un titrage en anticorps antirabiques, le délai entre les dates de vaccination et de titrage étant connu. Parmi ces études, huit ont été dans un premier temps sélectionnées comme possiblement d'intérêt pour obtenir une fourchette de pourcentages de titres  $\geq 0,5$  UI/mL. Elles sont présentées dans le tableau en annexe 6. Quatre de ces études ont été exclues car elles n'apportaient pas de données sur les chiens primovaccinés, à la différence des quatre études finalement retenues : Berndtsson *et al.* (2011), Cliquet *et al.* (2003), Tasioudi *et al.* (2018) et Wallace *et al.* (2017).

**6.2.2.2 Proportion moyenne et écart-type de chiens ayant un titre  $\geq 0,5$  UI/mL dans les études retenues dans la littérature**

Pour les quatre études retenues, ont été calculés la proportion moyenne et l'écart-type du nombre d'animaux ayant un résultat sérologique  $\geq 0,5$  UI/mL parmi les chiens primovaccinés (Berndtsson *et al.* 2011, Cliquet *et al.* 2003, Tasioudi *et al.* 2018) ou, en l'absence d'information sur le processus vaccinal, parmi les chiens vaccinés d'âge compris entre 12 et 16 semaines (Wallace *et al.* 2017) (cf. tableau 5 et annexe 6).

**Tableau 5 Proportion moyenne et écart-type d'animaux ayant un titre en anticorps antirabiques  $\geq 0,5$  UI/mL dans les quatre études retenues (chiens primovaccinés ou âgés de 12 à 16 semaines)**

Publication	Nombre total de chiens	Nombre de chiens avec un titre $\geq 0,5$ UI/mL	Proportion moyenne de chiens avec un titre $\geq 0,5$ UI/mL	Borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%	Borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%
Berndtsson <i>et al.</i> (2011)	1766	1519	86,0 %	84,4 %	87,6 %
Cliquet <i>et al.</i> (2003)	1351	1162	86,0 %	84,1 %	87,9 %
Tasioudi <i>et al.</i> (2018)	546	459	84,0 %	80,9 %	87,1 %
Wallace <i>et al.</i> (2017)	1892	1608	85,0 %	83,4 %	86,6 %

L'approche développée par (Rubin 1987) a été appliquée pour estimer la proportion moyenne d'animaux ayant des titres  $\geq 0,5$  UI/mL (et écart-type) sur les quatre études sélectionnées.

Ainsi, dans la population de chiens telle que caractérisée dans les quatre publications retenues, la proportion moyenne ( $\pm$  écart type) de chiens vaccinés contre la rage et présentant des titres en anticorps antirabiques supérieurs ou égaux à 0,5 UI/mL est de  $85,3 \pm 1,5$  % (intervalle de confiance : 82,3 - 88,2 %).

### 6.2.3 Réponse à la question complémentaire

En théorie, il est possible de déterminer, par une méthode statistique (test binomial), le nombre minimum de chiots d'un lot testé dans sa totalité devant présenter un titre supérieur ou égal 0,5 UI/mL pour que ce lot soit considéré concordant avec les populations de chiens issues de la littérature.

Toutefois, pour pouvoir faire une interprétation statistique, il faudrait que le lot analysé ait les mêmes caractéristiques en termes d'hétérogénéité que les populations issues de la littérature, et soient comparables en termes d'état sanitaire et d'influence de facteurs de stress.

Les caractéristiques des lots de chiots contrôlés par la BNEVP diffèrent des populations de chiens des quatre études retenues. En effet, ces lots contrôlés incluent des chiots, qui présentent fréquemment un état général plus ou moins altéré, sont non ou mal sevrés, éventuellement parasités, parfois malades, et stressés par des transports longs et récents (pour leur introduction en France, voire pour le transport de l'élevage à l'opérateur dans le pays d'origine). Les experts soulignent que l'état sanitaire des chiots est un élément majeur dans la mesure où, quelle que soit la pratique vaccinale, une altération de l'état sanitaire peut entraîner une difficulté d'interprétation des titrages. La réponse vaccinale peut être altérée à un niveau variable et non quantifiable. En outre, les modalités de constitution d'un lot n'auront pas d'influence sur ce facteur sanitaire. De plus, de même que la date de naissance, la date effective de la vaccination, lorsqu'elle a été réalisée, est incertaine. Ces facteurs contribuent à une réponse vaccinale possiblement moindre (cf. § 4.3.6), à un niveau difficilement quantifiable.

En outre, dans les 17 lots de la BNEVP analysés, il existe régulièrement des grappes de chiots d'une même race et d'une même origine (exemples : fratrie, même élevage, élevages différents mais soumis à de mêmes pratiques, etc.), ce qui conduit à des répétitions qui influencent les résultats du test statistique, et ce d'autant plus que les lots sont de petite taille. Cela se retrouvera sans doute dans les lots contrôlés.

De plus, il existe un niveau d'incertitude élevé sur les caractéristiques du lot contrôlé du fait de la falsification de certains documents : en effet, certains chiots ne proviennent pas du pays d'origine mentionné sur les documents officiels les accompagnant. En outre, un même opérateur expéditeur pourra avoir des chiots de différentes origines (différents éleveurs, particuliers), de différents âges, et obtenus à des moments différents.

Par conséquent, les populations étudiées dans la littérature et les populations de chiots contrôlées par la BNEVP ne sont pas comparables, de même que leurs pourcentages respectifs de titres en anticorps antirabiques. Il n'est donc pas possible de déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont inférieurs à 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie, liée ou non à la pratique vaccinale.

Les experts notent que, dans l'hypothèse où une comparaison aurait été envisageable (chiots non stressés, tous en bonne santé, pas de fratrie, ni même éleveur dans le lot...), des résultats concordants n'auraient pas permis d'exclure une pratique frauduleuse (tels des chiots non vaccinés ou vaccinés sans respecter l'âge minimal de 12 semaines et/ou le délai de 21 jours avant introduction, cf. § 6.2.4.2).

## 7 Incertitudes

Dans le cadre de la présente saisine, les incertitudes, regroupées dans le Tableau 6, sont principalement associées :

- à la détermination de l'âge des chiots : cette estimation ne peut être réalisée que sur la base d'indices concordants (aspect général et denture principalement) et sera fournie dans une fourchette variable en fonction de l'âge présumé de l'animal. La grande variabilité entre races et entre individus d'une même race porte sur la plupart des critères. La dentition est le critère pour lequel la variabilité est la plus faible, mais la tranche d'âge correspondant au changement de dentition ne se superpose que très partiellement à la tranche d'âge considérée dans le cadre de contrôles de l'âge de chiots importés en France (*i.e.* moins de 15 semaines) ;
- à l'interprétation des titres en anticorps antirabiques, liée essentiellement au manque de fiabilité de la date de vaccination, donc du délai entre vaccination et titrage des anticorps antirabiques, ainsi qu'à l'état sanitaire des animaux.

**Il convient de souligner que ces incertitudes n'impactent pas la réponse aux questions.** En effet, même si elles étaient levées, elles ne remettraient pas en cause la non pertinence du titre en anticorps antirabiques en tant qu'indicateur pour le protocole visant à montrer que les chiots importés ne sont pas correctement vaccinés contre la rage.

**Tableau 6 : Sources et types d'incertitudes**

Étapes du raisonnement	Incertitudes importantes identifiées par les experts
Age des animaux contrôlés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Variabilité entre races et individus quant à l'évolution des paramètres physiologiques et anatomiques, denture</li> <li>• Estimation de l'âge possible seulement dans une fourchette d'âge plus ou moins large</li> </ul>
Vaccination antirabique des animaux contrôlés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Manque de données sur la vaccination : date de réalisation, vaccin utilisé, conservation du vaccin, réalisation pratique...</li> </ul>
Titration des anticorps antirabiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Délai réel entre vaccination et titrage</li> <li>• Reproductibilité de la méthode de titrage</li> <li>• Interprétation du titrage compte tenu des incertitudes liées à la date de vaccination et au délai entre vaccination et titrage, ainsi qu'à l'état sanitaire des animaux</li> <li>• Peu d'études récentes sur des chiens &lt; 12 semaines et sur la réponse sérologique de l'animal vacciné jeune (&lt; 12 semaines)</li> </ul>

## 8 Conclusions du groupe de travail

Dans le cadre d'échanges commerciaux intracommunautaires de carnivores domestiques en provenance d'autres Etats membres de l'UE vers la France, des lots de chiots (et quelques chatons) sont introduits chaque année en France. Dans le cadre de contrôles de ces lots par rapport à la vaccination antirabique, la BNEVP soupçonne un non-respect récurrent de la réglementation : des animaux n'auraient pas l'âge requis de 15 semaines minimum et le protocole de vaccination antirabique ne serait pas respecté (vaccination à l'âge de 12 semaines minimum, puis délai de 21 jours minimum après vaccination et avant importation) en dépit des attestations figurant sur les documents d'accompagnement des animaux (passeports).

Les données bibliographiques et l'analyse des données de 17 lots contrôlés par la BNEVP ont conduit les experts à conclure que le titrage des anticorps antirabiques ne constituait pas un indicateur pertinent pour (i) servir de base à l'élaboration d'un protocole destiné à montrer le non-respect de la réglementation et (ii) déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont inférieurs à 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie, liée ou non à la pratique vaccinale.

Les experts soulignent les points d'attention suivants :

- l'estimation de l'âge d'un chiot peut être réalisée, basée principalement sur l'aspect général et la denture. Elle donne une fourchette d'âge plus ou moins large selon l'individu. Si elle ne permet pas d'attester formellement qu'un chiot est âgé ou non de 15 semaines, elle conduit cependant à identifier d'emblée des animaux beaucoup plus jeunes. Le cas échéant, une deuxième expertise de l'âge environ deux à quatre semaines après la première (intervalle modulable en fonction de la première expertise), lorsqu'elle est possible, peut permettre d'affiner cette estimation de l'âge et confirmer que l'animal était trop jeune au moment de son importation ;  
Malgré le caractère approximatif de cette estimation, ce critère mériterait d'être davantage pris en compte pour évaluer le respect ou non de la réglementation de la vaccination antirabique ;
- le GT rappelle l'importance du respect des dispositions de l'arrêté du 3 avril 2014 (Annexe I, chapitre IV, Soins aux animaux) imposant un contrôle de l'état sanitaire des animaux à leur réception dans l'établissement et son suivi, notamment durant la période d'isolement réglementaire. Il convient en outre de rappeler l'obligation de déclarer à la DDecPP toute suspicion de rage en cas de constatation de signes susceptibles d'être rapportés à cette maladie (art. R223-25 du Code rural et de la pêche maritime) et, en cas de décès de l'animal, une recherche de virus rabique devra être réalisée par un laboratoire agréé pour le diagnostic de la rage ;
- la santé et, plus largement, le bien-être des chiots importés, devraient également être pris en compte, notamment s'il s'agit d'animaux jugés trop jeunes. A ce titre, le règlement (CE) n°1/2005 relatif à la protection animale prévoit que les chiots et chatons ne peuvent être transportés qu'à partir de l'âge de huit semaines (sauf s'ils sont accompagnés de leur mère), et que tous les animaux soient aptes au transport.

Date de validation du rapport d'expertise collective complété : 03 03 2020



## 9 Bibliographie

### 9.1 Publications

- Aghomo, H. O., O. O. Oduye et C. E. Rupprecht. 1990. "The serological response of young dogs to the Flury LEP strain of rabies virus vaccine." *Vet Res Commun* 14 (5):415-25.
- Anne, Jennifer. 2013. "Etude histologique de l'oeil du chiot de la naissance à l'âge de 2 mois." Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- Aubert, M. F. 1992. "Practical significance of rabies antibodies in cats and dogs." *Rev Sci Tech* 11 (3):735-60. doi: 10.20506/rst.11.3.622.
- Aubert, M.F.A. 1993. "Can vaccination validated by the titration of rabies antibodies in serum of cats and dogs be an alternative to quarantine measures? ." *Abstr. Hyg. Commun. Dis* 68 (6):R1–R22.
- Barone, R. 1999. *Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 1, Ostéologie (4ème édition)*. Traduit par. Edité. Paris: Vigot frères
- Barth, R., H. Gruschkau et O. Jaeger. 1985. "Chick embryo cell inactivated rabies vaccine for veterinary use. Laboratory and field experience." In *Rabies in the Tropics*, édité par E. Kuwert, Merieux, C., Koprowski, H., Bögel, K. , 241–248. Berlin: Springer Verlag.
- Berndtsson, L. T., A. K. Nyman, E. Rivera et B. Klingeborn. 2011. "Factors associated with the success of rabies vaccination of dogs in Sweden." *Acta Vet Scand* 53:22. doi: 10.1186/1751-0147-53-22.
- Bovee, K. C., P. F. Jezyk et S. C. Segal. 1984. "Postnatal development of renal tubular amino acid reabsorption in canine pups." *Am J Vet Res* 45 (4):830-2.
- Brenten, Thomas, Penelope J. Morris, Carina Salt, Jens Raila, Barbara Kohn, Florian J. Schweigert et Jürgen Zentek. 2016. "Age-associated and breed-associated variations in haematological and biochemical variables in young labrador retriever and miniature schnauzer dogs." *Veterinary Record Open* 3 (1):e000166. doi: 10.1136/vetreco-2015-000166.
- Casseleux, G. 2007. "Détermination des valeurs usuelles biochimiques et hématologiques du chiot de zéro à huit semaines." Thèse Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Maisons-Alfort.
- Catteau, Marie. 2014. "Température du chiot en période néonatale et pédiatrique : mesure, variation, intérêt pronostique." Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- Center, S. A., W.E. Hornbuckle et J.D. Hoskins. 1995. "The Liver and Pancreas." In *Veterinary pediatrics : dogs et cats from birth to six months. Second edition.* , édité par W. B. S. Company, 190-194. Philadelphia.
- Chappuis, G. 1998. "Neonatal immunity and immunisation in early age: lessons from veterinary medicine." *Vaccine* 16 (14-15):1468-72.
- Cliquet, F., M. Aubert et L. Sagne. 1998. "Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody." *J Immunol Methods* 212 (1):79-87.
- Cliquet, F., C. Seghaier, E. Blasco, J. Barrat, B. Brochier, S. Hammami, P.P. Pastoret et M. Aubert. 2001. "Immunizing young dogs against rabies during mass vaccination may be a challenge." In *Rabies in Asia*, 126-136. Paris B. Dodet and F.X. Meslin Eds. John Libbey Eurotext.
- Cliquet, F., Y. Verdier, L. Sagne, M. Aubert, J. L. Schereffer, M. Selve, M. Wasniewski et A. Servat. 2003. "Neutralising antibody titration in 25,000 sera of dogs and cats vaccinated against rabies in France, in the framework of the new regulations that offer an alternative to quarantine." *Rev Sci Tech* 22 (3):857-66.
- Curgy, JJ. 1965. "Apparition et soudure des points d'ossification des membres chez les mammifères." *Mémoires du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, NS, Série A, Zoologie* 32 (3):175-307.
- Detweiler, DK., J.W. Buchanan, G.F. Fregin et J.D. Hill. 1970. "Part 2, Anatomy and Physiology of the Beagles, Cardiovascular system, p. 232-246." In *The Beagle as an experimental dog, Andersen A.C. and Good L.S.*, édité par 1st Edition, 616. The Iowa State University Press.
- Dionigi, R., Ariszonta, L. Dominioni, F. Gnes et A. Ballabio. 1977. "The effects of total parenteral nutrition on immunodepression due to malnutrition." *Ann Surg* 185 (4):467-74. doi: 10.1097/00000658-197704000-00017.



- Earl, F. L., B. E. Melveger et R. L. Wilson. 1973. "The hemogram and bone marrow profile of normal neonatal and weanling beagle dogs." *Lab Anim Sci* 23 (5):690-5.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2006. "Assessment of the risks of rabies introduction into the UK, Ireland, Sweden, Malta, as a consequence of abandoning the serological test measuring protective antibodies to rabies." *EFSA Journal*, 436:54 p.
- Evans, H.E. et A. De Lahunta. 2013. *Miller's Anatomy of the Dog*. Traduit par. Edité. Saint Louis, Missouri (USA): 4th ed., Saunders, Elsevier.
- Fiszdon, Katarzyna et I. Kowalczyk. 2009. *Litter size, puppy weight at birth and growth rates in different breeds of dogs*. Traduit par. Edité. Vol. 46.
- Ganière, J.P., G. André-Fontaine, J. Blancou, M. Artois et A. Aubert. 1989. "Vaccination antirabique du chien et du chat : taux d'anticorps et résistance à l'épreuve virulente deux ans après l'injection de rappel d'un vaccin additionné d'adjuvant." *Revue Méd. Vét.* 140 (4):281-285.
- Guintard, C. 2013. "Les dents et l'âge chez le Chien." In *Le Chien, morphologie, esthétique, jugement, Société Centrale Canine*, édité par Castor et Pollux, 266 p. Chaumont.
- Habermehl, K.H. 1975. *Die Altersbestimmung bei Haus- und Labortieren*. Traduit par. Edité par Paul Parey. Berlin - Hamburg.
- Haddad, N., J. Blancou, A. Gritli et F. Ben Osman. 1987. "Etude de la réponse immunitaire des chiens tunisiens à la vaccination antirabique." *Maghreb Vétérinaire* 3 (12):61-64.
- Hawthorne, A. J., D. Booles, P. A. Nugent, G. Gettinby et J. Wilkinson. 2004. "Body-weight changes during growth in puppies of different breeds." *J Nutr* 134 (8 Suppl):2027s-2030s. doi: 10.1093/jn/134.8.2027S.
- Hennet, P. et F. Boutoille. 2013. *Guide pratique de stomatologie et de dentisterie vétérinaire*. Traduit par. Edité: Med'Com.
- Herrscher, Estelle. 2013. "Isotopic evidence of breastfeeding and weaning modalities from archaeological bones." *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 48:75-85. doi: 10.1016/j.cnd.2012.12.004.
- Horster, M. et H. Valtin. 1971. "Postnatal development of renal function: micropuncture and clearance studies in the dog." *The Journal of clinical investigation* 50 (4):779-795. doi: 10.1172/JCI106549.
- Kaila, M., J. Marjoniemi et T. Nokireki. 2019. "Comparative study of rabies antibody titers of dogs vaccinated in Finland and imported street dogs vaccinated abroad." *Acta Vet Scand* 61 (1):15. doi: 10.1186/s13028-019-0450-8.
- Kealy, J.K., H. McAllister et J. Graham. 2011. *Diagnostic Radiology and Ultrasonography of the Dog and Cat*. Traduit par. Edité par Saunders 5th Edition. Saint Louis, Missouri (USA).
- Kennedy, Lorna J., Mark Lunt, Annette Barnes, Lorraine McElhinney, Anthony R. Fooks, David N. Baxter et William E. R. Ollier. 2007. "Factors influencing the antibody response of dogs vaccinated against rabies." *Vaccine* 25 (51):8500-8507. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.10.015>.
- Klevar, S., H. R. Høgåsen, R. K. Davidson, I. S. Hamnes, L. Treiberg Berndtsson et A. Lund. 2015. "Cross-border transport of rescue dogs may spread rabies in Europe." *Veterinary Record* 176 (26):672-672. doi: 10.1136/vr.102909.
- Kruth, S. A. et J. A. Ellis. 1998. "Vaccination of dogs and cats: general principles and duration of immunity." *Can Vet J* 39 (7):423-6.
- Lecarpentier, M. et C. Martinez. 2017. "La croissance du chiot de race entre 0 et 2 mois. Etablissement de courbes de référence par race." Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- Lesbre, F. X. 1897. *Contribution à l'étude de l'ossification du squelette des mammifères domestiques principalement aux points de vue de sa marche et de sa chronologie*, A. Rey éd., Lyon. Traduit par. Edité.
- Mansfield, K. L., R. Sayers, A. R. Fooks, P. D. Burr et D. Snodgrass. 2004. "Factors affecting the serological response of dogs and cats to rabies vaccination." *Veterinary Record* 154 (14):423-426. doi: 10.1136/vr.154.14.423.
- Minke, J. M., J. Bouvet, F. Cliquet, M. Wasniewski, A. L. Guiot, L. Lemaitre, C. Cariou, V. Cozette, L. Vergne et P. M. Guigal. 2009. "Comparison of antibody responses after vaccination with

- two inactivated rabies vaccines." *Vet Microbiol* 133 (3):283-6. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.06.024.
- Mojžišová, Jana, Judit Süli, Mária Goldová, Viera Bajová et Štefan Švrček. 2007. "The effect of endoparasitism on the immune response to antirabies vaccination in puppies." *Acta Parasitologica* 52 (2):176-180. doi: 10.2478/s11686-007-0023-2.
- Morters, M. K., S. McNabb, D. L. Horton, A. R. Fooks, J. P. Schoeman, H. R. Whay, J. L. N. Wood et S. Cleaveland. 2015. "Effective vaccination against rabies in puppies in rabies endemic regions." *Veterinary Record*. doi: 10.1136/vr.102975.
- O'Brien, Mauria A., Maureen A. McMichael, Kevin Le Boedec et George Lees. 2014. "Reference intervals and age-related changes for venous biochemical, hematological, electrolytic, and blood gas variables using a point of care analyzer in 68 puppies." *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 24 (3):291-301. doi: doi:10.1111/vec.12162.
- OIE. 2017. Chapitre 8.14. Infection par le virus rabique. In *Code sanitaire pour les animaux terrestres*. Paris : Office International des Epizzoties, Organisation mondiale de la santé animale. En ligne au [www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre\\_rabies.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_rabies.htm) (accessed on 13 July 2018).
- OIE. 2018. Chapitre 2.1.17. Rage (infection par le virus rabique et autres lyssavirus). In *Manuel des test de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres*. [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/2.01.17\\_RABIES.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.01.17_RABIES.pdf). Paris
- OIE. 2019. Maladies, infections et infestations de la Liste de l'OIE en vigueur en 2019. Consulté.
- OMS. 2013. "WHO Expert Consultation on rabies." In *Technical Report Series.*, édité par Second report. Geneva: World Health Organization World Health Organization, 150 p.
- OMS. 2018. "WHO Expert Consultation on rabies." In *Technical Report Series*, édité par Third report. Geneva: World Health Organization World Health Organization, 183 p.
- Pimburage, R. M. S., M. Gunatilake, O. Wimalaratne, A. Balasuriya et Kadn Perera. 2017. "Sero-prevalence of virus neutralizing antibodies for rabies in different groups of dogs following vaccination." *BMC Vet Res* 13 (1):133. doi: 10.1186/s12917-017-1038-z.
- Poffenbarger, E. M., S. L. Ralston, M. L. Chandler et P. N. Olson. 1990. "Canine neonatology. Part 1. Physiologic differences between puppies and adults." *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 12 (11):1601-1609.
- Précausta, P., J.P. Soulebot, G. Chappuis, A. Brun, M. Bugand et H.G. Petermann. 1985. "Nil cell inactivated tissue culture vaccine against rabies. Immunisation of Carnivores." In *Rabies in the Tropics*, édité par. Mérieux C Kuwert E, Koprowski H, et al, 227-240. Berlin: Springer Verlag.
- Robardet, E., D. Ilieva, E. Iliev, E. Gagnev, E. Picard-Meyer et F. Cliquet. 2014. "Epidemiology and molecular diversity of rabies viruses in Bulgaria." *Epidemiol Infect* 142 (4):871-7. doi: 10.1017/s0950268813001556.
- Rosset, E., B. Rannou, G. Casseleux, K. Chalvet-Monfray et S. Buff. 2012. "Age-related changes in biochemical and hematologic variables in Borzoi and Beagle puppies from birth to 8 weeks." *Vet Clin Pathol* 41 (2):272-82. doi: 10.1111/j.1939-165X.2012.00415.x.
- Rota Nodari, E., S. Alonso, M. Mancin, M. De Nardi, S. Hudson-Cooke, C. Veggiato, G. Cattoli et P. De Benedictis. 2017. "Rabies Vaccination: Higher Failure Rates in Imported Dogs than in those Vaccinated in Italy." *Zoonoses Public Health* 64 (2):146-155. doi: 10.1111/zph.12268.
- Rubin, D.B. 1987. *Multiple Imputation for Nonresponse in Surveys*. Traduit par. Edité. New York: J. Wiley & Sons.
- Sage, G., P. Khawplod, H. Wilde, C. Lobaugh, T. Hemachudha, W. Tepsumethanon et B. Lumlerdaecha. 1993. "Immune response to rabies vaccine in Alaskan dogs: failure to achieve a consistently protective antibody response." *Trans R Soc Trop Med Hyg* 87 (5):593-5.
- Schmid, E. 1972. *Atlas of animal bones for prehistorians, archaeologists and quaternary geologists*. Traduit par. Edité par Elsevier. Amsterdam, London, New York.
- Seghaier, C., F. Cliquet, S. Hammami, T. Aouina, A. Tlatli et M. Aubert. 1999. "Rabies mass vaccination campaigns in Tunisia: are vaccinated dogs correctly immunized?" *Am J Trop Med Hyg* 61 (6):879-84.

- Sihvonen, L., K. Kulonen, E. Neuvonen et K. Pekkanen. 1995. "Rabies antibodies in vaccinated dogs." *Acta Vet Scand* 36 (1):87-91.
- Silver, I.E. 1969. "The ageing of domestic animals." In *Science and Archaeology. A survey of progress and research*, édité par D. R. Brothwell et E. S. Higgs, 250-268. London: Thames and Hudson.
- Sugiyama, M., R. Yoshiki, Y. Tatsuno, S. Hiraga, O. Itoh, K. Gamoh et N. Minamoto. 1997. "A new competitive enzyme-linked immunosorbent assay demonstrates adequate immune levels to rabies virus in compulsorily vaccinated Japanese domestic dogs." *Clin Diagn Lab Immunol* 4 (6):727-30.
- Sykes, J. E. 2010. "Immunodeficiencies caused by infectious diseases." *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 40 (3):409-23. doi: 10.1016/j.cvsm.2010.01.006.
- Tasioudi, K. E., D. Papatheodorou, P. Iliadou, P. Kostoulas, M. Gianniou, E. Chondrokouki, O. Mangana-Vougiouka et M. E. Mylonakis. 2018. "Factors influencing the outcome of primary immunization against rabies in young dogs." *Vet Microbiol* 213:1-4. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.11.006.
- Tepsumethanon, Weera, Chaiyaporn Polsuwan, Boonlert Lumlertdaecha, Phakamat Khawplod, Thiravat Hemachudha, Supawat Chutivongse, Henry Wilde, Montri Chiewbamrungrat et Praphan Phanuphak. 1991. "Immune response to rabies vaccine in Thai dogs: A preliminary report." *Vaccine* 9 (9):627-630. doi: [https://doi.org/10.1016/0264-410X\(91\)90186-A](https://doi.org/10.1016/0264-410X(91)90186-A).
- Wallace, R. M., A. Pees, J. B. Blanton et S. M. Moore. 2017. "Risk factors for inadequate antibody response to primary rabies vaccination in dogs under one year of age." *PLoS Negl Trop Dis* 11 (7):e0005761. doi: 10.1371/journal.pntd.0005761.

## 9.2 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

## 9.3 Législation et réglementation

Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales, JORF n°0187 du 13 août 2013.

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027831750>

Arrêté du 9 décembre 2014 relatif aux conditions de police sanitaire régissant les échanges commerciaux et non commerciaux au sein de l'UE ainsi que les importations et mouvements non commerciaux en provenance d'un pays tiers de certains carnivores

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000029892936&categorieLien=id>

Décision 2000/258/CE du Conseil, du 20 mars 2000, désignant un institut spécifique responsable pour l'établissement des critères nécessaires à la standardisation des tests sérologiques de contrôle de l'efficacité des vaccins antirabiques

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32000D0258&from=FR>

Directive 90/425/CEE du Conseil, du 26 juin 1990, relative aux contrôles vétérinaires et zootechniques applicables dans les échanges intracommunautaires de certains animaux vivants et produits dans la perspective de la réalisation du marché intérieur

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM%3A112050>

Directive 92/65/CEE du Conseil du 13 juillet 1992 définissant les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans la Communauté d'animaux, de spermatozoïdes, d'ovules et d'embryons non soumis, en ce qui concerne les conditions de police sanitaire, aux réglementations communautaires spécifiques visées à l'annexe A section I de la directive 90/425/CEE.

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000705712&categorieLien=id>

Directive 2013/31/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 juin 2013 modifiant la directive 92/65/CEE du Conseil en ce qui concerne les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans l'Union de chiens, de chats et de furets.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013L0031&from=fr>

LOI n° 99-5 du 6 janvier 1999 relative aux animaux dangereux et errants et à la protection des animaux.

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000558336&categorieLien=id>

Règlement (CE) n°1/2005 du Conseil du 22 décembre 2004 relatif à la protection des animaux pendant le transport et les opérations annexes et modifiant les directives 64/432/CEE et 93/119/CE et le règlement (CE) n° 1255/97

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex:32005R0001>

Règlement (UE) n°576/2013 du Parlement européen et du Conseil du 12 juin 2013 relatif aux mouvements non commerciaux d'animaux de compagnie et abrogeant le règlement (CE) n° 998/2003.

[https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX\\_%3A32013R0576](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX_%3A32013R0576)

Règlement d'exécution (UE) n°577/2013 de la Commission du 28 juin 2013 concernant les modèles de documents d'identification relatifs aux mouvements non commerciaux de chiens, de chats et de furets, l'établissement de listes de territoires et de pays tiers ainsi que les exigences en matière de format, de présentation et de langues applicables aux déclarations attestant la conformité à certaines conditions prévues par le règlement (UE) n°576/2013 du Parlement européen et du Conseil

[https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex\\_%3A32013R0577](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex_%3A32013R0577)

---

## **ANNEXES**

---

## Annexe 1 : Lettre de saisine

2018 -SA- 0 0 3 5



COURRIER ARRIVE

28 FEV. 2018

DIRECTION GENERALE

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Direction Générale de l'Alimentation

Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires  
et phytosanitaires251 rue de Vaugirard  
75352 Paris cedex 15  
FRANCEMonsieur le Directeur Général  
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,  
de l'environnement et du travail27-31 avenue du Général Leclerc - BP 19  
94701 MAISONS - ALFORT CEDEX

Paris, le

23 FEV. 2018

Dossier suivi par Karine Guillaume et Franck Verger  
Mél : bnevpt.dgal@agriculture.gouv.fr  
Tél. : +33 (0)1 56 29 15 80

Référence : KG/MM/C036/18

**Objet : Saisine relative à la problématique RAGE.**

Conformément à l'article L. 261-2 du code rural et de la pêche maritime, j'ai l'honneur de solliciter l'avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail concernant la problématique de la gestion de la rage.

**La demande concerne l'interprétation des résultats des titrages sériques**

La réglementation relative aux mouvements commerciaux de carnivores domestiques en provenance d'autres États membres de l'Union européenne vers la France précise que la vaccination des chiots doit se faire à l'âge de 12 semaines et qu'un délai de trois semaines (21 jours) doit être respecté, après l'injection pour que la vaccination soit considérée comme valable.

Selon l'article 5 de la Directive 90/425, l'autorité compétente peut, sur les lieux de destination des animaux, vérifier par sondage et de nature non discriminatoire le respect des exigences réglementaires. Il est donc possible de procéder à des prélèvements d'échantillons.

La Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires (BNEVP) dresse le constat que de nombreux mouvements commerciaux de carnivores domestiques en provenance d'États membres de l'Union européenne vers la France, sont réalisés sans respecter la réglementation européenne concernant la vaccination antirabique.

La BNEVP, à partir des éléments recueillis lors d'enquêtes judiciaires où des échantillons ont été prélevés, observe fréquemment 30 à 70 % des animaux présentant un titrage antirabique inférieur à 0,5 U.I./ml.

Des éléments d'enquêtes ont d'ailleurs été étudiés en collaboration avec le Laboratoire de l'ANSES à Nancy (Mme CLIQUET)

Je souhaiterais disposer d'un protocole permettant, sur la base des résultats d'analyse, de déterminer la conformité ou non du statut des animaux composant le lot expédié au regard de la vaccination antirabique, et permettant de déterminer si le protocole vaccinal réglementaire (primo-vaccination à 12 semaines et délai de 21 jours) est respecté.

Si un tel protocole était possible, il conviendrait de connaître :



- Le nombre minimum d'animaux constituant un lot et le pourcentage de chiens à prélever dans un lot pour une meilleure interprétation des titrages sériques.
- A partir de quel pourcentage de chiots pour lesquels le titrage est inférieur à 0,5 I.U/ml, il est possible de conclure au non respect du protocole vaccinal.

En général, les titrages sont réalisés 22 à 25 jours après la vaccination, sur des chiots réputés valablement vaccinés au sens de la réglementation, à savoir, primo-vaccination à l'âge de 12 semaines minimum et mouvement après un délai de 21 jours minimum. Or, l'apparence juvénile de ces animaux amène les enquêteurs à estimer que leur âge est inférieur à celui déclaré, et qu'ils ont donc été vaccinés à moins de 12 semaines.

Le vaccin utilisé est très souvent monovalent (RABISIN de Merial).

Je souhaiterais savoir si le protocole serait valable quel que soit le type de vaccin employé.

**Délai justifié**

Je souhaiterais pouvoir disposer de votre avis dans un délai de trois mois à compter de la date de réception de ce courrier et que le LNR sérologie et rage soit associé au groupe d'expert.

**Destinataire pour la réponse mail**

-bnevp.dgal@agriculture.gouv.fr

Mes services se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information complémentaire.

Je vous remercie de bien vouloir m'accuser réception de la présente demande.

Directeur Général de l'Alimentation,  
Patrick DESHAUMONT

## Annexe 2 : Modifications anatomiques et physiologiques du chien en croissance

### 1 Aspects anatomiques

#### 1.1 Aspect général de l'animal

**Démarche, tonus musculaire et conformation générale :** jusqu'à l'âge d'une semaine, le chiot rampe, puis il commence à se déplacer avec une démarche peu assurée jusqu'à l'âge de trois semaines, mais parfois jusqu'à l'âge de sept à huit semaines. Ses formes, notamment sa tête, sont en général arrondies. Ensuite, le tonus musculaire se développe et la démarche s'affirme, lui donnant une allure de jeune chien au fil des semaines. La morphologie évolue progressivement vers celle d'un chien adulte. Selon la taille définitive de l'animal, le format adulte sera atteint plus ou moins vite : vers l'âge de neuf mois à un an chez les petites races, entre un et un an et demi chez les races moyennes, autour de deux ans chez les grandes races et entre deux et trois ans chez les races géantes.

**Aspect de la robe :** le premier poil du chiot est très fin et soyeux. Vers cinq ou six mois et jusqu'à un an, il tombe (première mue) et sera remplacé (plus ou moins rapidement, le plus souvent à l'âge d'un an) par le poil définitif.

**Œil :** son développement est terminé vers l'âge de 6 semaines (Anne (2013) citant Clerc). Ainsi, la séparation des paupières a lieu vers l'âge de deux semaines, de même que le développement du cristallin et de la cornée. L'évolution de la rétine peut se poursuivre jusqu'à l'âge de six semaines après la naissance chez le jeune. Par la suite, chez le chien adulte, l'œil peut devenir opalescent avec l'âge. La cataracte sénile débute vers 7 ou 8 ans chez le chien, mais là aussi, la fourchette est très variable selon les races et les individus. En outre, certaines races prédisposées peuvent développer des cataractes chez des animaux plus jeunes, avec une importante variabilité.

**Descente testiculaire :** généralement, les deux testicules doivent être dans le scrotum de façon physiologique à l'âge de deux mois.

Par conséquent, l'aspect de la robe, le développement de l'œil et la descente testiculaire ne constituent pas des critères d'intérêt pour estimer l'âge d'un chiot de deux à quatre mois.

#### 1.2 Ossification

Chez les Mammifères, la croissance est limitée dans le temps, de sorte que la croissance des os s'arrête à un stade qui varie selon trois principaux facteurs : l'espèce, l'os considéré et l'épiphyse ou le centre d'ossification. Même si différents auteurs (Barone 1999, Curgy 1965, Habermehl 1975, Kealy, McAllister et Graham 2011, Lesbre 1897, Schmid 1972, Silver 1969) ne mentionnent pas les races utilisées pour leurs référentiels, tous proposent les mêmes chronologies de soudures épiphysaires. Ainsi, les phalanges sont les os les plus précocement soudés après la naissance (entre quatre et sept mois), de même que le centre acétabulaire du coxal (entre cinq et six mois). Les os métacarpiens et métatarsiens se soudent entre cinq et dix mois. Les os longs sont, quant à eux, un peu plus tardifs (entre sept et 18 mois). Les derniers à s'ossifier sont la tubérosité ischiatique, la crête iliaque (sauf exception, Evans et De Lahunta (2013)), la tubérosité supra-glénoïdale et les centres vertébraux (Tableau 7).

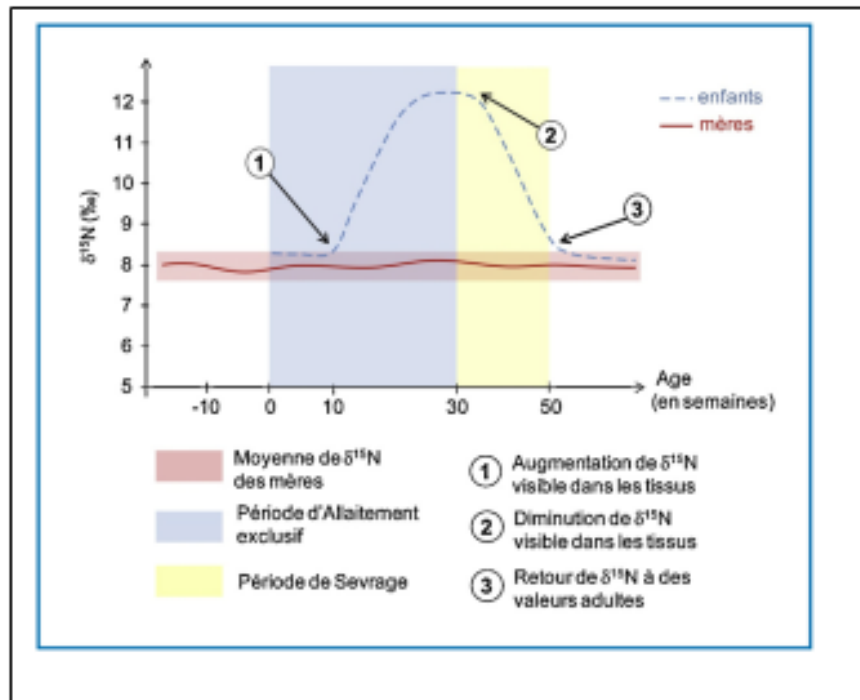
**Tableau 7 Tranches d'âge pour l'épiphyssation des principaux os du squelette selon différents auteurs**

âge chien d'après le squelette	Barone	Lesbre	Curgy	Silver	Schmidt	Habermehl	Kealy
	1976	1897	1965	1969	1972	1975	2011
épiphyses des centres vertébraux	1,5-2 ans	1,5-2 ans			20-24 mois		
lame et corps		3-6 mois					
coxal (centre acétabulaire)	6 mois	6 mois	5.5-6mois	6 mois	6 mois		5 mois
scapula (centre coracoidien)	5-8 mois		6.25 mois	6-7 mois		3-5 mois	
humérus dist.	7-8 mois	7-8 mois	6.25 mois	8-9 mois	6-8 mois	5-8 mois	6-8 mois
phalange 2 (moyenne) prox.	6-7 mois	5-7 mois	6.75 mois	7 mois	6 mois	4-5 mois	6 mois
phalange 1 (proximale) prox.	6-7 mois	5-7 mois	6.75 mois	7 mois	6 mois	4-5 mois	6 mois
métacarpe dist.	6-7 mois	7-10 mois	7.75 mois	8 mois	6 mois	5-7 mois	6 mois
métatarse dist.	6-7 mois	7-10 mois	8.6 mois	10 mois	6 mois	5-7 mois	6 mois
calcanéum prox.	6-7 mois	6-16 mois	presq 8 mois	13-16 mois	1.25 an	3-7 mois	3-8 mois
ulna prox.	7-8 mois	7-11 mois	9.25 mois	9-10 mois	1.25 an	5-8 mois	6-10 mois
tibia dist.	9-10 mois	9-16 mois	10.75 mois	13-16 mois	1.25 an	5-8/15 mois	6-12 mois
radius prox.	9-10 mois	9-12 mois	11.75 mois	11-12 mois	6-8 mois	5-8 mois	6-10 mois
radius dist.	10-12 mois		11.75 mois	11-12 mois	1.5 an	6-9 mois	8-12 mois
ulna dist.	9-12 mois	9-15 mois	11.75 mois	11-12 mois	1.25 an	6-8 mois	8-12 mois
Fémur grand troch.							8-13 mois
Fémur petit troch.							8-11 mois
fémur prox.	9-12 mois	12 (9-18) mois	11.75 mois	1,5 an	1.5 an	9-10 mois	6-10 mois
fémur dist.	9-12 mois	12 (10-18) mois	11.75 mois	1,5 an	1.5 an	6-8 mois	7-11 mois
fibula dist.		11 (8-15) mois	11.75 mois	15 mois		5-8 mois	7-12 mois
fibula prox.		12 (10-18) mois	12.75 mois	15-18 mois		6-10 mois	8-12 mois
humérus prox.	12-15 mois	12-15 mois	14.75 mois	15 mois	1 an	10-13 mois	10-13 mois
Tubérosité tibiale							6-8 mois
tibia prox.	10-12 mois	12 (9-18) mois	(10.25)14.75 mois	1,5 an	1.5 an	8-12 mois	
tubérosité ischiatique	10-12 mois	20-24 mois	18-24 mois	2 ans			8-10 mois
crête iliaque	18-24 mois	20-24 mois	18-24 mois				12-24 mois
tub. Supraglén. -scapula			1,5-2 ans				
tuber scapulae							4-7 mois
symphyse pelvienne							5 ans

Dans le contexte de la saisine, l'évaluation des soudures épiphysaires, par examen radiographique, manque de précision avec des fourchettes de plusieurs mois. De plus, aucun os ne se soude avant l'âge de quatre mois. Un chiot de deux mois et un chiot de quatre mois sont ainsi au même stade d'épiphyssation osseuse. Par conséquent, le stade d'ossification n'est pas un critère d'intérêt pour estimer l'âge d'un chiot entre deux et quatre mois.

### 1.3 Rapports isotopiques (os, dent ou poil) de $\delta^{15}\text{N}$ permettant de spécifier la proximité ou non du sevrage

Les isotopes stables du carbone et de l'azote renseignent sur le type d'alimentation d'un humain (Figure 11). Il semble qu'avec un prélèvement de poil, entre un mois et cinq mois, on puisse calibrer l'âge. En effet, le sommet du poil a été mis en place à un moment où l'animal tète, et a donc une signature isotopique d'alimentation lactée, alors que la base du follicule pileux (mise en place ultérieurement) s'en éloigne progressivement après le sevrage, au fur et à mesure de sa croissance. En calibrant ce processus avec des chiots connus (grand et petit format, poil court et poil long), cette technique pourrait s'avérer intéressante, mais il n'y a pas d'étude sur le sujet à ce jour.



**Figure 11 Evolution des compositions isotopiques en azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ) dans tous les tissus de couples mères-enfants (Homme) durant la période d'allaitement et de sevrage (Herrscher 2013)**

Si cette méthode était expérimentée et validée chez le chien, elle pourrait venir compléter les méthodes ci-dessus et contribuer à estimer l'âge chez le chiot entre deux et quatre mois.

## 2 Aspects physiologiques

### 2.1 Maturation de la fonctionnalité des organes

- **Le rein**

Par manque de maturité du rein, une protéinurie et une glucosurie sont présentes chez le chiot, mais elles disparaissent avec le développement de la fonction rénale. La filtration glomérulaire passe de 21 % à la naissance à 53 % vers l'âge de huit semaines (Casseleux 2007). Bovee, Jezyk et Segal (1984) affirment retrouver cette protéinurie dans 98 % des échantillons avec des quantités variées. Les protéines peuvent être présentes sous forme de traces ou de manière plus importante. Leur présence est plus fréquente chez le chiot nouveau-né. La glucosurie a déjà été décrite par d'autres auteurs comme étant un phénomène physiologique chez le chiot de moins de 8 semaines. Elle est due à l'immaturation de la fonction tubulaire rénale (Casseleux 2007). Horster et Valtin (1971) montrent l'évolution progressive des paramètres de la fonction rénale jusqu'à l'âge de 10 semaines, âge auquel ils atteignent les valeurs des paramètres adultes.

- **Le foie**

Center, Hornbuckle et Hoskins (1995) rapportent que la plupart des fonctions métaboliques du foie sont inopérantes à la naissance. En effet, les activités du foie sont très limitées, notamment le métabolisme du glycogène et des acides biliaires, mais aussi les biotransformations et la détoxification. Ainsi, les concentrations sanguines d'albumine, de globuline et de facteurs de coagulation sont très faibles par rapport à celles des adultes. Elles n'atteignent leur valeur définitive que vers l'âge de huit semaines (Poffenbarger *et al.* 1990).

## 2.2 Evolution des constantes biologiques

### • Pression artérielle

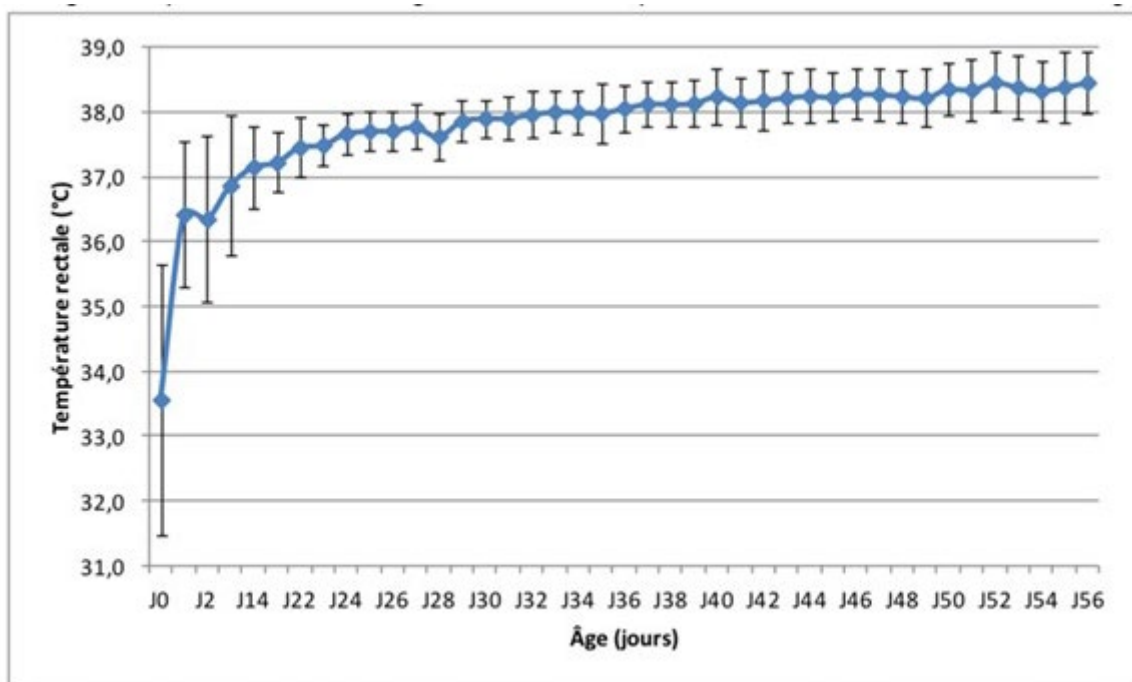
La pression artérielle chez le chiot est plus faible que chez l'adulte (Poffenbarger *et al.* 1990, Detweiler *et al.* 1970). Chez le chiot âgé d'une à quatre semaines, les valeurs usuelles fluctuent entre 30 et 70 millimètres de mercure. La pression sanguine varie en fonction de nombreux facteurs comme la glycémie, la température du chiot, l'activité. Elle augmente progressivement avec l'âge pour atteindre les valeurs usuelles de l'adulte à partir de l'âge de six semaines. Toutefois, chez certains chiots, ces valeurs ne sont atteintes que beaucoup plus tard, à l'âge de plusieurs mois (Poffenbarger *et al.* 1990).

### • Température corporelle

Le chiot n'a pas la capacité de réguler sa température corporelle à la naissance. Cette immaturité est directement liée à celle de l'hypothalamus (Casseleux 2007). De plus, les phénomènes cardiovasculaires réflexes (vasoconstriction et frissonnement) ne sont pas présents chez le chiot avant l'âge de six jours (Poffenbarger *et al.* 1990).

La température rectale du chiot nouveau-né varie entre 35,6°C et 36,1°C, puis elle augmente pour atteindre la valeur de 37,8°C vers l'âge d'une semaine, et reste constante jusqu'à quatre semaines (Casseleux 2007, Poffenbarger *et al.* 1990). Catteau (2014) a également établi une courbe d'évolution de la température avec l'âge du chiot, avec une évolution lente de 37°C à 38,5°C entre l'âge de deux semaines et de huit semaines (Figure 12).

**Figure 12 Evolution de la température rectale de la naissance au sevrage (n=437) (Catteau 2014)**



Dans l'étude de Catteau (2014), la race n'influence pas la température en période néonatale (jusqu'à trois semaines), mais elle a une influence entre trois et huit semaines d'âge. Catteau conclut qu'il est important de souligner que, dès la naissance, la température est une valeur individuelle et qu'il n'y a pas de lien significatif entre les températures corporelles de chiots de la même portée



- **Profil hématologique**

- Lignée blanche

Les valeurs usuelles des leucocytes chez le chien adulte en bonne santé vont de  $6,0$  à  $13,0 \cdot 10^3$  par  $\text{mm}^3$ . Les valeurs trouvées dans l'étude de Casseleux (2007) vont de  $9,8 \pm 1,9 \cdot 10^3$  à  $17,1 \pm 4,8 \cdot 10^3$  par  $\text{mm}^3$  (sur neuf à 16 chiots de la naissance à huit semaines). A la naissance, le chiot peut être considéré en leucocytose. C'est à ce moment que la valeur des leucocytes est maximale. Elle chute ensuite pendant les trois premières semaines, puis augmente pour atteindre à nouveau des valeurs correspondant à une leucocytose chez l'adulte. Cette baisse des leucocytes pourrait être dû au stress de la croissance rapide du chiot qui agirait sur la moelle (Earl, Melveger et Wilson 1973). L'étude de Brenten *et al.* (2016), portant sur le suivi de paramètres hématologiques et biochimiques chez 24 Labradors et 25 Schnauzers nains entre huit et 52 semaines d'âge, rapporte une baisse du taux de leucocytes, avec des fluctuations dans le temps.

- Lignée rouge

**Hématocrite** : chez le chien adulte en bonne santé, les valeurs usuelles s'étalent de 38 à 57 %. L'étude de Casseleux (2007) montre que tous les hématocrites des chiots âgés de moins de huit semaines sont inférieurs aux valeurs usuelles de l'adulte, variant entre  $46,5 \pm 6,1$  % (à la naissance) et  $25,8 \pm 2,2$  % (minimum à cinq semaines). Dans une autre étude portant sur 68 chiots sains, suivis de quatre jours à 12 semaines d'âge, et 30 chiens adultes il n'a pas été observé de relation linéaire entre l'hématocrite et l'âge des animaux (O'Brien *et al.* 2014). Brenten *et al.* (2016) notent une augmentation de l'hématocrite, de 29,9 % à l'âge de huit semaines à 35,8 % (34,1 à 37,7) à 16 semaines et à 43,9 % à 52 semaines.

**Hémoglobine** : sa concentration chez le chien adulte en bonne santé est comprise entre 13,2 et 19,2 g/dL. Selon Casseleux (2007), la concentration en hémoglobine chez les chiots âgés de moins de huit semaines est comprise entre  $15,3 \pm 2,0$  (à la naissance) et  $8,5 \pm 1,1$  g/dL (à l'âge de cinq semaines). A la naissance, elle est maximale puis elle chute pendant cinq semaines avant d'augmenter lentement jusqu'à l'âge de huit semaines ( $10,3 \pm 0,8$  g/dL) dans cette étude. O'Brien *et al.* (2014) n'ont pas trouvé de relation linéaire entre l'hémoglobine et l'âge des animaux. Brenten *et al.* (2016) rapportent une augmentation de l'hémoglobine au cours du temps.

#### Hématies

- Comptage : les valeurs usuelles chez le chien adulte en bonne santé s'échelonnent de  $5,6$  à  $8,5 \cdot 10^6$  hématies/ $\text{mm}^3$ . Les valeurs moyennes trouvées chez les chiots par Casseleux (2007) sont inférieures à celles de l'adulte, variant entre  $5,2 \cdot 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,6 \cdot 10^6/\text{mm}^3$  (à la naissance) et  $3,7 \cdot 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,3 \cdot 10^6/\text{mm}^3$  (à l'âge de trois semaines). L'évolution montre une baisse du nombre d'hématies jusqu'à trois à quatre semaines puis ce paramètre augmente progressivement jusqu'à huit semaines. Toutefois, même à huit semaines, la valeur est bien inférieure aux valeurs usuelles chez l'adulte. Cette augmentation se poursuit au cours du temps, allant de  $4,6 \cdot 10^6/\text{mm}^3$  (4,44-4,78) à l'âge de huit semaines à  $5,48$  (5,21-5,79) à 16 semaines et à  $6,46 \cdot 10^6/\text{mm}^3$  (6,03-6,98) à l'âge de 52 semaines, selon Brenten *et al.* (2016).
- Volume globulaire moyen (VGM) : chez le chien adulte en bonne santé, ce volume varie entre 62 et 71 fL (femtolitre,  $10^{-15}$  L). Dans l'étude de Casseleux (2007), le VGM est supérieur aux valeurs usuelles tolérées chez l'adulte pendant les trois premières semaines de vie du chiot, puis il diminue progressivement jusqu'à six à huit semaines pour atteindre des valeurs avoisinant les valeurs usuelles de l'adulte fluctuant entre  $89 \pm 4$  et  $66 \pm 3$  fL.
- Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) : chez le chien adulte en bonne santé, ce facteur est compris entre 19 et 25 pg ( $10^{-12}$  g). Chez le chiot, les valeurs s'échelonnent de  $29 \pm 1,4$  (à la naissance) à  $21 \pm 1,2$  pg (à l'âge de sept à huit semaines). A la naissance, la teneur en hémoglobine est maximale, puis elle chute progressivement pendant les huit premières semaines de vie. La TCMH augmente ensuite progressivement jusqu'à 22,4 pg (21,9-22,8) à 16 semaines et à 23,3 pg (22,8-23,8) à l'âge de 52 semaines, selon l'étude de Brenten *et al.* (2016).
- Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) : chez le chien adulte sain, cette valeur fluctue entre 32 et 66 g/dL. Chez le chiot, les valeurs trouvées par Casseleux (2007)



varient entre  $32 \pm 2,0$  et  $35 \pm 2,9$  g/dL. Ainsi, les hématies du chiot sont normalement concentrées en hémoglobine.

On peut noter que, chez le chiot, le volume globulaire moyen et la teneur en hémoglobine plus élevés que chez l'adulte compensent le nombre plus faible d'hématies.

Il est intéressant de remarquer que le minimum de l'hématocrite est plus tardif que celui du comptage des globules rouges. Ce phénomène est dû aux variations du volume des hématies. En effet, le volume des hématies diminuant jusqu'à six à huit semaines, l'augmentation du nombre des hématies ne la compense pas. Ainsi, le volume total des cellules sanguines, et donc l'hématocrite, continue de diminuer.

**Réticulocytes** : chez le chien adulte en bonne santé, les réticulocytes représentent moins de 2 % des hématies. Les valeurs trouvées chez les chiots par Casseleux (2007) s'échelonnent entre  $4 \pm 2$  et  $14 \pm 7$  %. Ces valeurs, supérieures à celles de l'adulte, traduisent un renouvellement rapide des hématies. Dans l'étude de Brenten *et al.* (2016), le nombre de plaquettes varie au cours du temps, augmentant entre huit et 12 semaines d'âge, puis diminuant jusqu'à 52 semaines.

- **Profils biochimique et électrolytique**

L'activité de la créatine kinase (CK) plasmatique chez le chien adulte en bonne santé doit être inférieure à 150 UI/L. Les valeurs trouvées chez le chiot de moins de huit semaines sont toutes supérieures à la valeur maximale chez l'adulte. Elles varient de  $2\,099 \pm 1\,466$  et  $292 \pm 31$  UI/L (Casseleux 2007). L'activité de la CK est la plus élevée au moment de la naissance, puis elle chute à des valeurs avoisinant les 300 UI/L à l'âge de sept semaines. Selon Casseleux, ce phénomène pourrait être la conséquence du traumatisme de la mise-bas et notamment le passage de la filière pelvienne. Ce phénomène provoquerait des lésions musculaires passant inaperçues cliniquement, mais qui seraient révélées par une augmentation du taux des CK. Des valeurs similaires de CK sont rapportées dans l'étude de Rosset *et al.* (2012) chez des chiots Beagles et Barzoï.

Dans l'étude d'O'Brien *et al.* (2014), il n'a pas été trouvé de relation linéaire entre l'âge et plusieurs électrolytes et paramètres biochimiques (potassium, magnésium, chlore, calcium ionisé, glucose et urée), ni de changement significatif des valeurs de pH au cours du temps. Brenten *et al.* (2016) ont suivi plusieurs paramètres (protéines totales, albumine, phosphatases alcalines, transaminases, urée, créatinine, cholestérol total, triglycérides, glutamate déshydrogénase, calcium, phosphate). Selon les paramètres, des augmentations, diminutions ou fluctuations sont observées entre huit et 52 semaines d'âge. Il convient de noter que, pour la période d'âge comprise entre huit et 16 semaines, les variations sont souvent faibles d'un point de vue biologique, avec des écarts-types se chevauchant à plusieurs reprises.

- **Sevrage alimentaire**

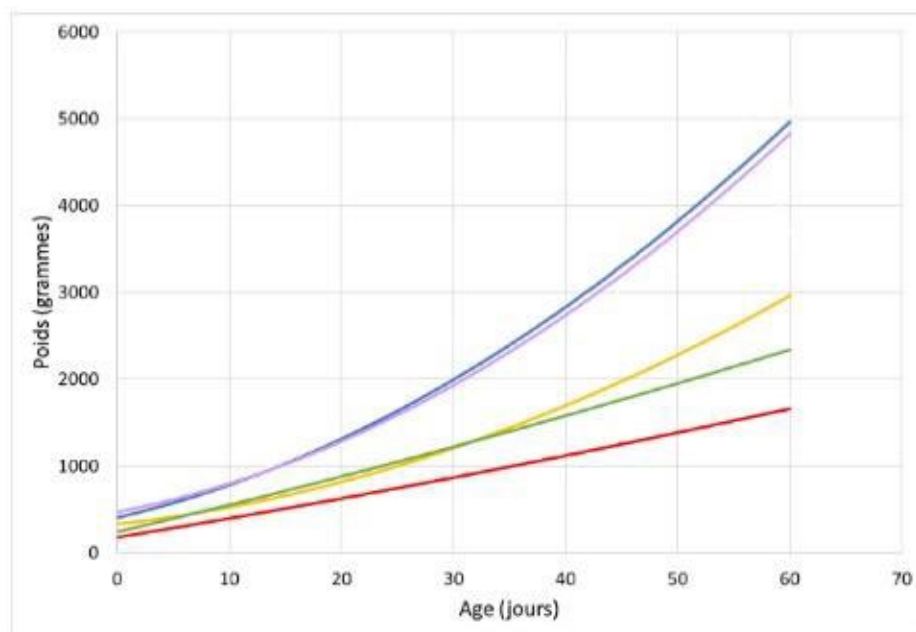
Le sevrage se déroule sur une période d'environ trois à quatre semaines et se termine vers l'âge de sept à huit semaines. A deux mois, l'animal est sevré. Le sevrage a comme conséquence physiologique de modifier la qualité des sécrétions digestives afin d'adapter le tube digestif à la digestion des nouveaux aliments apportés. Les modifications observées seront dépendantes de la date du sevrage et de la rapidité ou de la progressivité de celui-ci.

- **Comportement**

Le jeune chiot est naturellement joueur et explore son environnement. Son comportement va évoluer avec l'âge, cette évolution étant très dépendante de l'environnement social auquel l'animal est soumis, notamment la présence d'autres chiens et les comportements d'apprentissage ou non des humains avec lui.

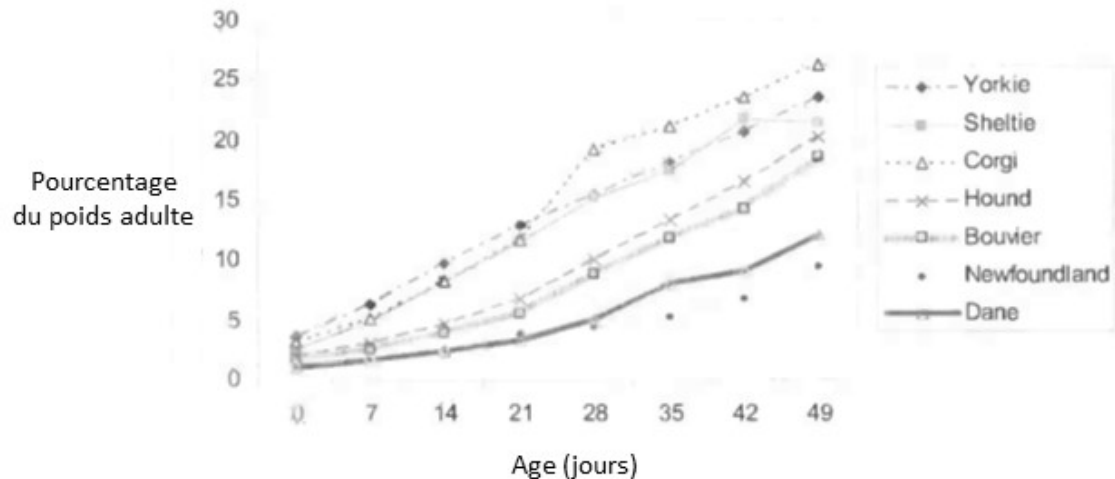
### Annexe 3 : Variabilité de la croissance pondérale du chien selon la race

Chez le chien, la croissance pondérale varie considérablement en fonction de la race (Figure 13). Le taux de croissance (pourcentage du poids adulte) est également très différent entre une grande et une petite race. Ainsi, à l'âge de sept semaines, un Dogue Allemand ou un Terre-Neuve a atteint à peine 10 % de son poids adulte, alors qu'un Yorkshire ou un Corgi aura dépassé les 20 % (Figure 14). La difficulté de l'utilisation des courbes moyennes du taux de croissance provient du fait qu'outre le facteur racial, ce taux peut être influencé par de nombreux facteurs, y compris à un stade précoce : poids des parents, parité et poids de la mère, durée de gestation, type de mise bas, sexe du chiot, taille de la portée, poids de naissance, taux de croissance entre 0 et 2 jours, *etc.* (Lecarpentier et Martinez 2017). À partir du sevrage, la valeur du poids vif peut en outre varier fortement en fonction de l'alimentation.



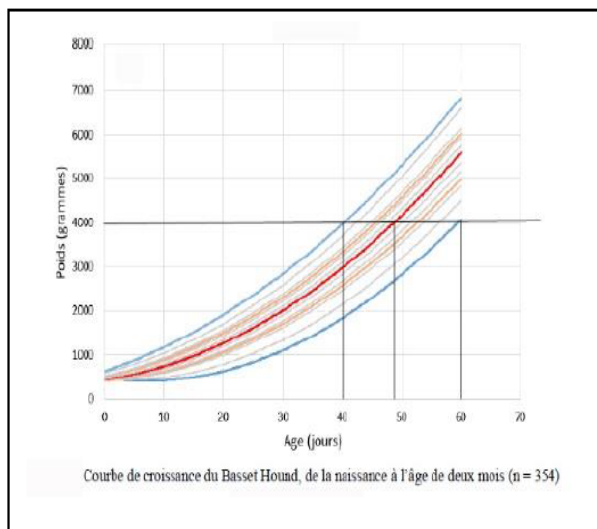
**Figure 13** Courbes de croissance pondérale médiane de l'ensemble de l'espèce canine et de différentes races (n = 4 159 chiots) (d'après Lecarpentier et Martinez (2017))

(Vert = espèce canine en général, Rouge = chien de petit format ; Jaune = format moyen ; Bleu = grand format ; Violet = format géant)

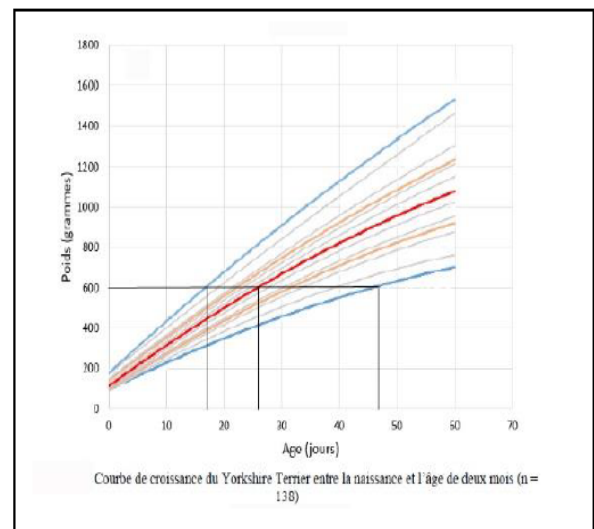


**Figure 14 Taux de croissance (en pourcentage du poids adulte) chez sept races de chiens (d'après Fiszdon et Kowalczyk (2009))**

Pour une race donnée, la variabilité du poids est loin d'être négligeable. Ainsi, pour une race moyenne à grande comme le Basset Hound, le poids de 4 kg est atteint en moyenne peu avant 50 jours, avec des variations importantes, certains individus l'atteignent vers 40 jours, d'autres vers 60 jours (Figure 15a). Pour les chiens de petite race comme le Yorkshire, cette différence peut être encore plus marquée. Le poids de 600 g est atteint en moyenne vers 27 jours, avec des variations pouvant aller de 18 à 47 jours selon les individus (Figure 15b).



a



b

**Figure 15 Courbes de croissance pour deux races canines de la naissance à 60 jours (d'après Lecarpentier et Martinez (2017))**

- a- Basset Hound (n=354), Equation de la courbe médiane :  $y = 1,1196x^2 + 18,259x + 452,4$   
 b- Yorkshire Terrier (n=138), Equation de la courbe médiane :  $y = -0,082x^2 + 21,042x + 111,76$

### Annexe 4 : Titres en anticorps antirabiques neutralisants de chiots vaccinés en Afrique du Sud (d'après Morters *et al.* (2015))

Chien	Sexe (M : mâle, F : femelle)	Age lors de la vaccination (/semaines)	Titre à J0 (UI/mL)	Titre à J30 (UI/mL)	Titre à J0 des femelles allaitantes (mères des chiots) (UI/mL)
1	F	8-10	0,06	11,3	0,06
2	M	8-10	0,06	2,0	0,06
3	F	7-8	-	45,3	0,18
4	M	6-7	-	22,6	0,06
5	M	6-7	-	45,3	0,06
6	F	7-8	-	16,0	0,06
7	M	5-6	-	64,0	0,06
8	F	4-6	-	45,3	0,06
9	F	5-7	-	32,0	0,06
10	F	5-7	-	64,0	0,06
11	M	5-7	-	5,7	0,06
12	M	4-6	-	45,3	0,18
13	F	4-6	-	90,5	0,18
14	F	5	-	22,6	0,06
15	F	5	-	8,0	0,06
16	F	5	-	5,7	0,06
17	F	10 jours	-	5,7	0,09
18	F	6-8	-	32,0	-
19	F	10-12	-	22,6	-

## Annexe 5 Suivi des modifications du rapport

Paragraphe	Description de la modification
Chapitre 4, § 4.3.6	« De nombreux facteurs propres à l'individu peuvent également entraîner une réponse immunitaire faible malgré une vaccination correcte : stress, parasitisme, carence alimentaire ou malnutrition, défaillance du système immunitaire » est complété par « affections intercurrentes, (...) (Dionigi <i>et al.</i> 1976, Haddad <i>et al.</i> 1987, Kruth et Ellis 1998, Mojzisova <i>et al.</i> 2007, Sykes 2010). Par exemple, Mojzisova <i>et al.</i> (2007) ont observé, chez des chiots infestés par <i>Toxocara canis</i> , <i>Toxascaris leonina</i> et <i>Trichuris vulpis</i> , parasites cosmopolites, des titres en anticorps antirabiques très faibles, sept et 28 jours après vaccination. »
Chapitre 5, § 5.2.1	« Les animaux se répartissent en 17 lots dont les effectifs vont de neuf à 89 chiens » est complété en « Les animaux se répartissent en 17 lots dont les effectifs ayant un résultat sérologique vont de neuf à 89 chiens »
Chapitre 6	Modification du titre « réponse à la question » en « réponse aux questions » Ajout du paragraphe 6.2 Réponse à la question complémentaire
Chapitre 7	Dans le texte et le tableau 6, ajout de « à l'état sanitaire des animaux » à « interprétation du titrage compte tenu des incertitudes liées à la date de vaccination et au délai entre vaccination et titrage »
Chapitre 8	Ajout à « Les données bibliographiques et l'analyse des données de 17 lots contrôlés par la BNEVP ont conduit les experts à conclure que le titrage des anticorps antirabiques ne constituait pas un indicateur pertinent pour servir de base à l'élaboration d'un protocole destiné à montrer le non-respect de la réglementation » de « et (ii) déterminer, en fonction du pourcentage de chiots dans un lot contrôlé dont les titres sont inférieurs à 0,5 UI/mL, une probabilité de présence d'une anomalie, liée ou non à la pratique vaccinale. »
Annexe 5	Suppression de l'annexe 5 du premier rapport - résultats détaillés des titrages en anticorps antirabiques sur les lots d'animaux contrôlés par la BNEVP, pour des raisons de confidentialité des données
Annexe 6	Ajout de l'annexe 6 en lien avec la réponse à la question complémentaire

## Annexe 6 Question complémentaire

- Publications présélectionnées pour répondre à la question complémentaire

	Nombre de chiens tout venant (année(s) d'étude)	Nombre de chiens présentant un titre $\geq 0,5$ UI/mL (%)	Vaccins utilisés	Délai dernière vaccination - prise de sang pour titrage : % titres $\geq 0,5$ UI/mL (n chiens)	Test	Primo- vs plurivaccinés : n chiens (% titres $\geq 0,5$ UI/mL)	Age des chiens à la vaccination : % titres $\geq 0,5$ UI/mL (n chiens)	Echantillonnage
Berndtsson et al. (2011)	6789 (2005)	6241 (92 %)	2 vaccins	120 - 150 jours : 93 % (5156) 151 - 180 jours : 90 % (1613)	FAVN test	Primovaccination : 1766 (86 %) 2 vaccinations : 5023 (94 %)	< 6 mois: 90 % > 6 mois : 91 à 94 %	Aucune sélection
Cliquet et al. (2003)	17693 (1993 - 2002)	16392 (93 %)	Plusieurs vaccins, mono- et plurivalents	Primovaccinés : 2 mois : 92 % entre 2 et 4 mois : 81 % 4 à 6 mois : 75 % > 6 mois : 78 %	FAVN test et RFFIT	Primovaccination : 1351 (86%) 2 vaccinations : 974 (91 %)	Pas de corrélation entre âge chiens analysés (tous les chiens > 12 semaines) et les titres en anticorps	Aucune sélection
Kennedy et al. (2007)	10483 (2002)		6 vaccins	28 jours fournit de meilleures réponses	FAVN test		Chiens analysés entre 1-7 ans : titres plus élevés	Deux vaccins sélectionnés pour les statistiques
Mansfield et al. (2004)	14035 (1999 - 2002, de APHA) 852 (2001, de Biobest)	13457 (96 %) 808 (95 %)	3 vaccins	28 jours fournit de meilleures réponses	FAVN test		Chiens analysés de moins de 6 mois (Biobest) et chiens de plus de un an : titres moins élevés	Oui pour modélisation, peu d'animaux écartés (16073 chiens et chats sur 16383); deux cohortes (APHA et Biobest)



	Nombre de chiens tout venant (année(s) d'étude)	Nombre de chiens présentant un titre $\geq 0,5$ UI/mL (%)	Vaccins utilisés	Délai dernière vaccination - prise de sang pour titrage : % titres $\geq 0,5$ UI/mL (n chiens)	Test	Primo- vs plurivaccinés : n chiens (% titres $\geq 0,5$ UI/mL)	Age des chiens à la vaccination : % titres $\geq 0,5$ UI/mL	Echantillonnage
Rota Nodari <i>et al.</i> (2015)	21001 (2006 - 2012)	94 % (chiens Italie) 87 % (chiens importés)	4 vaccins	2 semaines - 2 mois : % de titres $\geq 0,5$ UI/mL plus élevés	FAVN test		Chiens analysés de plus de un an : titres plus élevés	Oui, choix des chiens vaccinés avec un des 4 vaccins les plus vendus ; deux cohortes (Italie, 20119 ; importation, 882)
Tasioudi <i>et al.</i> (2018)	662 (2008 - 2015)	573 (87 %)	5 vaccins, plus quelques autres	Temps médian : 5 semaines	FAVN test	Primovaccination : 546 (84 %) 2 vaccinations : 116 (99 %)	< 3 mois : 69 % conformes 3 - 6 mois : 81 % 6 - 9 mois : 93 % 9 - 12 mois : 92 %	Sélection de 662 chiens sur 3861 (chiens de moins de 1 an au moment de leur dernière vaccination)
Wallace <i>et al.</i> (2017)	8011 (2006 - 2010)	7047 (88 %)	Vaccins commercialisés aux USA	$\leq 3$ jours: 0 - 13% 4-7 jours: 75 - 92% 8 à 30 jours (meilleur temps : 12 - 18 jours) : 90 - 97% >90 jours: 40 - 94%	FAVN test	Primovaccination : <12 sem : 83% (242) 12-16 sem : 85 % (1892) >16 sem: 90 % (4913)	<12 sem : 83% (242) 12-16 sem : 85 % (1892) >16 sem: 90 % (4913)	Sélection de 8011 chiens sur 162739 (chiens de moins d'1 an sans passé vaccinal) ; 3 classes d'âge des chiens
Zanoni <i>et al.</i> (2010)	10999 (1997 - 2009)		4 vaccins	Pour les primo : à partir de 120 jours: 77% conformes ; 7 - 12 mois: 70%	RFFIT			Aucune sélection

• **Détermination des intervalles de confiance (IC) pour les quatre publications retenues**

Pour chaque étude sélectionnée, l'intervalle de confiance associé à la proportion de chiens a été calculé à partir d'une loi binomiale avec un risque alpha égal à 5%.

Sur les quatre études retenues, l'approche développée par Rubin (1987) a été appliquée pour estimer la proportion moyenne et l'écart-type d'animaux ayant un résultat sérologique  $\geq 0,5$  UI/mL parmi les chiens tout venants, primovaccinés (Berndtsson *et al.* 2011, Cliquet *et al.* 2003, Tasioudi *et al.* 2018) ou, en l'absence d'information sur le processus vaccinal, d'âge compris entre 12 et 16 semaines (Wallace *et al.* 2017).

La proportion moyenne ( $\bar{P}$ ) est :

$$\bar{P} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m P_i$$

avec m le nombre d'études.

L'écart-type est obtenu par :

$$\sigma = \sqrt{\sigma_i^2 + \left(1 + \frac{1}{m}\right) B}$$

avec  $\sigma_i^2$  la variance intra-étude et B la variance inter-étude, telles que :

$$\sigma_i^2 = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \sigma_i^2$$

$$B = \frac{1}{m-1} \sum_{i=1}^m (P_i - \bar{P})^2$$

Chiens primovaccinés								
Référence	Total	Nb $\geq 0.5$ UI/mL	% ( $\geq 0.5$ UI/mL)	Ecart à la moyenne globale	Écart-type (= $\sqrt{\text{variance}}$ )	Variance	IC 95% inf	IC 95% sup
Berndtsson <i>et al.</i> (2011)	1766	1519	86,00%	0,0030	0,0083	0,000068	84,4%	87,6%
Cliquet <i>et al.</i> (2003)	1351	1162	86,00%	0,0030	0,0094	0,000089	84,1%	87,9%
Tasioudi <i>et al.</i> (2018)	546	459	84,00%	0,0056	0,0157	0,000246	80,9%	87,1%
Wallace <i>et al.</i> (2017)	1892	1608	85,00%	0,0042	0,0082	0,000067	83,4%	86,6%
		N (nb études retenues)	4					
		<b>Moyenne</b>	<b>0,853</b>					
		SE <sup>2</sup>	0,000118					
		B	0,005328					
		<b>SE</b>	<b>0,082</b>					





Agence nationale de sécurité sanitaire  
de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
14 rue Pierre et Marie Curie  
F94701 Maisons-Alfort cedex  
[www.anses.fr](http://www.anses.fr)  
[@Anses\\_fr](https://twitter.com/Anses_fr)