

## Centre National de Référence de la Rage

### Rapport annuel d'activité Année 2018

Directeur : Mr Hervé BOURHY  
Directeurs Adjointes : Mr Laurent DACHEUX  
Mme Perrine PARIZE  
Assistante : Mme Malika JELLAOUI

Unité "Lyssavirus, Epidemiologie et Neuropathologie"  
Centre Collaborateur de l'OMS de Référence et de Recherche pour la Rage



## **Avant-Propos**

*Le Centre National de Référence de la Rage remercie l'ensemble de ses correspondants, et partenaires, pour la qualité des données transmises et leur confiance toujours renouvelée. Il est particulièrement reconnaissant au docteur Philippe POUJOL, responsable du Centre Antirabique au Centre Médical de l'Institut Pasteur pour sa collaboration et la qualité des échanges sur le thème de la prophylaxie de la rage.*

*Ce rapport reflète le travail de l'ensemble du personnel de l'Unité Lyssavirus, Epidémiologie et Neuropathologie (LyEN) qui contribue avec efficacité et dévouement de manière quotidienne à l'activité du Centre National de Référence de la Rage permettant ainsi de remplir la mission de surveillance microbiologique de la Rage en France.*



## Table des matières

<b>Résumé analytique de l'activité du Centre National de Référence de la Rage (CNRR)</b> .....	<b>9</b>
<b>1 Missions et organisation du CNR de la Rage (CNRR)</b> .....	<b>11</b>
<b>2 Activités d'expertise</b> .....	<b>11</b>
2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2018.....	11
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	13
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires .....	13
2.4 Collections de matériel biologique .....	13
2.4.1 Distribution de souches .....	13
2.4.1 Distribution de prélèvements et sérums de référence .....	13
2.5 Activités d'expertise de l'année 2018 : Diagnostic de la rage en France.....	13
2.5.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine .....	13
2.5.2 Chez l'homme.....	18
2.5.3 Analyses sérologiques.....	19
2.6 Activités de séquençage.....	20
2.6.1 Accès à une plateforme de séquençage à haut débit.....	20
2.6.2 Accès à une expertise bio-informatique.....	20
2.6.3 Séquençage à haut débit réalisé dans le cadre des activités du CNRR .....	21
<b>3 Activités de surveillance</b> .....	<b>21</b>
3.1 Description du réseau de partenaires, des circuits de surveillances en fonction des analyses effectuées .....	21
3.1.1 Circuit humain .....	22
3.1.1.1 Suspensions de rage humaine .....	22
3.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine .....	23
3.1.2 Circuit animal .....	25
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques de la rage .....	26
3.2.1 Circuit humain .....	26
3.2.1.1 Suspensions de rage humaine .....	26
3.2.1.2 Prophylaxie de la rage humaine .....	27
3.2.2 Circuit animal .....	30
3.3 Surveillance de la résistance des lyssavirus à la prophylaxie médicale .....	30
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux et internationaux .....	31
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance.....	32
<b>4 Alerte</b> .....	<b>32</b>

<b>5</b>	<b>Activités de rétro-informations, de formation et de conseil</b>	<b>32</b>
5.1	Conseil et expertise auprès des professionnels de santé	32
	<b>Cours, formations, évaluations</b>	<b>33</b>
5.2	Activités d'expertise auprès du ministère chargé de la santé, de Santé Publique France, des agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité en Santé, de structures européennes ou internationale	34
5.2.1	Actions au niveau national	34
5.2.2	Actions au niveau international	35
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grands public...)	36
<b>6</b>	<b>Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR</b>	<b>37</b>
6.1	Activités de recherche en cours	37
6.1.1	Etude des circonstances de contact à risque de transmission de lyssavirus entre les chauves-souris et l'homme sur le territoire français	37
6.1.2	Mécanismes de la persistance du sous-type 1 des chauves-souris lyssavirus en Europe chez des chauves-souris non-synanthropes: informations tirées d'une étude de modélisation et implication en santé publique	37
6.1.3	La vaccination des chiens dans une ville africaine interrompt la transmission de la rage et réduit l'exposition humaine	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
6.1.4	Utilisation de séquences de gènes viraux pour comparer et expliquer la dynamique spatiale hétérogène des épidémies virales	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
6.1.5	Comment rendre la prophylaxie post-exposition de la rage plus accessible aux populations qui la nécessitent dans les pays en voie de développement	40
6.1.6	Etude des facteurs associés à une réponse anticorps inadéquate après une vaccination antirabique en préexposition chez des professionnels exposés	41
6.2	Liste des publications et communications	41
	Publications nationales	41
	Publications internationales	41
	Communications nationales	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
	Conférences sur invitation	42
	Conférences internationales sur invitation	43
<b>7</b>	<b>Coopération avec les laboratoires de santé animale</b>	<b>43</b>
<b>8</b>	<b>Programme d'activité pour la période 2019-2020</b>	<b>44</b>
8.1	Du diagnostic au rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial de la surveillance de la rage	44
8.2	Diagnostic de la rage en France: Rapidité, Fiabilité et Qualité	44
8.3	Contribution à la surveillance et rôle d'alerte : le CNRR comme maillon initial	45
8.4	Conseil	45

8.4.1	Mesures générales.....	45
8.4.2	Surveillance épidémiologique des pratiques de prophylaxie post-exposition en France	46
8.4.3	Cas particulier de la prévention de la rage chez les chiroptérologues.....	46
8.4.4	Coordination entre le CNRR et les CAR.....	46
8.5	Activités de recherche en lien avec le CNRR.....	47

## **Annexe 1 : Missions et organisation du CNR..... 49**

<b>1.</b>	<b>Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR .....</b>	<b>49</b>
<b>2.</b>	<b>Effectif et Qualification du personnel du CNRR .....</b>	<b>50</b>
2.1.	Organigramme général.....	50
2.2.	Effectif par catégorie de fonction.....	50
2.3.	Personnel technique .....	50
2.4.	Personnel cadre.....	51
<b>3.</b>	<b>Locaux et équipements du CNRR.....</b>	<b>51</b>
3.1.	Locaux.....	51
3.2.	Matériel et équipement actuels de la structure .....	54
<b>4.</b>	<b>Collection de matériel biologique du CNRR.....</b>	<b>54</b>
<b>5.</b>	<b>Démarche Qualité au sein du CNRR.....</b>	<b>55</b>
<b>6.</b>	<b>Procédure d'alerte du CNRR .....</b>	<b>57</b>

## **Annexe 2 : Capacités techniques du CNR..... 58**

<b>1.</b>	<b>Liste des techniques de référence .....</b>	<b>58</b>
1.1.	Techniques de diagnostic post-mortem de rage (animale et humaine) .....	58
1.2.	Techniques de diagnostic intra-vitam de la rage humaine.....	58
1.3.	Typage des isolats.....	59
1.4.	Sérologie.....	59
<b>2.</b>	<b>Liste des techniques recommandées par le CNRR .....</b>	<b>60</b>
<b>3.</b>	<b>Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles .....</b>	<b>60</b>
<b>3.1.</b>	<b><i>Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine</i></b>	<b>60</b>
<b>3.2.</b>	<b><i>Banque de données N°2 : Suspensions de rage humaine et suivi sérologique.....</i></b>	<b>61</b>
<b>3.3.</b>	<b><i>Banque de données N°3 : Consultations et traitements antirabiques.....</i></b>	<b>61</b>

<b>3.4. Aspects réglementaires et légaux .....</b>	<b>62</b>
<b>Annexe 3 : Tableaux complémentaires décrivant l'activité de diagnostic de la rage animale.....</b>	<b>63</b>
<b>Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2018.....</b>	<b>63</b>
<b>Tableau AIII: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2018</b>	
<b>.....</b>	<b>64</b>

## Liste des tableaux et des figures

### Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> .....	Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2018.....	Page 14
<b>Tableau II:</b> .....	Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2018.....	Page 15
<b>Tableau III:</b> .....	Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2018 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental .....	Page 16
<b>Tableau IV:</b> .....	Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2018 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques .....	Page 19
<b>Tableau V:</b> .....	Cas humains de rage recensés en France depuis 1970.....	Page 26/27
<b>Tableau AI:</b> .....	Effectif par catégorie de fonctions .....	Page 50
<b>Tableau AII:</b> .....	Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2018.....	Page 65
<b>Tableau AIII:</b> .....	Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2018.....	Page 66/67

### Liste des figures

<b>Figure 1:</b> .....	Organigramme général du CNRR .....	Page 11
<b>Figure 2:</b> .....	Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2002 .....	Page 14
<b>Figure 3:</b> .....	Description des circuits de surveillance de la rage en France .....	Page 22
<b>Figure 4:</b> .....	Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France .....	Page 23
<b>Figure 5:</b> .....	Distribution des CAR/AAR sur le territoire français en 2018.....	Page 24
<b>Figure 6:</b> .....	Evolution du nombre de traitements antirabiques chez les patients exposés à l'étranger (2005-2016) .....	Page 28
<b>Figure 7:</b> .....	Evolution du nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients exposés à l'étranger (2005-2016) .....	Page 29
<b>Figure A1:</b> .....	Organigramme général du CNRR .....	Page 49
<b>Figure A2:</b> .....	Plans des locaux de l'unité LyEN (utilisés par le CNRR) .....	Page 51/52



## **Abréviations :**

- AAR : Antenne anti-rabique
- ADNc : ADN complémentaire
- Anses: Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
- ARS : Agence régionale de santé
- CCOMS : Centre collaborateur de l'OMS
- CNR : Centre national de référence
- CNRR : CNR de la rage
- CCR : Coordination des centres de référence
- CIQ : Contrôle interne de qualité
- Cofrac : Comité français d'accréditation
- D-RTE : Direction ressources techniques et environnement
- DD(CS)PP : Direction départementale (de la cohésion sociale et) de la protection des populations
- DGAI : Direction général de l'alimentation
- DGS : Direction Générale de la Santé
- DRH : Direction des ressources humaines
- DSI : Direction déléguée aux systèmes d'information
- LyEN : Lyssavirus, Epidemiologie et Neuropathologie
- ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control
- EEQ: Evaluation externe de la qualité
- FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
- FAT : Détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence directe (Fluorescent antibody test)
- GBEA : Guide de bonne exécution des analyses
- HCSP : Haut Conseil de santé Publique
- HAP : Haute Autorité de Santé
- ID : Intra-dermique
- InVS : Institut de veille sanitaire
- LRE-MS : Laboratoires de référence et d'expertise multi-site
- LCS : Liquide cérebrospinal
- LVD : Laboratoire vétérinaire départemental
- OIE : Organisation mondiale de la santé animale
- OMS : Organisation mondiale de la santé
- Platelia : Test immuno-enzymatique pour la sérologie humaine
- PPE : Prophylaxie post-exposition
- PSM : Poste de sécurité microbiologique
- QE-DD : Qualité environnement et développement durable
- RPB : Réception des produits biologiques
- RFFIT : Test de séroneutralisation (Rapid fluorescent focus inhibition test)
- RT-PCR : Réaction de polymérisation en chaîne après transcription inverse
- RT-qPCR : Réaction de polymérisation en chaîne en temps réel après transcription inverse
- RTCIT : Isolement du virus rabique sur cultures cellulaires (Rabies tissue culture inoculation test)
- SpF : Santé publique France
- WELYSSA : Détection d'antigènes rabiques par test immuno-enzymatique



## Résumé analytique de l'activité du Centre National de Référence de la Rage (CNRR)

### Missions de surveillance épidémiologique et d'alerte

Le CNRR est en charge des **analyses de laboratoire** concernant toutes les **suspensions de rage humaine** ainsi que toutes les **suspensions de rage animale susceptibles d'avoir contaminé l'homme**. Le CNRR collabore avec le Laboratoire National de la Rage (Anses-Nancy) en ce qui concerne la surveillance de la rage animale. En 2018, 1290 suspicions chez l'animal et 13 suspicions chez l'homme dont 5 en provenance du Liban n'impliquant pas des patients français, ont été investiguées par le CNRR. **Deux cas de rage** ont été mis en évidence chez des chauves-souris. Aucun cas de rage n'a été diagnostiqué en 2018 chez des patients hospitalisés en France. En revanche, **2 cas humains** ont été confirmés parmi les 5 suspicions d'origine libanaise.

Afin de maintenir la qualité des analyses effectuées, le **CNRR est accrédité par le COFRAC** pour deux de ses techniques utilisées dans le diagnostic *post-mortem* de la rage, ceci dans le cadre de ses **analyses en biologie vétérinaire (ISO 17025, section Laboratoire, accréditation N°1-1692)** et **humaine** au travers de son appartenance au laboratoire de référence et d'expertise multi-site de l'Institut Pasteur (**ISO 15189, section Santé Humaine, accréditation N° 8-2588**). Une troisième technique de diagnostic moléculaire a été soumise à l'accréditation en 2018.

### Evaluation des risques pour l'homme compte tenu de l'évolution épidémiologique chez différentes espèces animales et conseil aux autorités de santé

Le CNRR a activement contribué à la surveillance et l'identification des espèces de lyssavirus circulant chez les chiroptères en France et en Europe, à la compréhension du rôle de l'écologie de ces chiroptères dans la dissémination de ces virus ainsi qu'à l'analyse de la protection conférée par les vaccins vis-à-vis de ces nouveaux isolats.

### Coordination des centres antirabiques (CAR) et évaluation de la politique vaccinale

- Le CNRR **répond quotidiennement aux demandes** de renseignements, conseils et résultats biologiques émanant de médecins, de vétérinaires praticiens, de biologistes, de CAR ainsi que des services vétérinaires.

- Les données concernant **l'analyse épidémiologique de la prophylaxie de la rage humaine en France** sont disponibles pour l'année 2017 et ont fait l'objet d'une analyse dans le dernier Bulletin Epidémiologie et Prophylaxie de la rage humaine en France paru en 2018 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). Le nombre de patients exposés et celui des traités (51,4% du total) est en très légère augmentation par rapport aux années précédentes. Ceci est dû à la part croissante des personnes exposées à l'étranger.

- Le CNRR participe depuis la fin 2016 au sein du HCSP à la réponse à une saisine de la DGS sur le thème de la révision des recommandations en matière de prophylaxie antirabique après exposition en fonction de la situation épidémiologique actuelle.

- Le CNRR en liaison avec le Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé de référence et de Recherche sur la rage (CCOMS Rage) a significativement contribué à la **révision des recommandations internationales de l'OMS en matière de prophylaxie antirabique chez l'homme** (pré- et surtout post-exposition) approuvée par le groupe SAGE. En particulier un schéma par voie intradermique (ID) en 3 visites, auquel le CNRR et le CCOMS Rage ont très largement contribué, a été promu dans les recommandations 2018 de l'OMS en remplacement des autres protocoles par voie ID.

### Contribution aux réseaux internationaux de surveillance (en liaison avec le CCOMS Rage)

▪ **Au niveau européen**: contribution à la surveillance de la rage en Europe, échange de données et collaborations avec les autres institutions nationales et européennes en charge de la rage.

▪ **Aide aux pays en développement, en particulier en Afrique et en Asie**, pour le contrôle de la rage par des actions de **formations** (cours et conférences sur la rage) et de **lobbying** en collaboration avec des organisations internationales (OMS, OIE, FAO, Alliance mondiale pour la rage, Réseau PARACON, réseau Rabies in West Africa (RIWA), Middle East and Eastern Europe Rabies Expert Bureau (MeeREB), réseau international des Instituts Pasteur, etc.). Ces actions contribuent à la diminution du fardeau de la rage dans ces pays et par voie de conséquence à la réduction du risque d'importation d'animaux enrégés en Europe et plus particulièrement en France.

▪ **Contribution à la révision des ouvrages de référence OMS en matière de rage** : Rapport de la consultation des experts sur la rage (WHO Technical Report Series) et manuel technique (WHO manual).

▪ **Contribution à la révision de la définition de cas de rage dans le code terrestre de l'OIE** (Terrestrial code)

## **Epidemiological surveillance and alert**

The CNRR is in charge of the laboratory analysis of all suspicions of human rabies as well as any suspicions of animal rabies that may have contaminated humans. The CNRR also collaborates with the National Rabies Laboratory (ANSES-Nancy) for the surveillance of animal rabies. In 2018, 1290 suspicions in animals and 13 suspicions in humans (including 5 suspicions from Lebanon) were investigated by the CNRR. Two positive animal cases were identified in bats. However, no human cases were recorded in France in 2018. Only two of the 5 suspicions from Lebanon were confirmed.

In order to maintain the quality of the analyzes carried out, the CNRR is accredited by COFRAC for veterinary analyzes (*post-mortem* diagnosis of rabies) (ISO 17025, Laboratory section, accreditation number 1-1692) as well as for human analyzes (*post-mortem* diagnosis of rabies) in the framework of the reference laboratory and multi-site expertise of the Pasteur Institute which includes the CNRR (ISO 15189, human health section, accreditation N ° 8-2588). A third assay, the molecular detection of viral RNA by RT-qPCR has been submitted to accreditation in 2018.

## **Evaluation of the risks for humans taking into account the epidemiological evolution of different animal species and advice to the health authorities**

The CNRR has actively contributed to the surveillance and identification of circulating lyssavirus species in *Chiroptera* in France and Europe, to the understanding of the role of ecology of these chiropterans in the spread of these viruses as well as to the analysis of the protection conferred by vaccines on these new isolates.

## **Coordination of anti-rabies centers (CARs) and evaluation of vaccination policy**

- The CNRR responds daily to inquiries, advice and request for biological results from physicians, veterinary practitioners, biologists, CARs and veterinary services.

- The data concerning the epidemiological analysis of human rabies prophylaxis in France are available for the year 2016 and have been analyzed in the latest Bulletin Epidemiology and Prophylaxis of human rabies in France published in 2018 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). The number of patients exposed and the number of treated patients (51.4% of the total) is very slightly higher than in previous years due to the increase of people visiting rabies enzootic areas and seeking PEP back in France.

- Since the end of 2016, the CNRR has been participating to the HCSP in response to a referral from the DGS on the revision of the recommendations for post-exposure rabies prophylaxis according to the current epidemiological situation.

- The CNRR, in collaboration with the World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Rabies (WHOCC Rabies) housed in the same research unit at the Institut Pasteur, has made a very significant contribution to the revision of WHO's international recommendations for anti-rabies prophylaxis in humans (pre- and especially post-exposure) approved by the SAGE group. In particular, an intradermal regimen in 3 visits, to the development and validation of which the CNRR and the WHOCC Rabies have largely contributed, has been promoted in the 2018 WHO recommendations to replace the other protocols by ID route.

## **Contribution to international monitoring networks**

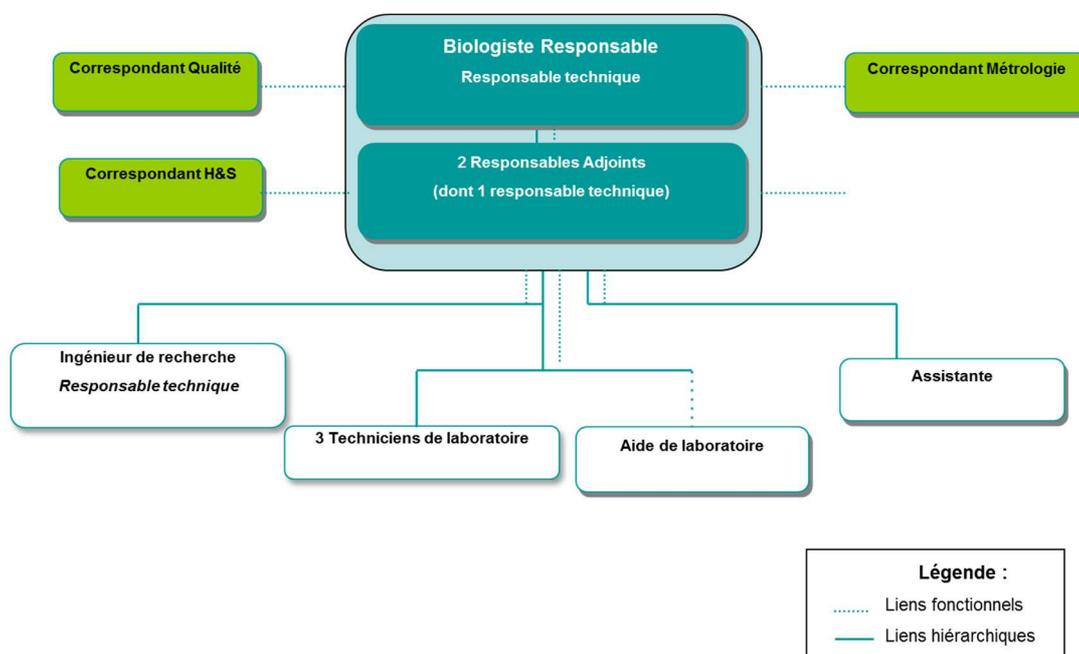
The CNRR contributes, in liaison with the WHOCC Rabies to the monitoring and control of rabies in Europe and more generally in the world:

- At European level: contribution to the surveillance of rabies in Europe, data exchange and collaborations with other national and European institutions in charge of rabies.
- At the developing countries, particularly in Africa and Asia, level: improvement of rabies control through training (rabies courses and conferences) and lobbying in collaboration with international organizations (WHO, OIE, FAO, Global Alliance for Rabies, PARACON Network, Rabies in West Africa (RIWA) network, Middle East and Eastern Europe Rabies Expert Bureau, Institut Pasteur International Network, etc.). These actions contribute to reducing the burden of rabies in these countries and consequently to reducing the risk of importing rabid animals in Europe and more particularly in France.
- Contribution to the revision of the WHO Technical Report Series and Technical Manual (WHO manual).
- Contribution to the revision of the rabies case definition in the OIE Terrestrial Code

## 1 Missions et organisation du CNR de la Rage (CNRR)

Le Centre National de Référence de la Rage (CNRR) exerce depuis longtemps un rôle majeur dans la prophylaxie de la rage humaine en France. Situé dans l'unité "Lyssavirus, *Epidemiologie et Neuropathologie*" (LyEN) au sein de l'Institut Pasteur, il est placé sous la responsabilité du Dr. Vét. Hervé BOURHY, qui est secondé par le Dr. Méd. Perrine PARIZE et par le Dr. Pharm. Laurent DACHEUX (Figure 1). Depuis 1968 (date de la réintroduction de la rage en France), le CNRR analyse les prélèvements d'animaux suspects de contamination humaine. Il reçoit également les prélèvements envoyés par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers concernant les patients présentant une suspicion d'encéphalite rabique. Depuis 1982, le CNRR informe les Centres Antirabiques (CAR) et Antennes Antirabiques (AAR), centralise et analyse les données concernant le nombre et la nature des consultations et prophylaxie antirabiques post-exposition pratiqués en France. Les données transmises par les CAR sont regroupées et publiées annuellement dans un "Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France". Le CNRR assure aussi la formation des médecins des CAR et l'information des différents partenaires impliqués au niveau national dans la prophylaxie de la rage humaine. Le détail des missions et de l'organisation est retrouvé en **Annexe 1**.

**Figure 1: Organigramme général du CNRR.**



## 2 Activités d'expertise

### 2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2018

A partir du diagnostic rétrospectif d'un cas de rage humaine réalisé en 2017 chez un patient ayant été contaminé au Bangladesh (patient H170011), le CNRR a identifié pour certains isolats viraux

(notamment ceux appartenant au clade phylogénétique Indian subcontinent ; Troupin C, Dacheux L, Tanguy M, Sabeta C, Blanc H, Bouchier C, Vignuzzi M, Duchene S, Holmes EC, Bourhy H. Large-Scale Phylogenomic Analysis Reveals the Complex Evolutionary History of Rabies Virus in Multiple Carnivore Hosts. PLoS Pathog. 2016 Dec 15;12(12):e1006041. doi: 10.1371/journal.ppat.1006041. PMID: 27977811) une sensibilité diminuée de la technique RT-qPCR qu'il a développée dans le cadre du diagnostic moléculaire *intra-vitam* de la rage chez l'homme (technique combo RT-qPCR décrite dans Dacheux L, Larrous F, Lavenir R, Lepelletier A, Faouzi A, Troupin C, Nourlil J, Buchy P, Bourhy H. Dual Combined Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Lyssavirus Infection. PLoS Negl Trop Dis. 2016 Jul 5;10(7):e0004812. doi: 10.1371/journal.pntd.0004812. PMID: 27380028). En effet, il a été observé que la présence de certaines mutations au niveau d'une des amorces de cette technique pouvait compromettre la détection des ARN viraux présents dans des échantillons biologiques (tels que les salives) dont la charge virale est beaucoup plus faible que celle retrouvée chez une biopsie cérébrale terminale. Suite à cette observation, le CNRR a réintroduit de façon systématique et pour toute demande de diagnostic de rage humaine, en combinaison avec la technique RT-qPCR actuelle, l'utilisation d'une technique RT-PCR semi-nichée de large spectre (Dacheux L, Reynes JM, Buchy P, Sivuth O, Diop BM, Rousset D, Rathat C, Jolly N, Dufourcq JB, Nareth C, Diop S, Iehlé C, Rajerison R, Sadorge C, Bourhy H. A reliable diagnosis of human rabies based on analysis of skin biopsy specimens. Clin Infect Dis. 2008; 47:1410-7. doi: 10.1086/592969. PMID: 18937576) capable de détecter ce type de souche. Cette technique a donc été appliquée au cours de l'année 2018. En parallèle, le CNRR a entrepris une réévaluation/optimisation de cette dernière technique ainsi qu'une évaluation des techniques RT-qPCR de large spectre actuellement publiées (afin *in fine* de sélectionner la plus appropriée qui sera utilisée en routine en parallèle de la technique RT-qPCR du CNRR) (Laboratory techniques in Rabies, Fifth Edition, Vol 1, Editors: Charles E. Rupprecht; Anthony R. Fooks; Dr B. Abela-Ridder/Neglected Zoonotic Diseases, Number of pages: xii, 289 p. WHO, September 2018 ISBN: 978 92 4 151515 3). Ces évaluations, débutées fin 2017, ont été poursuivies en 2018 et ont abouti à la sélection d'une autre technique de RT-qPCR basée sur une détection par agent intercalant (SYBR Green), récemment recommandée par l'OMS et qui permet également la détection à large spectre des lyssavirus. Le dossier de validation de méthode de cette nouvelle technique, qui sera utilisée au laboratoire en parallèle de la technique combo RT-qPCR (et en remplacement de la technique RT-PCR semi-nichée) a été réalisé au cours de l'année 2018 et sera finalisé en 2019 afin d'ajouter cette technique à la portée d'accréditation ISO 15189 section Santé Humaine (N° 8-2588) du CNRR (membre du Laboratoire de Recherche et d'Expertise Multi-Site).

Depuis le 05/07/2017, le CNRR a suspendu l'usage de la technique WELYSSA (recherche d'antigène rabique par ELISA), initialement du fait d'une rupture d'approvisionnement d'un des réactifs. Cette suspension a été maintenue en 2018 et une ré-évaluation de l'intérêt diagnostique de cette technique effectuée au cours de cette même année. Il s'agit d'une technique non accréditée auprès du COFRAC.

Les autres techniques utilisées par le CNRR pour la mise en œuvre de ses missions sont restées identiques en 2018 à celles décrites antérieurement (Annexe 2).

## **2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse**

Le secteur du diagnostic de la rage représentant un petit marché, peu de nouveaux réactifs et de trousse commerciales sont introduits sur le marché français. Aucune activité de ce type n'a été effectuée par le CNRR en 2018.

## **2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires**

Aucune activité de ce type en 2018

## **2.4 Collections de matériel biologique**

### 2.4.1 Distribution de souches

L'unité LyEN qui héberge le CNRR et le CCOMS dispose d'une très grande collection historique de lyssavirus et contribue au projet européen European Virus Archive goes global EVAg, Topic: H2020-INFRAIA-2014-2015. "High-containment biosafety facilities and virus collections including high-risk animal/human pathogens" coordonné par le Prof. Jean-Louis Romette, Université d'Aix-Marseille, Marseille, France (<http://www.european-virus-archive.com>). Ce consortium regroupe 25 laboratoires internationaux dont 16 membres de l'UE et 9 extérieurs. Ces partenaires s'engagent dans la constitution d'une bio-banque d'isolats viraux d'origine humaine et vétérinaire caractérisés. Cette bio-banque est proposée à la communauté scientifique mondiale. Il s'agit du plus grand projet de ce type au niveau mondial. Les souches mises en collection et proposées pour échange au sein d'EVAg correspondent à des isolats d'intérêt historiques, taxonomique ou à des virus recombinants. Cinq souches de lyssavirus de la collection de l'unité LyEN ont été distribuées en 2018.

### 2.4.1 Distribution de prélèvements et sérums de référence

Au cours de l'année 2018, le CNRR a transféré, dans le cadre d'un test inter-laboratoire sur la technique de séroneutralisation RFFIT avec l'Unité du développement de laboratoire et du transfert de technologie de l'Agence de Santé publique de Suède, une aliquote de 5 sérums anonymisés de patients reçus initialement dans le cadre d'une demande de sérologie antirabique par technique RFFIT.

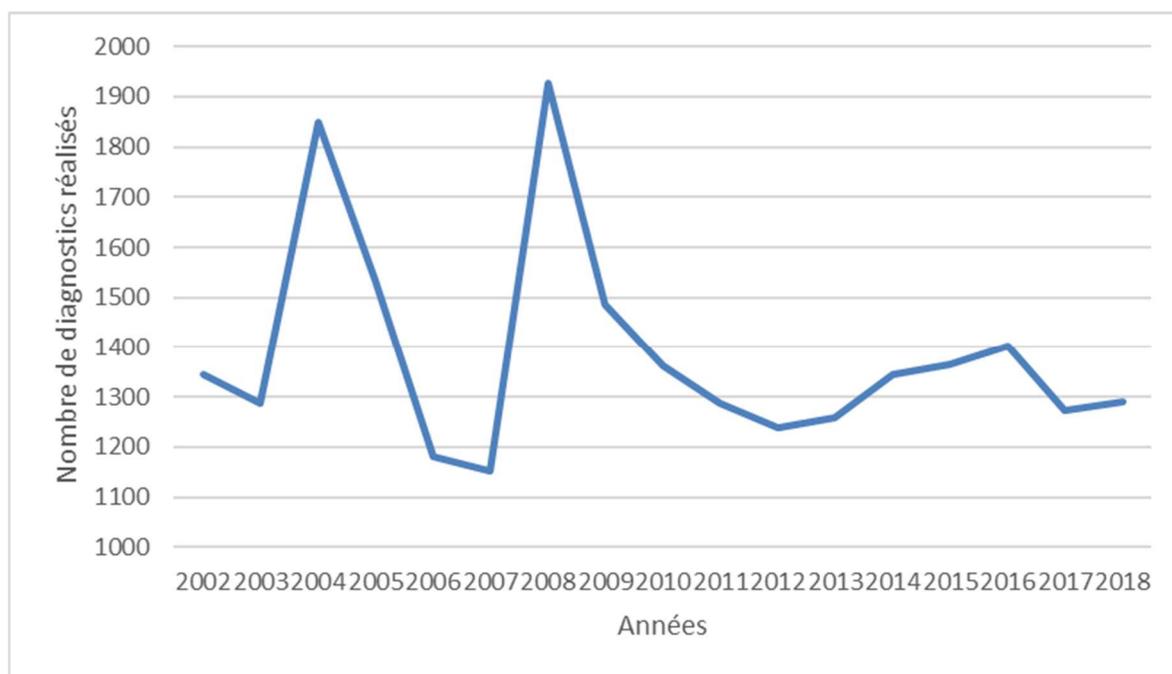
## **2.5 Activités d'expertise de l'année 2018 : Diagnostic de la rage en France**

### 2.5.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine

Tous les prélèvements animaux sont adressés par les Directions Départementales de la Protection des Populations (DDPP) ou les Directions Départementales de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations (DDCSPP), par les Laboratoires Vétérinaires Départementaux (LVD) ou par

les Ecoles Nationales Vétérinaires. Quelle que soit l'origine géographique des prélèvements, les analyses du CNRR portent exclusivement sur des animaux suspects de rage ayant pu entraîner une contamination humaine par léchage, griffure ou morsure, voire par simple manipulation. Ce sont des animaux sauvages ou domestiques, abattus ou décédés pendant la période de mise sous surveillance vétérinaire. Les prélèvements sont constitués de la tête de l'animal, voire de l'animal entier ou de l'encéphale s'il s'agit respectivement de petits ou de très gros animaux. En 2018, le CNRR a reçu un total de **1290 prélèvements animaux** correspondant à un volume d'activité en très légère augmentation (1%) comparé à celui de l'année précédente, mais restant en diminution par rapport à l'année 2016 (environ 8%).

**Figure 2: Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2002.**



Parmi les **1290** prélèvements animaux réceptionnés au CNRR en 2018 (Tableau I), **1219 échantillons étaient originaires de France métropolitaine** (Tableau AII), **27 prélèvements étaient originaires des départements d'outre-mer** (Tableau II) et **45 prélèvements provenaient de l'étranger** et ont été reçus, suivant les départements, par l'intermédiaire d'une DDPP, DDCSPP ou d'un LVD français (Tableau III).

**Deux prélèvements provenant d'animaux positifs ont été reçus en 2018.**

**Tableau I: Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2018**

	RESULTATS				TOTAL
	NEGATIFS	POSITIFS	IMPOSSIBLES	Demande de prélèvement annulée	
<b>Animaux domestiques</b>	1221	0		0	1221
<b>Animaux sauvages</b>	69	2	2*	0	69
<b>TOTAL</b>	1290	2	2	0	1 290

**Tableau II: Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2018**

FRANCE D'OUTRE-MER		RESULTATS		
		NEGATIFS	POSITIFS	TOTAL
<b>GUADELOUPE</b>	Chien	1		1
<b>MARTINIQUE</b>	Chat	5		5
	Chien	1		1
<b>GUYANE</b>	Chat	5		5
	Chien	12		12
<b>REUNION</b>	Chien	2		2
<b>NOUVELLE-CALEDONIE</b>	Chien	1		1
<b>TOTAL</b>		27	0	27

**Tableau III: Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2018 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental**

PAYS	Type d'animal	RESULTATS		
		Organisme intermédiaire	NEGATIFS	POSITIFS
Allemagne	Chat*	DDPP Bas-Rhin (67)	1	
	Chien*	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
Algérie	Chat	DDPP Marne (51)	1	
	Chat	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
	Chat	DDPP Pyrénées Atlantique (64)	1	
	Chat*	DDPP Loir-et-Cher (41)	1	
	Chat	DDPP Nord (59)	1	
	Chat	DDPP Haut-de-Seine (92)	1	
	Chat	DDPP Maine-et-Loire (49)	1	
	Chat*	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
	Chat	DDPP Seine Maritime (76)	1	
	Chien*	DDPP Loire (42)	1	
	Chien	DDPP Saône-et-Loire (71)	1	
Belgique	Chien	DDPP Nord (59)	1	
	Chien*	DDPP Haut-de-Seine (92)	1	
Bresil	Chat*	DDPP Haut-de-Seine (92)	1	
Croatie	Chat	DDPP Val de Marne (94)	1	
Espagne	Chat	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
	Chat	DDPP Maine-et-Loire (49)	1	
	Chat*	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
Chien	Chien	DDPP Loire (42)	1	
	Chien	DDPP Indre-et-Loire (37)	1	
	Chien	DDPP Rhône (69)	1	
Ile Maurice	Singe*	DDPP Rhône (69)	1	
Italie	Chat*	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
Maroc	Chat	DDPP Ain (01)	1	
	Chat*	DDPP Finistère (29)	1	
Chien*	Chien*	DDPP Pyrénées Atlantique (64)	1	
	Chien	DDPP Nord (59)	1	
	chat	DDPP Bouches-du-Rhône (13)	1	
Moldavie	chat	DDPP Somme (80)	1	
Pologne	chat	DDPP Somme (80)	1	
Portugal	Chien*	DDPP Paris (75)	1	
	Chien*	DDPP Val-d'Oise (95)	1	
	Chien*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
Chien	Chien	DDPP Charente-Maritime (17)	1	
	Chien*	DDPP Haute-Garonne (31)	1	
	Chien*	DDPP Val de Marne (94)	1	
Roumanie	Chien*	DDPP Haute-Garonne (31)	1	
	Chien*	DDPP Val de Marne (94)	1	
	Chien*	DDPP Marne (51)	1	
Tunisie	Chien*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
	Chat*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
	Chien*	DDPP Haute-Garonne (31)	1	
Turquie	Chien*	DDPP Haute-Garonne (31)	1	
	Chien	DDPP Charente-Maritime (17)	1	
	Chien	DDPP Nord (59)	1	
Slovaquie	Chien	DDPP Maine-et-Loire (49)	1	
Ukraine	Chat*	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
	Chien*	DDPP Pyrénées Orientales (66)	1	
Pays de l'Est (origine inconnue)	Chien*	DDPP Pyrénées Orientales (66)	1	
	Chien*	DDPP Val de Marne (94)	1	
<b>total</b>			45	0

\* Importation illégale confirmée (indiquée sur les commémoratifs associés aux prélèvements reçus).

Les répartitions par espèce domestique ou sauvage et par résultat ainsi que celles par département et par résultat sont données dans les Tableaux AII et AIII (Annexe 3).

Le CNRR peut également être amené à effectuer le diagnostic de la rage sur des prélèvements animaux expédiés directement par des laboratoires étrangers (suite à un risque de contamination humaine ou dans le cadre d'un programme de recherche) et par les services de l'Armée Française en opération à l'étranger. Il s'agit pour certains d'entre eux d'animaux à l'origine de contaminations de ressortissants français séjournant dans des pays où les structures de diagnostic sont inexistantes. En 2018, le CNRR n'a reçu aucun prélèvement animal de ce type.

Les techniques actuelles de diagnostic *post-mortem* de la rage au CNRR permettent de porter un diagnostic de certitude dans un délai de 24 à 48 heures suivant la réception du prélèvement. Les résultats sont alors télécopiés et envoyés par courrier aux LVD ou directement aux directeurs des DDPP ou DDCSPP qui se chargent d'en informer les personnes exposées. Le logiciel de saisie des données et d'édition des rapports d'essai permet l'exportation des données épidémiologiques vers des logiciels d'exploitation type Epilnfo et Stata. La traçabilité assurée dans le cadre de notre système qualité nous permet de vérifier la vitesse de réponse en matière de résultats d'analyse. En 2018, le CNRR a maintenu les objectifs définis lors de l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence en termes de délais d'envoi de résultats : **62,9% des résultats ont été validés et envoyés dans un délai maximum de 2 jours** après réception des échantillons par le CNRR (seuil fixé à 50%) et **98,2% dans un délai maximum de 5 jours** (seuil fixé à 95%).

En cas de diagnostic positif, Santé publique France (SpF) et la Direction Générale de la Santé (DGS) sont immédiatement informés par courriel, et éventuellement par télécopie et par téléphone, suivant la procédure d'alerte mise en place au CNRR. Le typage des virus est habituellement effectué dans un délai maximum de 5 jours après réception du prélèvement, incluant le temps de réalisation du diagnostic. Deux cas animaux positifs ont été diagnostiqués en 2018, avec un délai moyen pour ce typage de 6 jours (respectivement 4 et 8 jours), légèrement supérieur à celui fixé. Parallèlement, en vue d'améliorer les conditions générales d'acheminement des prélèvements animaux envoyés au CNRR pour analyse, les délais observés entre la mort de l'animal suspecté de rage et sa réception au CNRR ont été collectés mensuellement pour chaque département et analysés. En moyenne, **un délai d'environ 6 jours et demi** a été observé entre la mort de l'animal et son arrivée au CNRR. Ce délai reste stable comparativement aux années précédentes. **Seuls 2 échantillons** (2 chauves-souris) parmi les 1290 prélèvements animaux reçus au CNRR en 2018 n'ont pu être analysés, de par leur état à réception au laboratoire (absence de matière cérébrale) (Tableau I). Dans ce cas de figure, la DDPP correspondante est immédiatement contactée afin qu'elle puisse informer rapidement les individus exposés. Une information des conditions réglementaires de transport routier des prélèvements animaux suspects de rage est régulièrement apportée aux expéditeurs (site Internet de l'Institut Pasteur réactualisé, conseils téléphoniques, enquête satisfaction-client réalisée par le CNRR, etc.). Ces actions permettent au CNRR d'obtenir un état des lieux actualisé et de maîtriser les éléments critiques relatifs au parcours des prélèvements biologiques, de leur expédition par les laboratoires

demandeurs à l'édition et à la transmission du rapport d'essai par le CNRR. Ces informations permettent au CNRR d'inciter certains expéditeurs à améliorer leurs conditions de transport, le cas échéant (délai d'envoi, respect des conditions réglementaires de transport routier).

### 2.5.2 Chez l'homme

Les prélèvements humains sont recueillis et envoyés par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers français, et éventuellement étrangers. Il est demandé aux services hospitaliers d'envoyer divers prélèvements selon la nature de la demande de diagnostic : salives et biopsies de peau (au niveau de la nuque) et éventuellement sérum et liquide cébro-spinal (LCS) pour le diagnostic *intra-vitam* ou biopsie cérébrale et biopsie de peau pour le diagnostic *post-mortem*. Un total de **13 suspicions d'encéphalite rabique** a été soumis au CNRR en 2018, représentant un volume d'activité légèrement inférieur à celui de l'année précédente (baisse d'environ 19%, n=16) mais comparable à celui de 2016 (n=13). A ce titre, **78 échantillons biologiques humains** (33 prélèvements salivaires, 21 sérums, 15 LCS, 8 biopsies de peau et 1 expectoration) ont été reçus, correspondant à une légère diminution de 2,5% par rapport à l'année précédente (n=80), mais une hausse de 50% par rapport à 2016 (n=52). Une partie d'entre eux n'a pas été analysée, de par leur statut non-conforme à réception au laboratoire ou faisant suite à la confirmation du diagnostic sur des prélèvements précédents (Tableau IV).

Environ 54% des demandes de diagnostic biologiques se sont avérées conformes aux exigences et recommandations du CNRR en termes de nature, nombre et état des prélèvements reçus (au minimum 1 biopsie de peau et 3 salives séquentielles lors du diagnostic *intra-vitam* de la rage, et une biopsie de peau ou une biopsie cérébrale lors du diagnostic *post-mortem*), ce qui représente une amélioration par rapport à l'année précédente (31% en 2017), ceci même lorsque l'on considère les demandes émanant exclusivement de centres hospitaliers français, (37,5% de conformité). Cependant, plusieurs demandes de diagnostic émanant de centres hospitaliers français, voire d'un laboratoire de biologie médicale, ont été annulées sur demande du service hospitalier prescripteur, ou après consultation avec le CNRR. Ce résultat montre que les efforts d'information du CNRR à destination des services des Centres Hospitaliers confrontés à une suspicion de rage humaine doivent être maintenus (cf. chapitre 5).

Parmi les 13 demandes de diagnostic de rage, 5 d'entre elles (38%) provenaient de centres hospitaliers de Beyrouth au Liban et ont été réalisées à la demande du Ministère de la Santé de ce pays par le CNRR en collaboration avec les activités confiées à l'Unité LyEN en tant que Centre Collaborateur OMS de référence et d'expertise pour la rage. Deux parmi ces 5 cas ont été confirmés biologiquement.

Le diagnostic *post-mortem* de rage humaine peut être établi dans un délai de 24 à 48 heures après réception des prélèvements. Cependant, les délais de réponse du diagnostic *intra-vitam* sont variables suivant le type d'analyse entrepris, et sont retrouvés sur la fiche récapitulative reprenant le

descriptif technique du diagnostic de la rage humaine. Cette fiche est communiquée directement aux demandeurs ou accessible via le site Internet du CNRR ([www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage](http://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage)). Le CNRR s'est fixé un délai moyen d'environ 5 jours pour rendre un résultat de diagnostic complet (détection d'ARN viraux dans les prélèvements biologiques type salive, LCS et biopsie de peau et détection des anticorps antirabiques par test ELISA dans le LCS ou le sérum). La mise en œuvre de la technique de titrage des anticorps antirabiques par séroneutralisation (test RFFIT) impose un délai légèrement plus important (délai moyen de 15 jours). Les résultats sont communiqués aux responsables des services hospitaliers concernés par téléphone (et éventuellement courriel) dès leur obtention puis par courrier. En cas de diagnostic positif chez un patient hospitalisé en France, SpF et la DGS sont immédiatement informés par courriel, et éventuellement par télécopie et par téléphone suivant la procédure d'alerte mise en place au CNRR.

Pour les 2 demandes conformes reçues de France par le CNRR au cours de l'année 2018, le diagnostic biologique complet a pu être établi dans un délai de 5 jours ou moins après la réception des prélèvements.

**Tableau IV: Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2018 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques.**

CODE PATIENT	HÔPITAL DEMANDEUR	PRELEVEMENT BIOLOGIQUE					RESULTAT BIOLOGIQUE
		Salive	Sérum / Sang	LCR	Biopsie de peau	Autre	
H180001	CHU Raymond Poincaré, Garches (92)		1 <sup>a</sup>				Impossible
H180002	Hopital de Beyrouth, Liban <sup>b</sup>	3	2	1	1		Négatif
H180003	LBM Chambéry (73)		1				Demande annulée
H180004	Hopital de Beyrouth, Liban <sup>b</sup>	9 (dont 2 <sup>c</sup> )	4 <sup>a</sup> (dont 2 <sup>c</sup> )	3	1		Positif
H180005	Hopital de Beyrouth, Liban <sup>b</sup>	38 (dont 33 <sup>c</sup> )	5 (dont 3 <sup>c</sup> )	4 (dont 1 <sup>c</sup> )	1		Positif
H180006	CHU Bordeaux (33)	3			1		Négatif
H180007	Hopital de Beyrouth, Liban <sup>b</sup>	3	2		1		Négatif
H180008	CHU Bordeaux (33)	3		1	1		Négatif
H180009	CHU Henri Mondor (94)		1				Demande annulée
H180010	CHU Necker (75)	1 <sup>a</sup>	1	2 <sup>a</sup>			Demande annulée
H180011	CHU Raymond Poincaré, Garches (92)		1	1			Demande annulée
H180012	Hopital de Beyrouth, Liban <sup>b</sup>	6	2	2	1	1 <sup>d</sup>	Négatif
H180013	CHU Nancy (54)		1 <sup>a</sup>	1	1 <sup>a</sup>		Négatif
<b>TOTAL</b>		33	21	15	8	1	

<sup>a</sup> Prélèvements non traités (reçus non conformes: décongelés ou non adaptés au diagnostic de rage humaine, ou reçus pour mise en œuvre d'analyses complémentaires ultérieures).

<sup>b</sup> Prélèvements reçus et analysés en collaboration avec les activités confiées à l'Unité LyEN en tant que Centre Collaborateur OMS de référence et d'expertise pour la rage.

<sup>c</sup> Prélèvements reçus mais non traités (diagnostic déjà établi).

<sup>d</sup> Expectations

### 2.5.3 Analyses sérologiques

Les anticorps antirabiques présents dans le sérum ou le LCS sont dosés par une technique immuno-enzymatique (ELISA) (Platelia™ Rabies II Kit, Bio-Rad) ou par séroneutralisation sur culture cellulaire (RFFIT) (cf. annexe 2).

Un total de **103 sérums** humains (hors demande de diagnostic de rage humaine, d'essais inter-laboratoires et protocoles de recherche clinique) a été reçu au CNRR au cours de l'année 2018,

représentant une hausse d'activité de 18% et de 72%, respectivement par rapport aux années 2016 (n=87) et 2017 (n=60). Le dosage des anticorps antirabiques a pu être mis en œuvre pour 101 de ces échantillons, 2 ayant été écartés (réception non conforme ou demande annulée). Treize de ces prélèvements de sérum provenaient de patients pris en charge après une exposition à des chauves-souris ou de suivi de chiroptérologues.

Les résultats sont communiqués aux responsables des services hospitaliers concernés par courrier. Le CNRR s'est fixé de communiquer 95% des résultats sérologiques obtenus par séroneutralisation dans un délai inférieur ou égal à 15 jours. En 2018, seul 57% des résultats ont été communiqués dans ce délai. Cependant le délai moyen pour la totalité des sérums analysés est de 16 jours.

## **2.6 Activités de séquençage**

### **2.6.1 Accès à une plateforme de séquençage à haut débit**

Le CNRR utilise la plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) de l'Institut Pasteur, qui est ouverte à l'ensemble des CNR ainsi qu'aux laboratoires de référence dans le Réseau International des Instituts Pasteur et instituts associés. Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M regroupe les demandes et permet ainsi l'utilisation en routine du séquençage à haut débit multi-pathogènes.

La technologie utilisée par cette plateforme de séquençage est la technologie Illumina (fabrication des banques + séquenceurs). Les banques sont préparées avec le kit Nextera XT et engagées sur le séquenceur NextSeq 500. Une série de matériels est également utilisée pour réaliser les contrôles de qualité tout au long du processus de fabrication de séquence. Des robots pipeteurs et extracteurs permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production.

### **2.6.2 Accès à une expertise bio-informatique**

Le CNRR fait appel aux bio-informaticiens du Centre de Bio-informatique, Bio-statistique et Biologie Intégrative (C3BI) de l'Institut Pasteur pour les opérations de démultiplexage. Pour le reste des analyses, le CNRR fait appel à des membres permanents de l'équipe de recherche de l'unité, des membres employés sur contrat dédié et des collaborateurs extérieurs dans des équipes à l'étranger qui ont une expérience en bio-informatique.

Les outils utilisés pour l'analyse des séquences (alignements multiples, analyses phylogénétiques) sont disponibles sur la plateforme Galaxy ou disponibles open source: BioEdit, MUSCLE, CLUSTALW2, ModelTest2, BEAST, MEGA, TRACERv1.6, FigTree V1.4.2, PhyML.

### 2.6.3 Séquençage à haut débit réalisé dans le cadre des activités du CNRR

Le CNRR a fait appel aux techniques de séquençage en 2018 à des fins d'investigation de cas de rage chez l'homme. Le séquençage du génome total des virus des 2 cas humains identifiés en 2018 a été obtenu par séquençage à haut débit. Cette analyse a permis de compléter l'analyse du gène de la nucléoprotéine obtenue par séquençage Sanger qui est moins précise. Toutes ces séquences ont été déposées ou sont en cours de dépôt sur la base de données publique GenBank, avec quelques métadonnées associées.

## 3 Activités de surveillance

### **Analyses de laboratoire concernant toutes les suspicions de rage humaine ainsi que toutes les suspicions de rage animale susceptibles d'avoir contaminé l'homme :**

- **Deux cas chez des chauves-souris ont été mis en évidence** en 2018 (1290 suspicions analysés).
- **Aucun cas humain n'a été confirmé à partir de patients français hospitalisés en France** (11 suspicions analysées) **mais 2 cas humains** ont été confirmés parmi 5 suspicions de rage chez des patients libanais hospitalisés au Liban..

### **Coordination des centres antirabiques (CAR) et évaluation de la politique vaccinale**

- Analyse épidémiologique de la prophylaxie de la rage humaine en France disponible pour l'année 2017 et publiée dans le dernier Bulletin Epidémiologie et Prophylaxie de la rage humaine en France paru en 2018 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). Une augmentation croissante des expositions survenues à l'étranger est notée.
- Participation depuis la fin 2016 au sein du HCSP à la réponse à une saisine de la DGS sur le thème de la révision des recommandations en matière de prophylaxie antirabique après exposition en fonction de la situation épidémiologique actuelle.
- Révision des recommandations internationales de l'OMS en matière de prophylaxie antirabique chez l'homme (pré- et surtout post-exposition) en liaison avec le Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé de référence et de Recherche sur la rage (CCOMS Rage) hébergé dans la même unité. Ces recommandations approuvées par le groupe SAGE ont promu un schéma de prophylaxie post-exposition par voie intradermique (ID) en 3 visites en remplacement des autres protocoles par voie ID.

### **3.1 Description du réseau de partenaires, des circuits de surveillances en fonction des analyses effectuées**

Le CNRR est impliqué dans un important réseau national de partenaires participant à la surveillance, et le cas échéant, au contrôle de la rage en France. En effet, de nombreux acteurs des secteurs humains et vétérinaires, au niveau local ou central, participent au contrôle de la rage en

France. Le CNRR constitue un maillon essentiel au sein de ce réseau de surveillance ainsi que dans le processus d'alerte. Plus particulièrement, le CNRR se situe à l'interface de trois types de circuits : l'un lié aux suspicions de rage humaine (circuit diagnostic humain), le deuxième relié aux cas animaux susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme (circuit diagnostic animal), le troisième constitué par le réseau des CAR est dédié à la prophylaxie de la rage humaine (Fig. 3 et 4). Il constitue donc un exemple fonctionnel de l'organisation de la lutte contre une zoonose selon le schéma d'une « seule santé » préconisé aujourd'hui par toutes les grandes organisations internationales de santé (OIE, OMS et FAO).

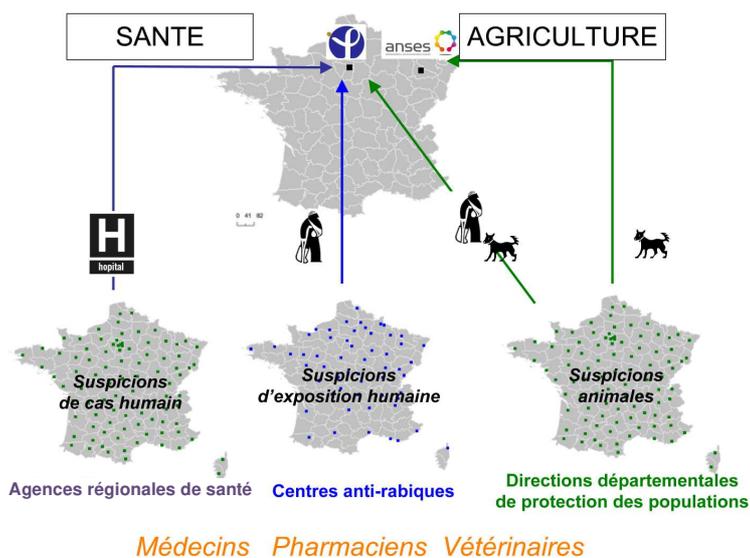
### 3.1.1 Circuit humain

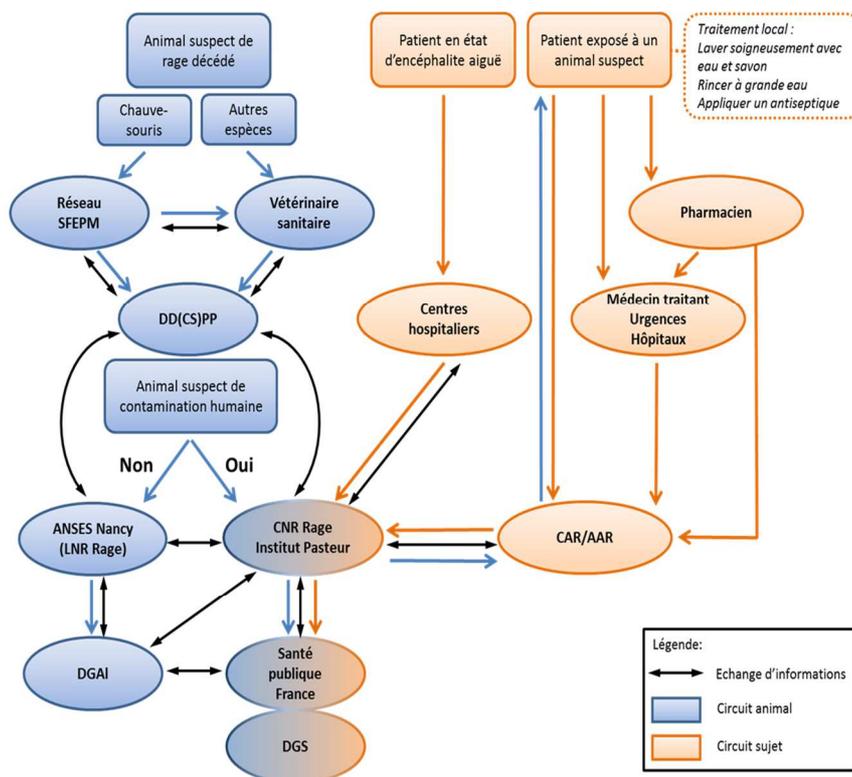
#### 3.1.1.1 Suspensions de rage humaine

Le CNRR centralise toutes les analyses concernant les suspicions de rage humaine (Fig. 3 et 4). Ces cas de suspicion sont communiqués directement au CNRR par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers nationaux voire internationaux. Ces suspicions concernent des patients présentant des troubles neurologiques d'étiologies indéterminées compatibles avec le diagnostic de rage, associés ou non à un antécédent de voyage à l'étranger ou à une exposition animale. Le CNRR intervient habituellement dans la démarche diagnostique d'une encéphalite d'origine indéterminée en deuxième voire troisième ligne des examens à visée étiologique.

En cas de diagnostic positif chez un patient hospitalisé en France, SpF et la DGS sont immédiatement informés par courriel, et éventuellement par télécopie et par téléphone suivant la procédure d'alerte mise en place au CNRR.

**Figure 3: Description des circuits de surveillance de la rage en France** (d'après Z. Lardon).



**Figure 4 : Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France.****Abréviations:**

SFPEM : Réseau de surveillance des chauves-souris, DD(CS)PP : Direction départementale (de la cohésion sociale et) de la protection des populations, ANSES : Agence nationale de sécurité de l'alimentation, de l'environnement et du travail, DGAI : Direction générale de l'administration, DGS : Direction générale de la Santé, CNR : Centre national de référence, LNR : Laboratoire national de référence, CAR : Centre antirabique / AAR : Antenne antirabique

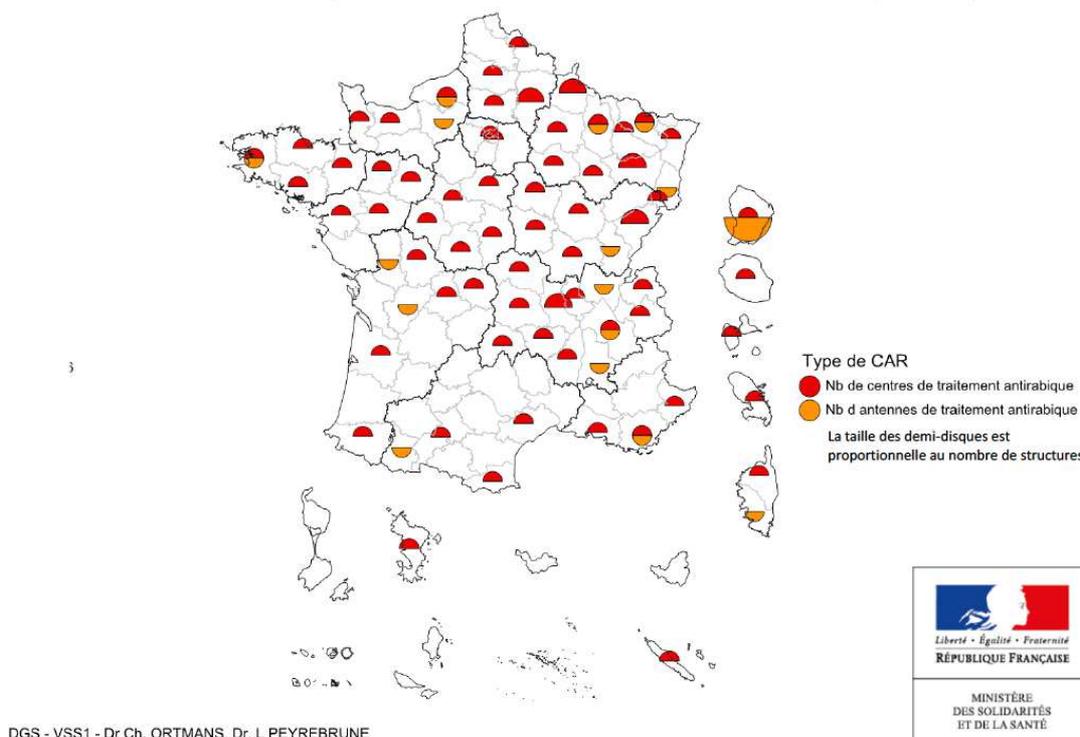
**3.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine**

La prophylaxie de la rage humaine est délivrée en France par les CAR et les AAR (Fig. 3 et 4). A l'inverse des CAR, les AAR ne sont pas habilitées à débiter un traitement antirabique mais peuvent prendre en charge la poursuite des traitements commencés dans les CAR. Actuellement, 71 CAR et 19 antennes sont répartis en France et dans les DOM (circulaire DGS/SD 5 C n° 2003-184 du 8 avril 2003 relative à la mise à jour de la liste des centres de traitement antirabique et des antennes de traitement antirabique ; circulaires DGS/SD 5 C du 14 novembre 2005, DGS/SD 5 C du 28 novembre 2007 et DGS/RI1/2016 du 5 janvier 2016 complétant la circulaire DGS/VS2 n° 99-304 du 26 mai 1999 modifiée relative à la mise à jour de la liste des centres de traitement antirabique et des antennes de traitement antirabique). Les CAR et les antennes sont répartis en majorité dans les services de pathologie infectieuse (42%), dans les services d'urgences des Centres Hospitaliers (22%), dans les services de médecine interne (14%) et les centres de vaccination (10%). La répartition géographique des CAR et des antennes montre une prédominance dans les régions du nord et de l'est de la France où l'épizootie de rage vulpine était présente jusqu'en 1998 (Fig. 5). L'évolution de l'épidémiologie de la rage animale, ainsi que la survenue de rares cas humains contractés en dehors du territoire français, ont mis en évidence le besoin de personnel médical formé sur tout le territoire.

**Figure 5 : Distribution des CAR/AAR sur le territoire français en 2017**

(Figure gracieusement fournie par le Dr Ortman, Sous-direction de la Prévention des Risques Infectieux, Direction Générale de la Santé).

Centres antirabiques (centre de traitement & antennes de traitement - 1er juin 2017)



La surveillance de la rage humaine et de sa prophylaxie est effective en France depuis 1982. La collaboration des CAR avec le CNRR permet l'édition annuelle d'un Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France, à la demande des Autorités de tutelle, SpF et DGS. Ces données sont aussi directement disponibles sur Internet, de façon sécurisée (identifiant nominatif et mot de passe) pour les membres des CAR autorisés et les personnes habilitées des organismes de tutelle, SpF et DGS. Les données sont saisies directement par les CAR (via le logiciel Voozanoo, Société Epiconcept), ou récupérées par la société Epiconcept ou par le CNRR à partir des données reçues sous format électronique. La mise à disposition du logiciel Voozanoo permet une saisie régulière tout au long de l'année. De fait, chaque CAR peut analyser et suivre son activité directement, les autorités de tutelle également.

L'analyse globale des données est effectuée annuellement lors de la parution du Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France. Les tableaux sont directement accessibles sur Internet. Des analyses intermédiaires et/ou complémentaires peuvent être effectuées par chaque utilisateur au moyen du module statistique. Une fois réalisée par le CNRR, cette analyse globale est envoyée par courrier électronique à tous les CAR et AAR et mise sur le site Internet de l'Institut Pasteur.

### 3.1.2 Circuit animal

Les DDPP ou DDCSPP, les LVD et les Ecoles Nationales Vétérinaires constituent les partenaires de ce réseau (Fig. 3 et 4). Ils adressent au CNRR tous les prélèvements animaux suspects de rage ayant pu entraîner une contamination humaine par léchage, griffure ou morsure, voire par simple manipulation, et ceci quelle que soit l'origine géographique de ces animaux. Ces prélèvements correspondent habituellement à **près de 80% des suspicions animales en France**. De manière complémentaire, l'Anses-Nancy traite spécifiquement des cas animaux non susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme. L'ensemble de ces partenaires permet d'obtenir un maillage très serré sur le terrain, offrant ainsi une surveillance nationale (France métropolitaine et d'Outre-mer) permanente et la plus exhaustive possible de tous les cas animaux suspects, y compris les chauves-souris. **L'activité du CNRR contribue donc pour une très grande part à l'analyse épidémiologique** effectuée par l'Anses-Nancy qui regroupe toutes les analyses pour recherche de rage animale faites en France. En 2018, 37 échantillons animaux suspects de contamination humains ont été adressés à l'Anses-Nancy du fait du déménagement de P3 du CNRR.

Le CNRR réalise régulièrement des enquêtes "satisfactions-clients" afin d'apprécier la qualité de ses services et de ses prestations auprès de l'ensemble des LDV et des DDPP (ou DDCSPP). La dernière enquête concerne la période 2017, et a été mise en œuvre en janvier 2018. Un taux de réponse de 57,4% des départements contactés a été noté. Parmi ces derniers, **le taux de satisfaction au regard des délais de rendu de résultats était de 92%**. Plus de 40% des entités interrogées signalaient connaître notre site internet, parmi lesquelles 92% étaient satisfaites du contenu. Les entités interrogées ont émis 2 réclamations pendant l'année 2017, ces réclamations concernaient l'envoi des comptes-rendus de résultats (mauvaise transmission par fax, erreur de destinataire). L'enquête satisfaction-client pour l'année 2018 est en cours.

## 3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques de la rage

### 3.2.1 Circuit humain

#### 3.2.1.1 Suspensions de rage humaine

Comme précédemment décrit, des prélèvements pour **8 patients hospitalisés en France et pour lesquels une suspicion de rage humaine avait été évoquée** ont été adressés au CNRR en 2018 et analysés par les techniques moléculaires, sérologiques et/ou de détection d'antigènes rabiques. Aucun cas positif de rage n'a été diagnostiqué pour un patient hospitalisé en France en 2018, les deux derniers cas positifs avaient été diagnostiqués par le CNRR en 2017 portant à 24 le nombre de cas de rage humaine recensés en France métropolitaine depuis 1970 (Tableau V).

Pour rappel, le dernier cas de rage humaine contractée en France métropolitaine remonte à 1924 alors que le seul cas autochtone dans les DOM a été enregistré en Guyane en 2008 chez un patient infecté par un virus rabique d'origine desmodine (virus de rage des chauves-souris hématophages d'Amérique latine).

En collaboration avec les activités confiées à l'Unité LyEN en tant que Centre Collaborateur OMS de référence et d'expertise pour la rage, le CNRR a analysé 5 demandes de diagnostic de rage humaine émanant du Ministère de la Santé du Liban, pays pour lequel les infrastructures ne permettent pas la réalisation de ce type de diagnostic. Deux d'entre elles ont été confirmés biologiquement.

**Tableau V: Cas humains de rage recensés en France depuis 1970. (\* cas de 2016 analysé rétrospectivement en 2017)**

Année	Sexe	Age (an)	Pays	Animal
1970	M	3	Niger	Chat
1973	M	10	Gabon	Chien
1976	M	5	Gabon	Chien
1976	M	18	Algérie	Chien
1976	M	28	Maroc	?
1976	M	10	Algérie	Chien
1977	M	2	Gabon	Chien
1977	M	4	Maroc	Chien
1979	F	57	Egypte	Chien
1979	M	36	Egypte	Greffe de cornée
1980	M	4	Tunisie	Chien
1982	M	40	Sénégal	Chien
1990	M	28	Mexique	Chien
1992	M	3	Algérie	Chien
1994	M	46	Mali	Chien
1996	M	3	Madagascar	Chien

1996	M	60	Algérie	Chien
1996	M	71	Algérie	Chien
1997	F	50	Inde	Chien
2003	M	3	Gabon	Chien
2008	M	42	Guyane	Chien
2014	M	57	Mali	?
2017*	M	41	Bangladesh	Chien
2017	M	10	Sri Lanka	Chien

### 3.2.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

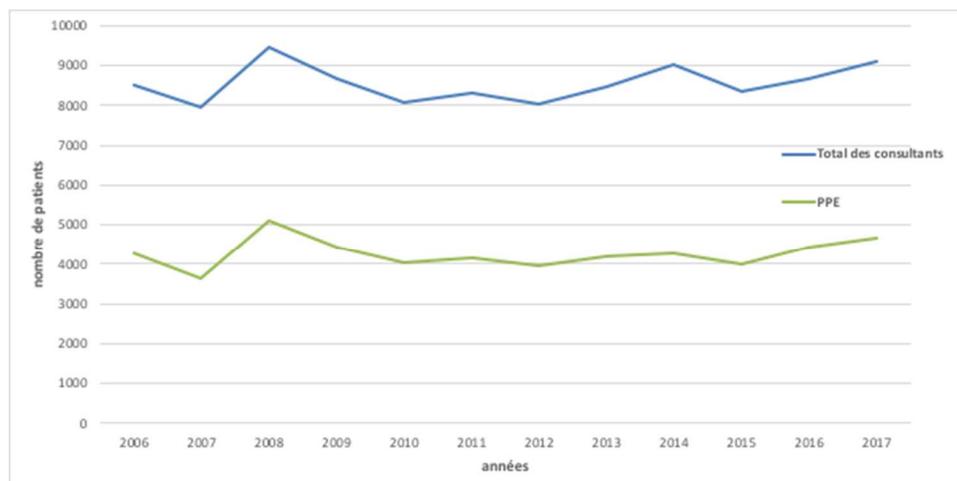
L'analyse globale des données est effectuée annuellement lors de la parution du Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France. L'édition du Bulletin de 2017 a été réalisée le 20 août 2018 et est disponible au lien suivant : <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>. Les données complètes pour l'année 2018 ne seront disponibles qu'au deuxième trimestre 2019. Au total, 55 CAR (sur un total de 71) ont directement transmis leurs données au CNRR pour l'année 2017. Les données de 9 AAR ont été transmises indirectement par l'intermédiaire de leur CAR de référence.

Pour 2017, un total de 9098 patients consultant au moins à une reprise dans un CAR français a été enregistré avec :

- 4673 patients ayant reçu une prophylaxie post-exposition (PPE) (51,4%)
- 4153 patients non traités (45,6%)
- 141 patients « de passage » (1,5%) ce qui correspond à des patients qui, après avoir commencé la PPE dans un CAR, l'ont poursuivie dans un autre centre ou antenne.
- 131 patients pour lesquels la notion de prophylaxie est manquante (1,4%)

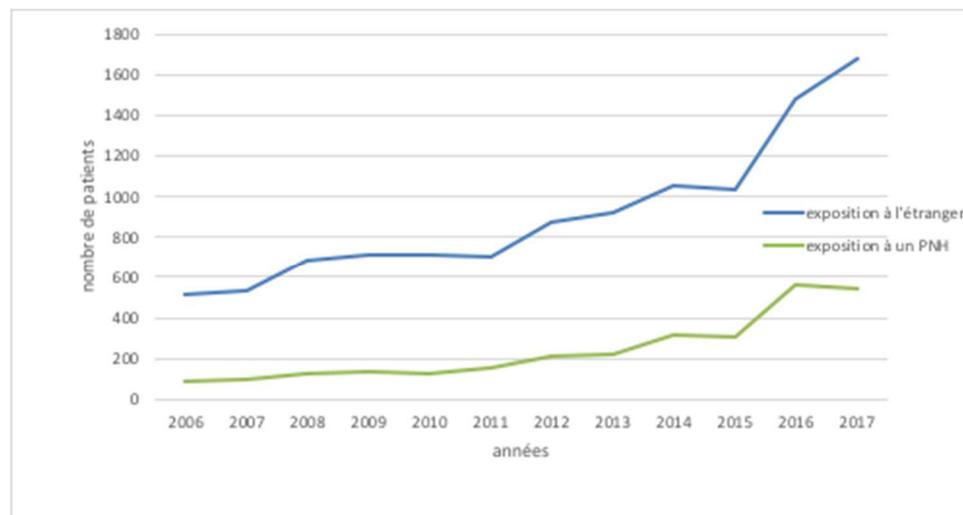
Depuis 2010, le nombre de PPE prescrites en France décroît de façon progressive mais lente, cependant l'analyse des données 2016 et 2017 montre une légère augmentation du nombre de prophylaxies prescrites en post-exposition sur le territoire français par rapport à 2015 (Fig. 6). Les PPE prescrites suite à une exposition avec un chat ont diminué depuis 2014 suite à la décision de nombreux CAR de ne plus vacciner les patients exposés à un chat sur le territoire français en raison d'un risque de transmission quasi-nul et sont restées stables depuis. En revanche les PPE prescrites suite à une exposition à un animal autre que chien et chat sont en augmentation depuis 2015.

**Figure 6 : Evolution du nombre de patients consultants dans un CAR ou une AAR et du nombre de PPE délivrées (2006 à 2017)**



Cette augmentation n'est pas expliquée par un contexte épidémiologique particulier sur notre territoire puisque aucun cas de rage importé n'a été déclaré en 2016 mais est probablement en rapport avec une augmentation croissante des expositions survenues à l'étranger. En effet, en 2017, la part des PPE liées à des expositions survenues hors du territoire métropolitain continue d'augmenter et représente plus de 35% de toutes les PPE délivrées dans les CAR français (Fig. 7). La part des expositions aux primates non humains (PNH) est elle aussi en augmentation depuis 10 ans ; la majorité de ces expositions ayant lieu dans un contexte de voyage à l'étranger. L'augmentation des PPE prescrites suite à une exposition en zone d'endémie reflète une mauvaise connaissance des risques liés à la rage par les voyageurs. Ce risque nous a été malheureusement rappelé ces dernières années avec le décès de rage d'une jeune française au Cambodge en 2015 et celui d'un enfant de 10 ans mordu au Sri-Lanka en 2017. Ces deux patients n'avaient bénéficié ni de vaccination pré-exposition avant leur séjour ni de prophylaxie post-exposition. L'effort de sensibilisation du public au risque rabique à l'étranger et à la vaccination pré-exposition doit être poursuivi dans les centres de vaccinations internationales mais également dans les cabinets des médecins généralistes et les lieux de transit des voyageurs.

**Figure 7 : Evolution du nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients exposés à l'étranger et chez des patients exposés à des PNH à l'étranger (2006-2017)**



#### Révision des indications recommandations nationales en matière de prophylaxie post exposition

Le CNR participe depuis fin 2016 au groupe de travail constitué par le Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) suite à la saisine de la DGS afin de proposer **des recommandations d'indication de traitement antirabique après exposition adaptées à la situation épidémiologique actuelle**. Les recommandations formulées par le groupe de travail seront publiées fin mars 2019 ; elles permettront d'harmoniser les attitudes des prescripteurs des différents CAR et de clarifier les indications de PPE. En raison du risque épidémiologique actuel sur le territoire français considéré comme très faible voire nul, les PPE ne seront plus indiquées pour les individus exposés à un animal (hors chauves-souris) sur le territoire français (hors Guyane) en dehors des expositions à un animal connu pour avoir été importé illégalement depuis une zone d'enzootie rabique. Ces recommandations devraient entraîner une diminution significative du nombre de PPE délivrées, permettant aux praticiens de diriger leurs efforts sur la prévention et la prise en charge des expositions ayant eu lieu en zone d'enzootie rabique.

#### Conclusion

En 2018, aucun cas de rage humaine n'a été diagnostiqué sur le territoire français, cependant le CNR, dans le cadre de ses missions de CCOMS, a réalisé le diagnostic de rage pour 2 patients hospitalisés au Liban pour des encéphalites dans les suites de morsure de chien. Ces 2 cas de rage humaine ainsi que les 2 cas diagnostiqués en France en 2016 soulignent l'importance du risque d'exposition à la rage pour les voyageurs français. Les recommandations du HCSP sur les indications de PPE prennent parfaitement compte de ce risque et permettront de renforcer les efforts des CAR et AAR sur les situations réellement à risque de transmission de rage et en particulier les expositions survenues dans les pays où l'endémie de rage canine n'est pas contrôlée.

### 3.2.2 Circuit animal

Au niveau épidémiologique, le dernier cas de rage vulpine en France a été diagnostiqué à l'Institut Pasteur sur un chat en provenance de Moselle en décembre 1998. Cependant, le suivi épidémiologique de la rage animale doit être maintenu. En effet, bien que faible, le risque d'exposition à la rage en France suite à l'importation illégale d'animaux non protégés originaires de zones d'enzootie, notamment celles situées en Afrique du Nord, persiste. **Cette situation n'a toutefois pas été observée en 2018.** Il est à noter cependant que le CNRR a reçu et traité en 2018 un total de **45 animaux importés dont 22 illégalement** (selon les indications mentionnées sur les commémoratifs associés aux prélèvements). Parmi ces 45 cas d'importation, 17 étaient originaires des pays du Maghreb (Tableau III).

Les chiroptères représentent toujours, en France métropolitaine, un risque de transmission de lyssavirus à l'homme comme le démontrent les 2 chauves-souris qui ont été diagnostiquées positives par le CNRR en 2018. Une chauve-souris originaire de Bourges dans le Cher et une autre originaire de Sainte Menehould dans le département de la Marne ont été diagnostiquées positives respectivement le 13 juillet et 30 septembre 2018. Le typage par séquençage des souches a montré qu'il s'agissait de virus EBLV-1b. Par ailleurs, 4 cas ont été identifiés par l'Anses-Nancy en 2018 au travers du réseau de surveillance passive : 4 EBLV-1 sur *Eptesicus serotinus*.

Enfin, les mouvements d'animaux exotiques augmentent les risques d'introduction de la rage en France. Ils représentent un risque d'introduction en France de lyssavirus n'existant pas en Europe. Ce type de problème n'a pas été à l'origine de cas durant la période examinée dans ce rapport.

### **3.3 Surveillance de la résistance des lyssavirus à la prophylaxie médicale**

Chaque année plus d'une centaine de patients consultent un CAR en France après avoir été exposés à une chauve-souris en métropole. Certains de ces patients pourraient être exposés à des chauves-souris enrégées confirmées en laboratoire. Enfin, l'isolement et la caractérisation de nouvelles espèces de lyssavirus circulant chez les chauves-souris en France et en Europe posent des problèmes potentiels de franchissement de la barrière d'espèce et d'infection de l'homme. Il est donc important d'analyser la capacité de couverture vaccinale apportée par les vaccins antirabiques actuels vis-à-vis de ces nouvelles espèces de lyssavirus.

Le CNRR avait contribué en 2017 à une étude internationale (Eggerbauear et al. Adv Virus Res 2017), montrant que les vaccins inactivés humains disponibles induisent une réponse anticorps qui neutralise le BBLV et, par conséquent, sont considérés comme conférant une protection contre le BBLV. Cette étude avait complété d'autres études menées par des collègues européens (Malerczyk et al., 2014; Nolden et al. 2014).

Aujourd'hui, les recommandations françaises concernant la vaccination préventive systématique de toutes les personnes travaillant avec des chauves-souris et concernant la PPE de toutes les personnes exposées aux chauves-souris restent inchangées (Haut Conseil de la santé publique, 2013,

Lafeuille et al., 2005), mais une nouvelle analyse de ces recommandations à la lumière de ces nouvelles connaissances devrait être envisagée. Ceci d'autant plus qu'en 2018, la présence de la nouvelle espèce *Lleida bat lyssavirus* (LLEBV), appartenant à un phylogroupe habituellement non couvert par la vaccination antirabique actuelle, a été observée en France métropolitaine.

### **3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux et internationaux**

Le CNRR contribue pour une très grande part à la surveillance de la rage animale (animaux domestiques et sauvages y compris chauves-souris) en France. A ce titre, il contribue à la surveillance de la rage animale coordonnée par l'Anses-Nancy et au réseau de surveillance de la rage animale en France.

Le CNRR travaille en étroite collaboration avec de nombreuses organisations (ECDC, OMS) et de nombreux laboratoires travaillant dans le domaine de la rage en Europe (Centre Collaborateur de l'OMS de Surveillance et de Recherche sur la Rage, Friedrich-Loeffler-Institut en Allemagne, responsable du Bulletin d'information sur la rage en Europe, disponible à l'adresse <http://www.who-rabies-bulletin.org>). Il participe aussi très activement à la surveillance de la rage au sein du réseau international des instituts Pasteur particulièrement en Asie et en Afrique.

Le CNRR contribue, en liaison avec le Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé de référence et de Recherche sur la rage (CCOMS Rage) hébergé dans la même unité de recherche à l'Institut Pasteur, à la surveillance et au contrôle de la rage en Europe et plus généralement dans le monde:

- **Au niveau européen:** contribution à la surveillance de la rage en Europe, échange de données et collaborations avec les autres institutions nationales et européennes en charge de la rage.
- **Aide aux pays en développement, en particulier en Afrique et en Asie,** pour le contrôle de la rage par des actions de **formations** (cours et conférences sur la rage) et de **lobbying** en collaboration avec des organisations internationales (OMS, OIE, FAO, Alliance mondiale pour la rage, Réseau Pan-African Rabies Control Network (PARACON), réseau Rabies in West Africa (RIWA), réseau Middle East and Eastern Europe Rabies Expert Bureau (MeeREB), réseau international des Instituts Pasteur, etc.). Ces actions contribuent à la diminution du fardeau de la rage dans ces pays et par voie de conséquence à la réduction du risque d'importation d'animaux enrégés en Europe et plus particulièrement en France.
- **Contribution à la révision des ouvrages de référence OMS en matière de rage :** Rapport de la consultation des experts sur la rage (WHO Technical Report Series) et manuel technique (WHO manual).
- **Contribution à la révision de la définition de cas de rage dans le code terrestre de l'OIE (Terrestrial code)**

### 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

L'épidémiologie de la rage en France et en Europe occidentale a évolué au cours des 22 dernières années. La France est indemne de rage chez les mammifères terrestres non volants depuis 2001. Le risque de rage se limite donc maintenant au contact avec des chauves-souris ou avec des animaux enrégés importés illégalement. Enfin, de nombreux voyageurs sont exposés dans des zones où la rage est enzootique. Face à l'évolution de la situation épidémiologique de la rage en France, le CNRR a analysé les données sur la surveillance de la rage humaine ainsi que des données sur la prophylaxie post-exposition (PEP) recueillies auprès du réseau des CAR de 1995 à 2016.

Au cours de la période d'étude, la rage a été confirmée au laboratoire chez sept patients, tous infectés hors de France métropolitaine. L'analyse des données de PPE a révélé certes une diminution globale de l'administration de PPE chez les personnes exposées en France métropolitaine mais cette dernière n'est pas aussi importante que ce que l'évolution de la situation épidémiologique pourrait permettre. De plus, une augmentation significative de la PPE délivrée à des personnes exposées à l'étranger a été mise en évidence. Ces tendances épidémiologiques indiquent que des directives claires devraient être fournies pour soutenir les efforts des médecins pour adapter l'évaluation des risques liés à l'évolution de la situation épidémiologique de la rage en France.

*(Parize P, Dacheux L, Larrous F, Bourhy H; The French Network Of Antirabies Clinics. The shift in rabies epidemiology in France: time to adjust rabies post-exposure risk assessment. Euro Surveill. 2018 Sep;23(39). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.39.1700548. PMID:30280687)*

## 4 Alerte

En 2018, 1290 suspicions chez l'animal (plus 37 initialement destinées au CNRR mais adressées à l'ANSES dans le cadre de l'accord passé pour organiser la surveillance pendant le déménagement de local P3 du CNRR) et 8 suspicions chez l'homme (patients hospitalisés en France) ont été investiguées par le CNRR chez des patients hospitalisés en France. **Aucun cas** n'a été mis en évidence chez l'homme mais **2 cas** ont été identifiés chez des chauves-souris en 2018.

## 5 Activités de rétro-informations, de formation et de conseil

### 5.1 Conseil et expertise auprès des professionnels de santé

Le CNRR répond quotidiennement aux nombreuses demandes de renseignements et conseils émanant de personnes mordues, de médecins, de vétérinaires, de CAR ainsi que des responsables sanitaires départementaux (réponses téléphoniques: environ 400/an; réponses par courriel: environ 400/an; courriers et télécopies: environ 2000/an). Les interrogations par courrier électronique sont faites à l'adresse [cnrrage@pasteur.fr](mailto:cnrrage@pasteur.fr). Sont regroupés sous cette adresse les membres du CNRR de formation diverse, médecins, vétérinaire, pharmacien. Pour les questions exclusivement médicales, une adresse arrivant uniquement à l'équipe médicale, garantissant ainsi la confidentialité pour les patients, est disponible à l'adresse [consrage@pasteur.fr](mailto:consrage@pasteur.fr).

Des articles sont régulièrement publiés dans la presse médicale et épidémiologique internationale. Ils visent à informer les professionnels de santé au travers de revues spécialisées au diagnostic et à la prophylaxie de la rage dans un contexte épidémiologique changeant, comme avec l'article suivant publié dans le Référentiel en Microbiologie Médicale (REMIC) : Bourhy H, Dacheux L, Parize P., La rage et les lyssavirus. Société Française de Microbiologie, Société Française de Mycologie Médicale et Société Française de Parasitologie 6<sup>ème</sup> édition.

### **Diffusion des données sur la prophylaxie de la rage chez l'homme**

Les personnes autorisées des CAR et des organismes de tutelle (SpF, DGS) peuvent se connecter sur le site <https://epidemie.pasteur.fr/rage/vaccilab/> grâce au logiciel Voozаноо et au moyen d'un identifiant et d'un mot de passe individuel donné par la société Epiconcept. Grâce à ce logiciel sécurisé et selon le niveau d'accès attribué par le CNRR et le directeur du CAR, ces personnes sont autorisées à rentrer directement leurs données sur l'application Voozаноо dédiée, les consulter et effectuer des analyses simples. Ils peuvent aussi accéder aux données générales du CNRR de l'année en cours ou précédente. En 2017, il a été utilisé par 77,5% des CAR pour saisir leurs données. Les données 2018 ne sont pas encore entièrement disponibles.

Le Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France, édité annuellement par le CNRR depuis 1982, rassemble les données des CAR de France et des départements d'Outre-mer. Les données, anonymes, sont envoyées sur la base du volontariat au CNRR qui les analyse. Les éditions du Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France sont disponibles directement sur Internet (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). Les données de ce Bulletin sont également disponibles sous la forme d'un fichier au format .pdf pour tous les organismes (ARS, DDPP, écoles vétérinaires, etc.) qui en font la demande. Enfin, ce Bulletin est envoyé par courrier électronique aux responsables des CAR.

### **Cours, formations, évaluations**

Ces cours et formations délivrés par des membres du CNRR sont labellisés par les universités. Ils contribuent de manière importante à la formation des nombreux médecins et vétérinaires qui y assistent.

- Cours Pasteur, Circulation des agents infectieux et maîtrise du risque, Ecole Pasteur – CNAM de Santé publique, Institut Pasteur, France, 24 janvier 2018. « Rage et Lyssavirus : aspects épidémiologiques, réservoirs et prévention » (H. Bourhy)

- Diplôme inter-universitaire (DIU) de Vaccinologie, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, France, 21 mars 2018. « Vaccination contre la rage » (L. Dacheux)

- Intervention dans le cadre du Réseau francophone sur les Maladies Tropicales Négligées (MTN), sur la thématique du diagnostic des MTN d'origine bactérienne et virale, Paris, France, 7 mai 2018. « Outils de diagnostic de la rage » (L. Dacheux)

- Intervention dans le cadre du 14<sup>ème</sup> séminaire de la Société Franco-Japonaise des Sciences Vétérinaires, Tokyo, Japon. « Situation actuelle de la rage en France » (L. Dacheux).

- Master 2 A21, « Circulation des agents pathogènes et maladies infectieuses et parasitaires animales », Université Paris Saclay, France, 3 octobre 2018. « Le virus de la rage et les lyssavirus apparentés : mécanismes de diffusion et persistance dans un écosystème » (H. Bourhy).

- Master 2, Virologie médicale et moléculaire, Université Paris-Diderot, France, 9 octobre 2018 « Rhabdovirus » (H. Bourhy).

- Master 2, MBPV « mécanismes moléculaires et cellulaires des interactions hôtes micro-organismes », Université Paris Sud, France, 29 octobre 2018. « Physiopathologie de la rage » (H. Bourhy).

- Master SEMHA « Surveillance épidémiologiques des maladies humaines et animales ; CES Epidémiologie animale, Université de Montpellier-CIRAD, Montpellier, France, 21 novembre 2018. « Le réseau d'épidémiosurveillance de la rage » (H. Bourhy)

### **Reçus dans le cadre de la formation des médecins responsables des CAR**

Une journée de formation au CNRR est obligatoire pour tous les médecins responsables des CAR (circulaire ministérielle DGS/AP/2 N°1239, Note du 15 janvier 1987). Les personnes reçues au CNRR dans ce cadre en 2018 sont les suivantes:

- Dr Emilie REYGADE, CAR de Aurillac, le 19 mars 2018
- Dr. Chantal VASSILIEF, CAR de Aurillac le 19 mars 2018
- Dr Xiména LLOBET, CAR de Aurillac, le 9 avril 2018
- Dr Pascale MORINEAU LE HOUSSINE, CAR de Nantes, le 8 octobre 2018
- Dr Naima KARA Naima, CAR de Metz, le 21 novembre 2018
- Dr Rosalie NARI-CASALTA, CAR de Bastia, le 3 décembre 2018

### **Informations présentes sur le site internet**

Le site internet du CNRR est disponible à l'adresse <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage>. Les informations disponibles sur ce site comprennent le rappel des missions et des activités du CNR, les informations nécessaires à l'envoi des échantillons et les rapports d'activité et bulletins (rapport d'activité 2017 mis en ligne en août 2018). Ce site est actualisé environ 2 fois par an (dernière actualisation le 04 mars 2019).

## ***5.2 Activités d'expertise auprès du ministère chargé de la santé, de Santé Publique France, des agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité en Santé, de structures européennes ou internationale***

### **5.2.1 Actions au niveau national**

Le CNRR est régulièrement consulté par la DGS, SPF, la DGAI, et l'Anses. Les ONG et les Ambassades de France font aussi appel au CNRR pour obtenir des renseignements concernant le traitement après exposition et la fourniture de vaccins et de sérums antirabiques. Le site Internet du

CNRR, présent sur le portail Internet de l'Institut Pasteur, permet d'obtenir des informations pratiques mises à jour régulièrement, telle la liste des CAR en France et leur adresse (<http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-referance/les-cnr/rage>).

Le CNRR participe depuis la fin 2016 au sein du HCSP à la réponse à une saisine de la DGS sur le thème de la révision des recommandations en matière de prophylaxie antirabique après exposition en fonction de la situation épidémiologique actuelle.

### 5.2.2 Actions au niveau international

Au niveau européen, le CNRR collabore d'une manière régulière avec le Centre Collaborateur de l'OMS de Surveillance et de Recherche sur la Rage au Friedrich-Loeffler-Institut en Allemagne, responsable du Bulletin d'information sur la rage en Europe (disponible à l'adresse <http://www.who-rabies-bulletin.org>). Il collabore aussi avec l'ECDC, par exemple en aidant au diagnostic de la rage dans certains pays.

Le directeur du CNRR est aussi directeur du Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche sur la Rage (CCOMS Rage) et membre du panel d'expert sur la rage de l'OMS. Ces différentes missions regroupées au sein de l'unité LyEN de l'Institut Pasteur, permettent donc un suivi épidémiologique et fondamental de la rage à la fois au niveau national et international.

A la demande de certains centres hospitaliers situés dans des pays européens, ou extra européens notamment ceux ne bénéficiant pas de centre national de référence de la rage et/ou sur la recommandation de l'ECDC, le CNRR peut également être amené à réaliser un diagnostic *intra-vitam* ou *post-mortem* de rage pour des patients hospitalisés dans leurs services. Cinq suspicions en provenance de Beyrouth, Liban, ont été reçues dans ce cadre en 2018.

Le CNRR contribue, en liaison avec le Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé de référence et de Recherche sur la rage (CCOMS Rage) hébergé dans la même unité de recherche à l'Institut Pasteur, à la surveillance et au contrôle de la rage en Europe et plus généralement dans le monde:

- **Au niveau européen:** contribution à la surveillance de la rage en Europe, échange de données et collaborations avec les autres institutions nationales et européennes en charge de la rage.
- **Aide aux pays en développement, en particulier en Afrique et en Asie,** pour le contrôle de la rage par des actions de **formations** (cours et conférences sur la rage) et de **lobbying** en collaboration avec des organisations internationales (OMS, OIE, FAO, Alliance mondiale pour la rage, Réseau Pan-African Rabies Control Network (PARACON), réseau Rabies in West Africa (RIWA), réseau Middle East and Eastern Europe Rabies Expert Bureau (MeeREB), réseau international des Instituts Pasteur, etc.). Ces actions contribuent à la diminution du fardeau de la rage dans ces pays et par voie de conséquence à la réduction du risque d'importation d'animaux enrégés en Europe et plus particulièrement en France.

- **Contribution à la révision des ouvrages de référence OMS en matière de rage :** Rapport de la consultation des experts sur la rage (WHO Expert Consultation on Rabies : WHO TRS N°102, 3rd report [https://www.who.int/rabies/resources/who\\_trs\\_1012/en/](https://www.who.int/rabies/resources/who_trs_1012/en/)) et manuel technique (Laboratory techniques in rabies, 5th edition, Vol 1 and 2, WHO : <https://www.who.int/rabies/resources/9789241515153/en/>).
- **Contribution à la révision de la définition de cas de rage dans le code terrestre de l'OIE (Terrestrial code :** <http://www.oie.int/en/standard-setting/terrestrial-code/>)
- **Contribution à la révision du Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals,** OIE, Ed 2018 : [http://web.oie.int/boutique/index.php?page=ficprod&id\\_produit=1554&lang=fr](http://web.oie.int/boutique/index.php?page=ficprod&id_produit=1554&lang=fr))

### Enseignements internationaux

Le CCOMS Rage en collaboration avec le CNRR a organisé quatre ateliers sur la rage délivrés par des sessions de télé-enseignement d'environ deux mois et demi complétées par un atelier pratique de 11 jours. Ces sessions ont eu lieu à Dakar, Sénégal, en décembre 2013, à Phnom-Penh, Cambodge, en novembre 2015 et à Yaoundé, Cameroun, en octobre 2016 et à Amol en Iran en octobre 2017. Ces ateliers sont organisés conjointement avec l'OMS, l'Université de Lausanne, la fondation HSET, le Réseau International des Instituts Pasteur et avec la collaboration de l'OIE, de la FAO et de l'Alliance Globale de Contrôle de la Rage (GARC). Dans ce cadre, 89 professionnels de santé (médecins, vétérinaires, universitaires, etc.) provenant de 38 pays différents principalement d'Afrique et d'Asie ont été formés au concept de la lutte intégrée et de la collaboration intersectorielle. Le prochain atelier est en cours d'organisation (<http://predemics.biomedtrain.eu>). Il aura lieu au Maroc en Septembre 2019 et complétera le plan de contrôle et d'élimination de la rage au Maghreb. En parallèle, différents workshops ponctuels sur les aspects moléculaires de la surveillance de la rage ont été réalisés au cours de l'année 2018 en Afrique centrale et de l'Ouest (Mali, Côte d'Ivoire et République Centrafricaine), au travers des programmes de recherches en cours dans ces régions.

### 5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grands public...)

Les médias trouvent enfin auprès du CNRR une source d'informations fiables et régulièrement mises à jour. Le CNRR contribue au travers des médias à l'information du public. En 2018, le CNRR (L. Dacheux) a été interviewé dans le cadre d'un article du journal Le Parisien sur la pénurie de vaccins contre la rage (édition du 19/07/18).

## 6 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

### 6.1 Activités de recherche en cours

#### 6.1.1 Etude des circonstances de contact à risque de transmission de lyssavirus entre les chauves-souris et l'homme sur le territoire français

L'étude de la rage des chauves-souris est un sujet qui est développé depuis longtemps à l'Institut Pasteur et au CNRR en particulier. Ces études concernent plusieurs problématiques de recherche fondamentale ayant des répercussions en santé publique.

Les contacts entre l'homme et les chauves-souris ne sont pas rares notamment en raison du caractère anthropophile de certaines espèces européennes. Cependant le risque de transmission de lyssavirus à l'homme par les chauves-souris est très mal connu du grand public. Cette mauvaise perception est probablement responsable de comportements inadaptés : manipulation de chauves-souris sans protection, absence de signalement d'une chauve-souris malade ou morte aux services vétérinaires, absence de consultation dans un centre antirabique après une exposition à une chauve-souris.

Nous avons souhaité étudier, de façon rétrospective, les circonstances de contact entre les chauves-souris et l'homme sur le territoire français afin de mieux connaître les caractéristiques de ces interactions et de tenter de mettre en évidence les caractéristiques de contact à risque de transmission de lyssavirus chez l'homme lors d'une exposition à une chauve-souris en France métropolitaine. Cette étude menée par Isabel Travecedo, étudiante en M2 dans notre unité, a permis de colliger les données associées à 425 chauves-souris reçues au CNR pour diagnostic de rage et à 1718 patients ayant consultés dans un CAR suite à une exposition à une chauve-souris entre 2003 et 2016. L'analyse de ces données met en évidence un risque d'interaction homme-chauve-souris faible (incidence estimée 1,96 pour 10<sup>6</sup> personnes années), 4% des chauves-souris analysées étaient positives pour un lyssavirus et les facteurs associés à cette positivité étaient le genre féminin de la chauve-souris et l'espèce *Eptesicus serotinus*. Cette étude originale apporte un éclairage nouveau sur la compréhension des interactions homme-chauve-souris et pourrait permettre de mieux définir les messages de prévention à visée du grand public et de limiter le risque de transmission des lyssavirus des chauves-souris vers l'homme. Ce travail donnera lieu à une publication en 2019.

#### 6.1.2 Analyse de la dispersion spatio-temporelle des différents lyssavirus européens de chauves-souris et mécanismes de leur persistance chez des chauves-souris non-synanthropiques

L'unité LyEN et le CNRR ont poursuivi un long travail de suivi longitudinal et de surveillance passive de l'infection de chauves-souris européennes par les lyssavirus. Ces études ont utilisé plusieurs approches : recueil de données écologiques, sérologiques et virologiques sur le terrain, études phylogénétiques des isolats, modélisation mathématique de l'infection en essayant d'intégrer

tous les paramètres recueillis afin d'obtenir des informations sur la dynamique spatio-temporelle de la rage dans les colonies de chauves-souris. Elles ont été entreprises dans le cadre du programme européen PREDEMICS (<http://predemics.biomedtrain.eu>) en collaboration avec J. Serra-Cobo (Université de Barcelone) et poursuivies avec de nombreux collaborateurs français et étrangers.

La compréhension de la fréquence et de l'importance des mouvements de chauves-souris infectées par les lyssavirus pourrait permettre de prédire la diffusion potentielle de la rage au sein d'un écosystème complexe dans le but ultime de prévenir l'homme d'une exposition éventuelle.

Dans ce contexte, le CNRR a contribué en collaboration avec Davide Colombi et Vittoria Colizza (UMR-S 1136 Inserm & UPMC 24, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, Paris) et Jordi Serra Cobo de l'Université de Barcelone, Espagne, à l'élaboration de modèles épidémiologiques afin de mieux estimer et étudier les mécanismes de persistance des virus EBLV-1 au sein des populations de chauves-souris. Un modèle de métapopulation spatialement explicite basé sur les données a été développé pour identifier les mécanismes de la persistance observée du virus EBLV-1, l'espèce de lyssavirus la plus commune trouvée en Europe et en France. Le modèle se base sur les données existantes d'une vaste étude de terrain ciblant 2 espèces de chauves-souris *Myotis myotis* et *Miniopterus schreibersii* en Catalogne, en Espagne.

La persistance d'EBLV-1 dépend de la structure spatiale et de la nature migratrice des chauves-souris *M. schreibersii*, du mélange d'espèces en particulier avec la population de *M. myotis* dans certains gîtes et de la progression de la maladie menant à la survie des animaux infectés. En conclusion, cette étude montre que le partage des habitats et le mouvement des animaux apparaissent comme des facteurs clés dans la diffusion du virus dans l'espace. Cette approche peut aider à comprendre la diffusion spatiale du virus observée à plus grande échelle à travers une gamme plus variée d'espèces hôtes et à longue distance, et peut être facilement adaptée à d'autres pathogènes zoonotiques d'intérêt pour la santé publique.

(Colombi D, Serra-Cobo J, Métras R, Apolloni A, Poletto C, López-Roig M, Bourhy H, Colizza V. Mechanisms for lyssavirus persistence in non-synanthropic bats in Europe: insights from a modeling study. *Sci Rep.* 2019 Jan 24;9(1):537. doi: 10.1038/s41598-018-36485-y. PMID:30679459)

La large répartition géographique et la diversité génétique des lyssavirus associés aux chauves-souris en Europe suggèrent que des virus similaires pourraient également être hébergés chez les chauves-souris insectivores italiennes. En collaboration avec Paola de Benedictis et son équipe de l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, à Padoue, Italie, et celle de Jordi Serra Cobo de l'Université de Barcelone, Espagne, nous avons recherché la présence de ces virus en Italie. Les chauves-souris ont été intégrées pour la première fois au programme national de surveillance passive de la rage chez les animaux sauvages en Italie dans les années 1980. Une surveillance active est en place depuis 2008. Les stratégies de surveillance active mises en œuvre ont permis de détecter des anticorps neutralisants dirigés contre EBLV-1 dans 6 des 9 colonies de maternité ayant fait l'objet de cette étude en Italie. Les chauves-souris séropositives appartenaient aux espèces *Myotis myotis*, *M. blythii* et *Tadarida teniotis*. En revanche, le virus n'a été détecté ni par surveillance passive ni par surveillance active. Néanmoins, le nombre de soumission de cadavre d'animaux reste faible. En

particulier, les soumissions n'incluaient pas les carcasses d'espèces de chauves-souris qui représentent la majorité des cas d'infection par le lyssavirus de chauves-souris en Europe, telles que *Eptesicus serotinus*, *M. daubentonii*, *M. dasycneme* et *M. nattereri*.

(Leopardi S, Priori P, Zecchin B, Poglayen G, Trevisiol K, Lelli D, Zoppi S, Scicluna MT, D'Avino N, Schiavon E, Bourhy H, Serra-Cobo J, Mutinelli F, Scaravelli D, De Benedictis P. Active and passive surveillance for bat lyssaviruses in Italy revealed serological evidence for their circulation in three bat species. *Epidemiol Infect.* 2018 Dec 4;1-6. doi: 10.1017/S0950268818003072. PMID:0511606)

Les cas de rage de chauve-souris en Europe sont principalement attribués à deux lyssavirus, à savoir le lyssavirus européen 1 (EBLV-1) et le lyssavirus européen 2 (EBLV-2). Suite à la mort d'un patient infecté par une chauve-souris en Finlande en 1985, très peu de cas de rage ont été rapportés. Cependant, la surveillance renforcée au cours des deux années suivantes a permis d'identifier de nombreux cas. Ainsi, entre 1977 et 2016, 1183 cas de rage de chauve-souris ont été signalés, la grande majorité (> 97%) étant attribuée à EBLV-1. En revanche, il n'y a eu que 39 cas suspects d'EBLV-2, dont 34 ont été confirmés par typage viral et sont actuellement limités à seulement deux espèces de chauves-souris, *Myotis daubentonii* et *Myotis dasycneme*. Le nombre limité de cas d'EBLV-2 en Europe a conduit à la création d'un réseau de laboratoires de référence européens, auquel le CNRR a contribué par l'analyse d'isolats en provenance d'autres pays européens que la France, chargés de rassembler tous les virus et toutes les données disponibles. Malgré le nombre relativement faible de cas d'EBLV-2, une grande quantité de données anormales a été publiée dans la littérature scientifique. Cette publication a permis de les revoir et de les clarifier. Enfin, 29 séquences du génome complet d'EBLV-2 ont été analysées pour approfondir notre compréhension de la diversité et de l'évolution moléculaire d'EBLV-2 en Europe. L'analyse de ces séquences a permis d'identifier des regroupements géographiques et de déterminer le taux moyen de substitution des génomes (horloge moléculaire) d'EBLV-2.

(McElhinney LM, Marston DA, Wise EL, Freuling CM, Bourhy H, Zanoni R, Moldal T, Kooi EA, Neubauer-Juric A, Nokireki T, Müller T, Fooks AR. Molecular Epidemiology and Evolution of European Bat Lyssavirus 2. *Int J Mol Sci.* 2018 Jan 5;19(1). pii: E156. doi: 10.3390/ijms19010156. PMID:29303971)

On sait peu de choses sur la circulation et la distribution des lyssavirus de chauves-souris insectivores en Afrique du Nord, et sur l'impact que ces virus pourraient avoir sur la santé publique dans ces pays. Bien qu'il n'y ait aucune preuve que les chauves-souris migrent entre les deux continents à travers la mer Méditerranée, des espèces de chauves-souris migratrices telles que *M. schreibersii* peuvent survoler la mer sur de longues distances. Le but de cette étude était d'évaluer la circulation potentielle des lyssavirus de chauves-souris d'Europe en Afrique du Nord de 2007 à 2012. A notre connaissance, il s'agit du premier travail à rapporter les résultats d'une enquête active sur le lyssavirus réalisée chez des chauves-souris d'Afrique du Nord. Sur les 693 sérums analysés, 42 (6%) présentaient des anticorps neutralisants anti-EBLV-1. Quatre des neuf localités sélectionnées (44%) en Afrique du Nord hébergeaient des chauves-souris séropositives: une au Maroc et trois en Algérie. Des anticorps neutralisants EBLV-1 ont été détectés chez cinq espèces (45%) de chauves-souris appartenant à trois familles, et 42 des 693 (6%) échantillons étaient séropositifs. Ceci démontre clairement que le risque d'infection par des lyssavirus de chauves-souris existe aussi en Afrique du Nord.

(Serra-Cobo J, López-Roig M, Lavenir R, Abdelatif E, Boucekkine W, Elharrak M, Harif B, El Ayachi S, Salama AA, Nayel MA, Elsify A, El Rashedy SG, De Benedictis P, Mutinelli F, Zecchin B, Scaravelli D, Balhoul C, Zaghawa A, Hassan HY, Zaghoul AH, Bourhy H. Active sero-survey for European bat lyssavirus type-1 circulation in North African insectivorous bats. *Emerg Microbes Infect.* 2018 Dec 13;7(1):213. doi: 10.1038/s41426-018-0214-y. PMID:30546083)

L'ensemble de ces études montre qu'une collaboration plus étroite avec les chiroptérologues est indispensable pour améliorer la surveillance passive et comprendre la dynamique d'infection dans les colonies de chauves-souris et la distribution spatio-temporelle des lyssavirus de chauves-souris en Europe.

### 6.1.3 Comment rendre la prophylaxie post-exposition de la rage plus accessible aux populations qui la nécessitent dans les pays en voie de développement

La prophylaxie post-exposition est très efficace mais souvent inaccessible aux populations cibles dans les pays en développement du fait de l'éloignement géographique ou du coût élevé des produits. Dans l'objectif de réduire le nombre de visites et la durée de la PPE, une étude rétrospective a été menée chez 3 318 Cambodgiens qui avaient reçu une prophylaxie post-exposition il y a plus de 6 mois. Ces patients avaient reçu du vaccin produit sur cellules Vero et injecté par voie intradermique après une morsure d'un chien enragé ou malade mais non testé au laboratoire entre 2003 et 2014. Un groupe d'experts externes a examiné les rapports d'autopsie verbale pour identifier les décès dus à la rage. 1739 (93,65%) personnes mordues par des chiens enragés et 1066 (72,96%) mordues par des chiens montrant des signes de maladie mais non testés, ont été retrouvées et 513 ont été perdues de vue. Parmi les personnes mordues par des chiens enragés, 1591 (91,49%) et 129 patients (7,42%) ont satisfait respectivement 3 ou 4 séances de prophylaxie post-exposition. Enfin, trois personnes sont décédées des suites probables de la rage, de sorte que le pourcentage global de survie était de 99,83% (intervalle de confiance exact à 95%: 99,49 à 99,96%) chez les patients sous prophylaxie post-exposition mordus par des chiens chez lesquels la rage a été confirmée. Aucune différence significative de survie n'a été observée chez les patients ayant reçu 3 ou plus de 4 séances (avec ou sans immunoglobine antirabique). Bien que le pouvoir statistique de l'étude soit limité, elle montre que le schéma de PPE par voie intradermique de quatre séances en un mois peut être réduit à trois séances en une semaine sans risque supplémentaire détectable pour les patients. Ainsi, le schéma thérapeutique de l'Institut Pasteur au Cambodge devrait améliorer l'équité en matière de vaccination en réduisant les coûts directs liés à la vaccination (en permettant de traiter 33% de patients supplémentaires avec le même nombre de doses) et au transport des patients ainsi que les autres coûts indirects pour les personnes vaccinées. Ce protocole a depuis été adopté par l'OMS et constitue aujourd'hui le protocole de PPE de choix pour les pays en développement (<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.10.014>). Il est néanmoins recommandé que les centres de traitement antirabique adoptent un système de suivi clinique de la mise en œuvre et de l'efficacité de ce schéma abrégé de PPE.

(Tarantola A, Ly S, Chan M, In S, Peng Y, Hing C, Taing CN, Phoen C, Ly S, Cauchemez S, Buchy P, Dussart P, Bourhy H, Mary JY. Intra-dermal rabies post-exposure prophylaxis can be abridged with no measurable impact on clinical outcome in Cambodia, 2003-2014. *Vaccine.* 2018 Nov 16. pii: S0264-410X(18)31420-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.10.054)

#### 6.1.4 Etude des facteurs associés à une réponse anticorps inadéquate après une vaccination antirabique en préexposition chez des professionnels exposés.

L'unité LyEN a poursuivi une étude épidémiologique rétrospective de la réponse immunitaire post-vaccinale chez des professionnels exposés aux lyssavirus qui ont bénéficié d'une vaccination préexposition antirabique à l'Institut Pasteur. Cette étude vise à déterminer la proportion de professionnels exposés aux lyssavirus (personnels de laboratoires et professionnels de santé partant avec des ONG en zone d'endémie rabique) qui présente après vaccination antirabique un taux d'anticorps égal ou supérieur à 0,5 UI / ml (seuil considéré comme protecteur) mesuré par méthode ELISA (test utilisé en routine dans les laboratoires de biologie médicale). Les objectifs secondaires de l'étude sont d'évaluer le taux d'anticorps par méthode RFFIT (test sérologique de référence recommandé par l'OMS) en utilisant des échantillons de type fond de tube prélevés pour le test ELISA et stockés pour une période réglementaire de 1 an, de rechercher des facteurs influençant la réponse vaccinale contre la rage (rappel, immunodépression, traitement par chloroquine concomitant à la vaccination, respect de la chaîne du froid pour la conservation des vaccins, âge...), d'évaluer la décroissance du taux d'anticorps dans la population de l'étude, après primovaccination et après le 1<sup>er</sup> rappel vaccinal et enfin d'évaluer l'intérêt de la surveillance biannuelle du taux d'anticorps chez les professionnels les plus exposés.

Tous les sujets âgés de plus de 18 ans vaccinés contre la rage en préexposition dans un cadre professionnel à l'Institut Pasteur et qui avaient bénéficié d'au moins un prélèvement pour dosage des anticorps antirabiques entre 2011 et 2016 étaient éligibles pour l'étude (avis favorable CPP Ile de France 2 2011-532 RCEB MS2). Cette étude a permis d'inclure 499 sujets. Une base de données a été constituée à partir des données recueillies pour chaque sujet et l'analyse statistique est actuellement en cours. L'analyse des résultats s'est poursuivie en 2018 et un article devrait être prochainement soumis pour publication.

## **6.2 Liste des publications et communications**

### Publications nationales

Bourhy H, Dacheux L, Parize P, La rage et les lyssavirus. Le Référentiel en Microbiologie Médicale (REMIC), Société Française de Microbiologie, Société Française de Mycologie Médicale et Société Française de Parasitologie 6ème édition, 2018.

### Publications internationales

Cori A, Nouvellet P, Garske T, Bourhy H, Nakouné E, Jombart T. A graph-based evidence synthesis approach to detecting outbreak clusters: An application to dog rabies. PLoS Comput Biol. 2018 Dec 17;14(12):e1006554. doi: 10.1371/journal.pcbi.1006554

Serra-Cobo J, López-Roig M, Lavenir R, Abdelatif E, Boucekkine W, Elharrak M, Harif B, El Ayachi S, Salama AA, Nayel MA, Elsify A, El Rashedy SG, De Benedictis P, Mutinelli F, Zecchin B, Scaravelli D, Balhoul C, Zaghawa A, Hassan HY, Zaghoul AH, Bourhy H. Active sero-survey

- for European bat lyssavirus type-1 circulation in North African insectivorous bats. *Emerg Microbes Infect.* 2018 Dec 13;7(1):213. doi: 10.1038/s41426-018-0214-y.
- Leopardi S, Priori P, Zecchin B, Poglayen G, Trevisiol K, Lelli D, Zoppi S, Scicluna MT, D'Avino N, Schiavon E, Bourhy H, Serra-Cobo J, Mutinelli F, Scaravelli D, De Benedictis P. Active and passive surveillance for bat lyssaviruses in Italy revealed serological evidence for their circulation in three bat species. *Epidemiol Infect.* 2018 Dec 4:1-6. doi: 10.1017/S0950268818003072
- Dacheux L, Bourhy H. Diagnostic tests for human rabies. *Rev Sci Tech.* 2018 Aug;37(2):581-593. doi: 10.20506/rst.37.2.2826. French, English. PMID:30747123
- Tarantola A, Ly S, Chan M, In S, Peng Y, Hing C, Taing CN, Phoen C, Ly S, Cauchemez S, Buchy P, Dussart P, Bourhy H, Mary JY. Intradermal rabies post-exposure prophylaxis can be abridged with no measurable impact on clinical outcome in Cambodia, 2003-2014. *Vaccine.* 2018 Nov 16. pii: S0264-410X(18)31420-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.10.054. PMID:30454946
- Rogée S, Larrous F, Jochmans D, Ben-Khalifa Y, Neyts J, Bourhy H. Pyrimethamine inhibits rabies virus replication in vitro. *Antiviral Res.* 2019 Jan;161:1-9. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.10.016. Epub 2018 Oct 25. PMID:30367894
- Romette JL, Prat CM, Gould EA, de Lamballerie X, Charrel R, Coutard B, Fooks AR, Bardsley M, Carroll M, Drosten C, Drexler JF, Günther S, Klempa B, Pinschewer D, Klimkait T, Avsic-Zupanc T, Capobianchi MR, Dicaro A, Ippolito G, Nitsche A, Koopmans M, Reusken C, Gorbalenya A, Raoul H, Bourhy H, Mettenleiter T, Reiche S, Batten C, Sabeta C, Paweska JT, Eropkin M, Zverev V, Hu Z, Mac Cullough S, Mirazimi A, Pradel F, Lieutaud P. The European Virus Archive goes global: A growing resource for research. *Antiviral Res.* 2018 Oct;158:127-134. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.07.017. Epub 2018 Jul 29. Review. PMID : 30059721
- Parize P, Dacheux L, Larrous F, Bourhy H; The French Network Of Antirabies Clinics. The shift in rabies epidemiology in France: time to adjust rabies post-exposure risk assessment. *Euro Surveill.* 2018 Sep;23(39). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.39.1700548. PMID : 30280687
- McElhinney LM, Marston DA, Wise EL, Freuling CM, Bourhy H, Zanoni R, Moldal T, Kooi EA, Neubauer-Juric A, Nokireki T, Müller T, Fooks AR. Molecular Epidemiology and Evolution of European Bat Lyssavirus 2. *Int J Mol Sci.* 2018 Jan 5;19(1). pii: E156. doi: 10.3390/ijms19010156. Review. PMID : 29303971

### Conférences nationales sur invitation

- Journée Scientifique de la Société de Pathologie Exotique. Vaccinations : convergences et divergences Nord-Sud. 14 novembre 2018, Institut Pasteur, Paris (Hervé Bourhy).
- Journée de printemps de la Société de Médecine du Voyage. Evolution des recommandations de vaccination antirabique pré-exposition. 30 mars 2018. Paris (Perrine Parize).

### Conférences Internationales sur invitation

- The 4<sup>th</sup> edition of the Middle East, Eastern Europe, Central Asia and North Africa rabies Expert Bureau (MEEREB) Meeting, 23-25 avril 2018, Veyrier-du-Lac, France, Chairman de la session Educational Platforms and Ressources, H. Bourhy
- The 8th International Symposium on Emerging Infectious Diseases, 20-22 octobre 2018, Wuhan, China. "Epistasis and complementation contribute to the evolution of the Rabies virus phosphoprotein in the face of severe functional constraints within the replication complex", H. Bourhy
- PARACON Meeting Johannesburg, South Africa, 12-14 septembre 2018, "E-learning course on rabies", H. Bourhy
- 14<sup>ème</sup> séminaire de la Société Franco-Japonaise des Sciences Vétérinaires, Tokyo, Japon, 13 octobre 2018 "Situation actuelle de la rage en France", L. Dacheux
- 5th International Conference on Rabies in West Africa (RIWA/REAO), Bamako, Mali, 22-25 octobre 2018 "The challenge of the biological diagnosis of human rabies in African settings" L. Dacheux
- 5th International Conference on Rabies in West Africa (RIWA/REAO), Bamako, Mali, 22-25 octobre 2018 "Updated state of the art of rabies prophylaxis in human" L. Dacheux.
- 5th International Conference on Rabies in West Africa (RIWA/REAO), Bamako, Mali, 22-25 octobre 2018 "Situation actuelle de la rage en France" L. Dacheux

## **7 Coopération avec les laboratoires de santé animale**

Le CNRR, et l'unité LyEN en particulier, ont établi différents types d'échanges et de collaborations avec l'Anses-Nancy, qui regroupe les laboratoires de référence de l'Union Européenne pour la rage et pour la sérologie de la rage, le laboratoire de référence de l'OIE pour la rage, et le CCOMS pour la recherche et le management en matière de lutte contre les zoonoses.

### **Investigation autour de cas animaux susceptibles d'être éventuellement à l'origine de cas humains**

Le CNRR et l'Anses-Nancy ont collaboré lors de l'arrêt du P3 du CNRR pour cause de déménagement. Dans ce cadre 37 échantillons issus d'animaux suspects de contamination humaine ont été analysés par l'Anses-Nancy.

### **Participation au réseau de surveillance épidémiologique de la rage en France et échange de données épidémiologiques**

Au travers de la transmission de ses données issues des demandes de diagnostic *post-mortem* de la rage animale, le CNRR contribue à l'analyse épidémiologique effectuée par l'Anses-Nancy dans laquelle sont regroupées toutes les analyses pour recherche de rage animale faites en France.

### **Comparabilité des méthodes analytiques**

Le CNRR participe tous les ans aux essais inter-laboratoires internationaux organisés par l'Anses-Nancy.

### **Etudes communes**

Le CNRR entretient depuis novembre 2011 de très nombreux liens dans le domaine de la recherche avec l'Anses-Nancy au travers d'un **programme européen (PREDEMICS, <http://predemics.biomedtrain.eu>)** dans lequel les deux structures sont partenaires et travaillent sur les mécanismes évolutifs impliqués dans la capacité de franchissement de la barrière d'espèce (chien, renard, homme) par les lyssavirus. Ces travaux ont nécessité la mise en place de protocoles expérimentaux communs, des échanges de personnel, d'équipement et de matériel biologique, des contacts téléphoniques et rapport d'avancements. Ce programme s'est terminé en 2017 mais le CNRR et l'Anses-Nancy ont poursuivi l'analyse des données et la rédaction d'un article en 2018. Cette étude est actuellement en cours de révision dans un journal international à comité de lecture.

## **8 Programme d'activité pour la période 2018-2019**

### ***8.1 Du diagnostic au rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial de la surveillance de la rage***

De par son expérience acquise dans le domaine du diagnostic et de la lutte contre la rage, le CNRR possède une organisation, une structure, une méthodologie et une compétence technique adaptées lui permettant de répondre à chacune des demandes formulées dans le cahier des charges spécifié lors de l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence pour la période 2017-2022 (tel que décrit dans l'Annexe 1), tout en assurant la traçabilité et la qualité des réponses données. Ainsi au cours de la période 2019-2020, le CNRR maintiendra son expertise technique dans le domaine du diagnostic de la rage humaine et animale en France. Il poursuivra notamment son engagement dans la démarche d'accréditation selon le référentiel ISO 15189. Il continuera également à jouer son rôle central dans la surveillance de la rage en France et dans le processus d'alerte en cas de diagnostic positif, dont l'efficacité a été démontrée à de nombreuses reprises.

### ***8.2 Diagnostic de la rage en France: Rapidité, Fiabilité et Qualité***

Le CNRR maîtrise **l'ensemble des techniques nécessaires au diagnostic de la rage humaine et animale** en France et à la caractérisation des isolats de lyssavirus ainsi identifiés. Les objectifs majeurs dans ce domaine du CNRR au cours de la période 2019-2020 sont le maintien du niveau d'Assurance-Qualité, le perfectionnement des techniques diagnostiques utilisées et le maintien des délais de réponse lors d'une demande de diagnostic rage. En complément du maintien de l'accréditation selon le référentiel ISO 17025 des techniques mises en œuvre pour le diagnostic *post-mortem* de la rage animale (techniques FAT et RTCIT) et selon le référentiel ISO 15189 pour le diagnostic *post-mortem* de la rage humaine (techniques FAT, RTCIT et RT-PCR en temps réel), le

CNRR va également poursuivre son engagement dans la démarche d'accréditation selon le référentiel ISO 15189 des autres techniques utilisées dans le diagnostic de la rage humaine.

**Le dossier de validation de la technique de séroneutralisation utilisée pour le dosage des anticorps antirabiques** chez l'homme a été préparé en 2018 afin d'obtenir l'accréditation selon ce référentiel ISO 15189.

### **8.3 Contribution à la surveillance et rôle d'alerte : le CNRR comme maillon initial**

L'expérience technique et les nombreuses collaborations nationales et internationales entretenues par le CNRR font de ce centre un maillon essentiel dans la surveillance de la rage en France et dans le processus d'alerte en cas de diagnostic positif.

Il existe depuis 2002 une procédure applicable en cas de confirmation de la suspicion de rage humaine, chiroptère ou animal importé qui a déjà démontré son efficacité à de nombreuses reprises. Lors de la survenue de cas de rage posant des problèmes particuliers de prise en charge, le CNRR en collaboration avec les autres instances concernées continuera à appliquer pendant la période 2019-2020 les mesures d'urgence mises en place, telles que:

- la diffusion de notes d'informations par télécopie ou par courriel, à destination des CAR,
- la participation aux réunions téléphoniques organisées par la DGS, SpF, les ARS et la DGAI,
- la communication d'informations adaptées au grand public et à la presse.

Une adresse courriel unique pour le CNRR ([cnrrage@pasteur.fr](mailto:cnrrage@pasteur.fr)) permet de joindre de manière certaine un des responsables du CNRR. Enfin un téléphone portable assure la possibilité de joindre le responsable du CNRR en dehors des heures ouvrables.

### **8.4 Conseil**

#### **8.4.1 Mesures générales**

A la demande des organismes officiels (DGS, Comité Technique des Vaccinations, HAS etc.), le CNRR continuera à participer à l'information des professionnels de santé et du public ainsi qu'à la diffusion des protocoles adaptés de prise en charge et des indications de vaccination ou de prophylaxie après exposition en accord avec les recommandations OMS en matière de rage. Le CNRR poursuivra en 2019 et 2020 ses fonctions de conseils dans le cadre des saisines de la HAS et du HCSP.

La surveillance sérologique de la vaccination antirabique n'est indiquée que dans le cadre des vaccinations avant exposition pratiquées chez le personnel particulièrement exposé au virus de la rage (laboratoires, vétérinaires...). La surveillance sérologique est également indiquée dans la surveillance de traitement après exposition dans certains cas où une moindre réponse (traitements immunosuppresseurs, affections concomitantes...) est suspectée. Les titrages sont effectués en

routine dans des laboratoires de ville au moyen d'un test ELISA commercialisé. Les titrages de confirmation peuvent être effectués par la technique de référence de séro-neutralisation (RFFIT) pratiquée au CNRR.

#### 8.4.2 Surveillance épidémiologique des pratiques de prophylaxie post-exposition en France

La publication annuelle du Bulletin sur l'Epidémiologie et la Prophylaxie de la Rage humaine, édité à partir des données collectées au niveau des CAR et analysées par le CNRR, sera poursuivie (<http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-reference/les-cnr/rage/activites>). Ce bulletin est aussi l'occasion de faire le point sur les actualités en matière de rage et de prophylaxie.

La mise à la disposition des CAR à titre gratuit du logiciel Vaccilab, puis du logiciel Voozanoo (mis au point par la Société Epiconcept en collaboration avec le CNRR), a permis la généralisation de l'utilisation de ce dernier logiciel au sein des CAR et ainsi de faciliter la mise à disposition des données et une meilleure réactivité.

#### 8.4.3 Cas particulier de la prévention de la rage chez les chiroptérologues

De par leur activité, et de façon bénévole, les chiroptérologues ont une implication forte dans la surveillance de cette zoonose. Au cours des années 2019 et 2020, le CNRR continuera à participer à l'information de ces personnes sur les moyens de protection permettant de réduire les risques d'exposition au virus et sur l'intérêt d'être suivies par un CAR. Le CNRR assurera, conformément aux recommandations du Groupe de Travail sur la prévention de la rage des chiroptères chez l'homme et à celles du CSHPF, des contrôles sérologiques des chiroptérologues, à chaque fois que des sérums répondant à cette indication seront reçus.

#### 8.4.4 Coordination entre le CNRR et les CAR

Les responsables du CNRR continueront à assurer des fonctions de conseil auprès des CAR par téléphone, télécopie ou courrier électronique en se mettant à la disposition des médecins responsables pour l'interprétation des résultats biologiques et tous les conseils techniques qui peuvent leur être nécessaires. Cette action de conseil est aussi exercée envers les ressortissants français contaminés à l'étranger, en coopération avec les structures médico-hospitalières locales. Cette coordination permet un ajustement de la thérapeutique au niveau national face à une situation épidémiologique nouvelle. Le CNRR s'attachera plus particulièrement au cours de la période 2019-2020 au travers de communications à convaincre les CAR français de modifier leur pratique et de diminuer le nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients en contact sur le territoire métropolitain avec un animal domestique ou sauvage disparu. La prochaine réunion des CAR sera organisée en décembre 2019 par le CNRR.

### **8.5 Activités de recherche en lien avec le CNRR**

Le CNRR poursuivra en 2019-2020 les thématiques de recherche décrites dans le Chapitre 6.1 (Travaux de recherche).



## Annexe 1 : Missions et organisation du CNR

### 1. Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR

L'arrêté du 7 mars 2017 relatif aux Centres Nationaux de Référence pour la lutte contre les maladies transmissibles a renouvelé le mandat du CNRR situé à l'Institut Pasteur. Le cahier des charges spécifiques, défini par l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence, demande au CNRR de respecter les missions définies par le décret N°2016-806 du 16 juin 2016, et plus spécifiquement:

#### 1. Expertise

- en établissant le diagnostic de rage pour tout cas humain suspecté et pour tout animal susceptible d'avoir transmis la rage à l'homme.

#### 2. Conseil

- en apportant son expertise aux centres antirabiques ;
- en contribuant à l'évaluation de la politique vaccinale.

#### 3. Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique

- en participant à toute évaluation des risques pour l'homme compte tenu de l'évolution épidémiologique chez différentes espèces animales (chauve-souris notamment) ;
- en collaborant avec le laboratoire de référence de la rage animale et les autres structures impliquées dans la surveillance et le contrôle de la rage animale (DGAL, Anses-Nancy, etc.) ;
- en contribuant aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE.

#### 4. Contribution à l'alerte

- en signalant sans délai à l'agence nationale de santé publique toute apparition d'un cas chez l'homme ou chez un animal susceptible d'avoir transmis la rage à l'homme et tout événement inhabituel, tel que la mise en évidence de génotypes non connus en France.

L'activité de surveillance épidémiologique de la rage animale est confiée à l'Institut Pasteur au titre de l'article R22-36 du code rural, du décret 2003-768 du 1<sup>er</sup> août 2003 relatif à la partie réglementaire du livre II du code rural et paru au JO du 07/08/03 qui indique la destination des animaux suspects de contamination humaine, et par l'arrêté du 1<sup>er</sup> mars 2002 paru au JO du 09/03/02 signé par le Ministre en charge de la santé, fixant la liste des organismes chargés des examens relatifs au diagnostic de la rage sur les animaux suspects d'être à l'origine de la contamination humaine et spécifiant l'Institut Pasteur.

## 2. Effectif et Qualification du personnel du CNRR

### 2.1. Organigramme général

**Figure A1 : Organigramme général du CNRR (cf page 11).**

Le CNRR est localisé à l'Institut Pasteur à Paris au sein du Département « Infection et Epidémiologie », dans l'unité LyEN dirigée par le Dr. Vét. Hervé Bourhy. Il est secondé par Laurent Dacheux, Dr. Pharm., pour l'ensemble des activités de laboratoire liées aux missions du CNRR : réalisation du diagnostic de rage (à partir de prélèvements animaux et d'échantillons humains), réalisation des sérologies antirabiques (dans le cadre de diagnostic *intra-vitam* de rage chez l'homme, du suivi sérologique des patients vaccinés ou dans le cadre d'expertises), développement et évaluation de nouvelles techniques de diagnostic de rage, et réalisation des activités de recherche dans le domaine de la rage et des virus apparentés. Depuis janvier 2015, le Dr. Méd. Perrine Parize a rejoint à mi-temps l'équipe du CNRR en y assurant les fonctions de directrice adjointe et en prenant en charge les activités de conseil, de coordination et de formation des médecins des CAR, d'analyse des pratiques concernant la prophylaxie de la rage humaine en France et de recherche clinique sur les protocoles de vaccination.

Le CNRR, en collaboration étroite avec le responsable du CAR (Dr. Méd. Philippe Poujol), situé dans le Centre Médical de l'Institut Pasteur, coordonne, centralise et répond aux questions sur la rage humaine et sa prophylaxie et aux demandes, notamment de formation des médecins des CAR, concernant la prophylaxie de la rage humaine en France et dans le monde.

### 2.2. Effectif par catégorie de fonction

**Tableau A1: Effectif par catégorie de fonctions.**

*Abréviation : ETP = équivalent temps plein*

	Sci./biol.	Ing.	Tech	Ag. Tech.	Adm.
Effectif de la structure de Recherche (Nombre de postes)	3	1	3	0	1
<b>Dont pour le. CNR (en Equivalent Temps Plein ETP estimés)</b>	1,1	0,1	2,4	0	0,55

### 2.3. Personnel technique

Le personnel technique est composé d'un effectif de 4 personnes:

- Deux techniciens supérieurs titulaires d'un BTS

- Un technicien avec un diplôme d'opérateur de laboratoire
- Une assistante

#### **2.4. Personnel cadre**

Le personnel cadre est composé d'un directeur Hervé BOURHY (docteur vétérinaire, docteur d'université, autorisé par le Ministre de la santé à exercer la biologie médicale depuis 2001), d'un directeur adjoint, Laurent DACHEUX (docteur en pharmacie, docteur d'université) responsable des activités de laboratoire, et d'une directrice adjointe Perrine PARIZE (docteur en médecine) responsable des activités médicales en relations avec les centres antirabiques, d'un ingénieur de recherche. Florence LARROUS.

### **3. Locaux et équipements du CNRR**

Il n'y a pas de local spécifique pour le CNRR. La description qui suit concerne donc les locaux de l'Unité dynamique des lyssavirus et adaptation à l'hôte qui héberge le CNRR.

#### **3.1. Locaux**

Le CNRR est hébergé à l'Institut Pasteur, 28 rue du Docteur, Roux, 75724 Paris cedex 15, au sein du bâtiment Lwoff, à l'exception du laboratoire P3 situé dans le bâtiment Nocard.

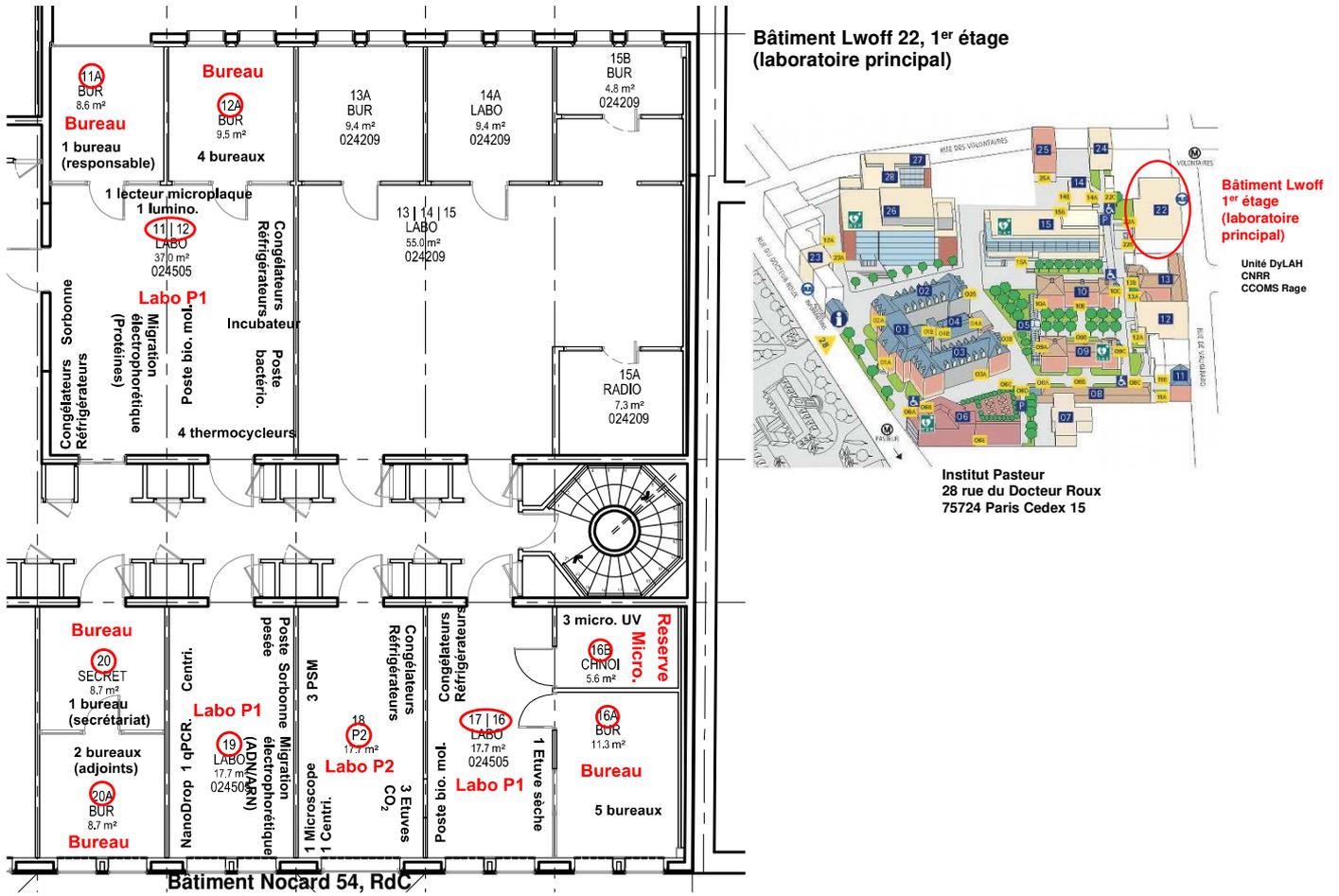
##### ***Locaux administratifs:***

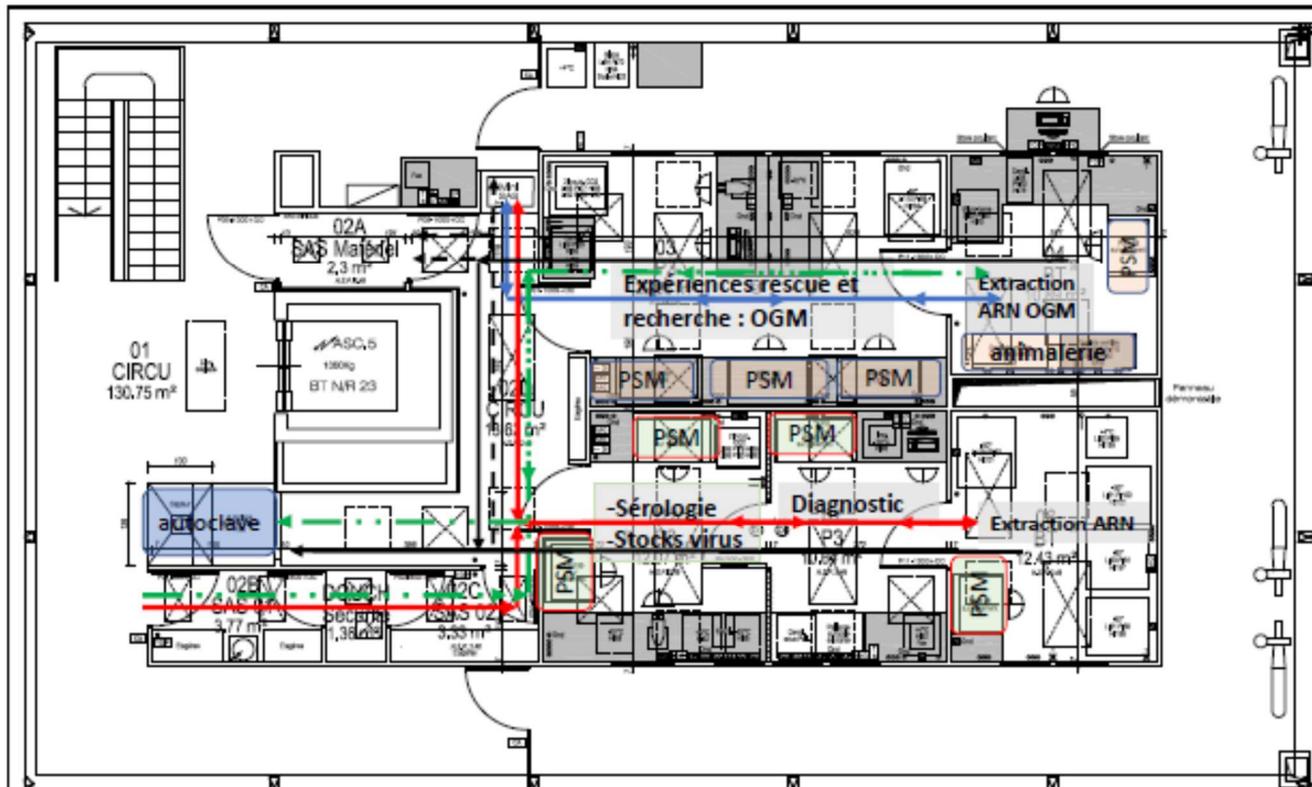
- Bureaux pour les 7 personnes (3 techniciens et 3 cadres et 1 administratif)

##### ***Laboratoires:***

- 1 Laboratoire P3 (laboratoires, animalerie, local technique pour les congélateurs)
- 1 Laboratoire P2
- 3 Laboratoires P1
- 1 Laboratoire de microscopie

Figure A2 : Plans des locaux de l'unité LyEN (utilisés par le CNRR).





### **3.2. Matériel et équipement actuels de la structure**

#### *Matériel et équipement utilisés en partage avec l'unité LyEN*

- Laboratoires réglementaires de confinement pour la manipulation des lyssavirus
- 6 congélateurs -80°C
- 11 postes de sécurité microbiologique
- 7 étuves à CO<sub>2</sub>
- 2 conteneurs à azote liquide
- 4 microscopes à immunofluorescence
- 2 lecteurs de microplaques (dont 1 de luminescence)
- 3 microscopes inversés
- 7 centrifugeuses (dont 4 réfrigérées)
- 4 thermocycleurs (dont 1 appareil de PCR en temps réel)
- 1 spectrophotomètre (Nanodrop)
- Générateurs et cuves à électrophorèse

#### *Moyens extérieurs à la structure / Structures transversales*

- Laboratoire de préparation
- Animalerie des agents pathogènes
- Plate-forme Génomique
- Plate-forme Transcriptome et Epigénome
- Pôle de Génotypage des Pathogènes (PGP) de l'unité de recherche et d'expertise environnement et risques
- Plate-forme de Microbiologie Mutualisée (P2M) au sein du réseau international des ressources biologiques de l'Institut Pasteur (PIBnet).
- Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP)
- Pièces dédiées à la réalisation des PCR (fonctionnement de type « marche en avant »)

## **4. Collection de matériel biologique du CNRR**

Le CNRR valorise son savoir-faire et son expertise en matière de lyssavirus et virus de la en mettant à disposition de tiers académiques et industriels des duplicatas des souches initialement reçues (à noter que la collection CNR est donc préservée).

L'accès au matériel biologique collecté dans le cadre de l'activité du CNR est conditionné :

- à ce que l'utilisation envisagée du matériel biologique réponde à un objectif de santé publique ;
- à la mise en place de documents contractuels spécifiques.

Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées à des équipes extérieures, la mise en place a minima d'un accord de transfert de matériel biologique (MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties. Suivant la nature industrielle ou académique du partenaire, ces accords donneront lieu ou non à une contrepartie financière, contrepartie financière qui reste limitée au remboursement des coûts induits pour l'obtention et la conservation du matériel biologique transféré. Ces accords ont notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire.

Il est bien entendu que l'utilisation du matériel biologique par le tiers est strictement limitée au projet initial.

En termes de valorisation, l'Institut Pasteur s'assure que le CNR soit remercié ou associé dans chacune des publications et communications des résultats du projet. L'Institut Pasteur s'assure également dans certaines circonstances de la copropriété des résultats issus des travaux effectués sur le matériel biologique.

A tout le moins, les résultats du projet sont systématiquement communiqués au CNR.

En 2018, 2 souches de virus rabique (correspondant aux 2 cas humains) ont été incorporées à la collection du CNRR.

Total 2018 des sérums du CNR, reçus dans le cadre d'une demande de dosage sérologique des anticorps antirabiques chez l'homme (hors cadre du diagnostic de rage humaine) : 1640

Total 2018 des autres produits biologiques du CNR, reçus dans le cadre d'une demande de diagnostic de la rage chez l'homme : 1282

## 5. Démarche Qualité au sein du CNRR

Le CNRR est accrédité selon **le référentiel ISO 15189** dans la section Santé Humaine (diagnostic humain, N° accréditation 8-2588) **depuis mars 2014**. Le CNRR fait partie des Centres Nationaux de Référence placés sous la responsabilité de l'Institut Pasteur qui sont au nombre de 14. Ils sont organisés en multisite et constituent, avec la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU), le Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite (LREMS). Le LREMS est sous démarche d'accréditation.

Cette accréditation répond à l'ordonnance du 13 janvier 2010 et à la loi du 31 mai 2013 relative aux activités de biologie médicale et est pilotée à l'Institut Pasteur par :

- la Direction aux Ressources Techniques et à l'Environnement et son Service Qualité, Environnement et Développement Durable (QEDD) qui apporte ses ressources et son expertise dans l'accompagnement du projet d'accréditation ISO 15189 du LREMS (certifié ISO 9001 v 2015)
- la Direction des Affaires médicales et de Santé Publique ;
- et la Coordination des Centres Nationaux de Référence de l'Institut Pasteur.

Les services supports de l'Institut Pasteur participent également à la démarche d'accréditation du LREMS en apportant les ressources nécessaires au bon déroulement des activités.

12 CNR et la CIBU du LREMS sont accrédités COFRAC selon la norme ISO 15189 version 2012 sous le n° 8-2588. L'annexe d'accréditation est disponible sur le site du COFRAC [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)

Les 2 autres CNR ont déposé leur demande d'extension le 1<sup>er</sup> avril 2016. Leur audit d'extension s'est déroulé du 23 au 25 janvier 2018 et la confiance des évaluateurs a été accordée à ces CNR. Les conclusions officielles de l'évaluation doivent être communiquées au LREMS et publiées sur le site du COFRAC prochainement.

L'ensemble des CNR participent annuellement à des contrôles externes de la qualité. Ceux-ci n'étant pas des programmes pérennes, lorsque ces CQE sont suspendus ou ne sont pas organisés annuellement, les CNR organisent des essais inter laboratoires avec des laboratoires homologues ou confrères européens ou mondiaux.

L'année qualité 2018 du CNR s'est organisée comme suit :

Étapes clés LRE-MS	Périodes de réalisation
Audit COFRAC	23 au 25 janvier 2018
Audit de surveillance 17025	28 au 29 mars 2018
Revue qualité	7 mars 2018
Revue de direction LREMS	16 mai 2018
Audits internes qualité et technique	20 septembre 2018
Audit interne de surveillance qualité et technique	19 décembre 2018

Perspectives 2019 :

Étapes clés	Prévision de réalisation
Audit de surveillance	13-14 février 2019
Revue qualité LRE	-avril 2019
Audits internes qualité et technique	mai -juillet et septembre - novembre 2019
Revue de direction LRE-MS	19 mars 2019

Le CNRR est aussi accrédité par le Cofrac selon **le référentiel ISO 17025 depuis 2006** dans la section Laboratoire (diagnostic animal, accréditation N° 1-1692), pour les techniques de détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de bulbe ou de cortex (FAT) et d'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins (RTCIT).

Le dernier audit de surveillance a été réalisé en septembre 2016 et a permis de maintenir cette accréditation. En 2018, l'ensemble des diagnostics de rage animale a été réalisé en utilisant ces techniques accréditées (à l'exception des échantillons pour lesquels la demande de diagnostic s'est révélée impossible, de par l'absence de matière cérébrale notamment).

Le CNRR participe régulièrement à des **essais inter-laboratoires internationaux** pour l'ensemble des techniques qu'il met en œuvre. Il a ainsi réalisé en 2018 des essais en sérologie antirabique pour les techniques ELISA et RFFIT avec l'Unité du développement de laboratoire et du transfert de technologie de l'Agence de Santé publique de Suède (échange de 5 échantillons de sérum anonymisés) et également avec le Laboratoire de sérologie rabique de l'Université de l'Etat du Kansas aux USA, (analyse de 7 échantillons de sérum anonymisés). Il a également participé à l'essai inter-laboratoire organisé annuellement par l'Anses-Nancy pour les techniques FAT, RTCIT et RT-PCR (panel de 9 échantillons de cerveaux anonymisés). Les résultats des différentes techniques évaluées se sont **tous révélés conformes**.

Le dossier de validation de la technique de détection moléculaire des ARN de lyssavirus par RT-qPCR a été déposé au COFRAC en 2017 et audité en janvier 2018. Le CNRR a obtenu la validation de ce dossier par le COFRAC en 2018. Le dossier de validation technique de la technique de séroneutralisation pour le titrage des anticorps antirabiques a été rédigé en 2018 et devrait permettre d'obtenir l'accréditation de cette technique lors du prochain audit en 2019.

Au travers de cet environnement d'assurance-qualité, le CNRR permet ainsi de s'assurer de la maîtrise et de la fiabilité de l'ensemble des essais réalisés avec les différentes techniques dont il dispose.

## 6. Procédure d'alerte du CNRR

Chaque cas de rage diagnostiqué chez l'homme ou l'animal est signifié directement à la DGS, à SpF, à la DGAI et à l'Anses selon une procédure applicable depuis 2002 dans le système Qualité du CNRR (procédure RR00055), et qui a été appliquée en 2016 lors de la communication du diagnostic de rage chez une chauve-souris en France métropolitaine. La transmission des résultats est réalisée par courriel et éventuellement par téléphone et/ou télécopie. Une adresse courriel unique pour le CNRR ([cnrrage@pasteur.fr](mailto:cnrrage@pasteur.fr)) permet de joindre de manière certaine un des responsables du CNRR. Enfin un téléphone portable assure la possibilité de joindre un responsable du CNRR en dehors des heures ouvrables.

Lors de la survenue de cas de rage posant des problèmes particuliers de prise en charge, le CNRR en collaboration avec les autres instances concernées met en place des mesures d'urgence telles que : la diffusion d'une mise au point par télécopie ou par courriel à destination des CAR, l'organisation de réunions téléphoniques en liaison avec la DGS et SpF, et la communication d'informations adaptées au grand public et à la presse.

Le CNRR est aussi très souvent sollicité dans le cadre de ces alertes par la DGS, SpF, l'Anses, la DGAI et l'ANSM pour donner son avis sur l'analyse du risque et les mesures de prophylaxie à mettre en place en fonction de l'origine et de la nature des cas identifiés.

## Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

### 1. Liste des techniques de référence

Ces éléments sont rappelés sur le site web du CNRR (<http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-referance/les-cnr/rage>).

#### 1.1. Techniques de diagnostic post-mortem de rage (animale et humaine)

Les prélèvements cérébraux *post-mortem* d'origine humaine et animale reçus pour suspicion de rage sont examinés systématiquement suivant trois techniques référencées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE):

- **Immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de bulbe ou de cortex** en utilisant un anticorps polyclonal anti-nucléocapside rabique conjugué à la fluorescéine (technique Fluorescent Antibody Test ou FAT),
- **Isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins** (technique Rabies Tissue Culture Infection Test ou RTCIT),
- **Détection d'antigènes rabiques par test immuno-enzymatique** utilisant la technique WELYSSA (adaptation de la technique Rapid Rabies Enzyme ImmunoDiagnosis ou RREID). L'utilisation de cette technique a été suspendue en 2017 en raison de problèmes d'approvisionnement.

Dans le cas de prélèvements animaux pour lesquels il est impossible d'appliquer les trois techniques de référence citées précédemment (prélèvements considérés comme non conformes car putréfiés, desséchés, formolés ou sans matière cérébrale), des analyses peuvent parfois être réalisées en utilisant des méthodes alternatives (techniques immunohistochimiques ou de biologie moléculaire).

#### 1.2. Techniques de diagnostic intra-vitam de la rage humaine

Deux types de techniques sont utilisés au CNRR pour la réalisation de ce diagnostic :

- La **recherche d'anticorps antirabiques dans le sérum et le LCS** par séroneutralisation (technique Rapid Focus Fluorescent Inhibition Test ou RFFIT) et par test immuno-enzymatique (technique ELISA utilisant le kit commercial Platelia™ Rabies II Kit, Bio-Rad) ;
- La **mise en évidence de l'ARN viral par RT-PCR et par une technique d'amplification et de détection en temps réel (RT-qPCR)** à partir de la salive, du LCS et de biopsies de peau. Le CNRR dispose d'amorces oligonucléotidiques permettant de détecter les différentes espèces virales du genre *Lyssavirus* (y compris les virus des chauves-souris européennes tels le virus Bokeloh bat lyssavirus récemment identifié et le virus European bat 1 lyssavirus).

### 1.3. Typage des isolats

Tous les isolats de lyssavirus identifiés par le CNRR font l'objet:

- Du **séquençage partiel ou total** des gènes de la nucléoprotéine, de la glycoprotéine ou de la polymérase par séquençage de type Sanger, voire du génome viral complet par séquençage à haut débit,
- De l'**analyse phylogénétique** poussée permettant le typage et l'analyse spatio-temporelle de la diffusion des souches (analyse Bayésienne, etc.).

Ces typages sont notamment permis grâce à l'appui technique au sein de l'Institut Pasteur de la plate-forme Génomique, de la plateforme de microbiologie Mutualisée (P2M).

### 1.4. Sérologie

Les anticorps antirabiques présents dans le sérum ou le LCS sont dosés par une technique immuno-enzymatique (ELISA) (Platelia™ Rabies II Kit, Bio-Rad) ou par séroneutralisation sur culture cellulaire (RFFIT). Le titrage des anticorps antirabiques sériques est effectué à titre gratuit pour les agents de l'Etat (personnel concerné des Directions Départementales de la Protection des Populations, etc.) et dans le cadre du suivi sérologique nécessaire suite à une prophylaxie de pré et/ou de post-exposition pour certaines catégories de patients, tel que rappelé dans l'avis et le rapport du Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) du 22 février 2013, relatif à la vaccination antirabique préventive, au traitement post-exposition et au suivi sérologique des personnes régulièrement exposées au virus de la rage (voyageurs, professionnels, chiroptérologues) (disponible à l'adresse <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=316>). Le CNRR assure ainsi les contrôles sérologiques des chiroptérologues conformément aux recommandations du Groupe de Travail sur la prévention de la rage des chiroptères chez l'homme et à celles du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) (avis du CSHPF du 8 juin 2001 concernant les "Recommandations pour limiter l'exposition du public aux virus de la rage des chauves-souris" publié dans le BEH N°39 de 2001 disponible à l'adresse <http://www.SPF.sante.fr/beh/2001/39/index.htm> et avis du CSHPF du 14 janvier 2005 concernant les "Recommandations relatives à la vaccination antirabique préventive, au traitement post-exposition et au suivi sérologique des personnes régulièrement exposées aux virus de la rage des chauves-souris en France métropolitaine" disponible à l'adresse [www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=140105\\_rage.pdf](http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=140105_rage.pdf)), et conformément à l'avis et au rapport du HCSP du 22 février 2013 cités précédemment. Les sérums sont envoyés par des laboratoires de biologie médicale. Des titrages sont aussi effectués pour les besoins d'enquêtes menées sur les patients du CAR de l'Institut Pasteur. Enfin, le CNRR reçoit et analyse également des sérums dans le cadre de sa participation à des essais inter-laboratoires internationaux pour les techniques ELISA et RFFIT.

## 2. Liste des techniques recommandées par le CNRR

Le CNR est le seul laboratoire à effectuer le diagnostic biologique de la rage chez l'homme et partage son activité de surveillance de la rage animale avec le Laboratoire National de Référence de la Rage (ANSES-Nancy). Aucun autre laboratoire ne pratique en France ces techniques.

En ce qui concerne la sérologie chez l'homme, le CNRR recommande la technique RFFIT pour la séroneutralisation et la technique Platelia Rage pour la sérologie par ELISA.

## 3. Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Le CNRR dispose de bases de données centralisées contenant :

- Les informations et les analyses effectuées sur les animaux suspects de contamination humaine analysés au laboratoire (banque de données N°1),
- Les données relatives aux suspicions de rage humaine et au suivi sérologique des patients (banque de données N°2),
- Les informations concernant les consultations et les traitements antirabiques effectués dans les CAR en France en post-exposition (banque de données N°3).

L'ensemble de ces données peut ensuite être analysé par le CNRR et l'unité LyEN à l'aide de logiciels spécialisés de type Stata.

- Les séquences nucléotidiques sur de nombreux gènes de lyssavirus obtenues dans le cadre d'activités de recherche et très fortement approvisionnées par sa large collection d'isolats ainsi que par ses nombreuses collaborations avec des collègues, en France avec l'Anses-Nancy mais également du monde entier. Le CNRR dispose, en plus des données de séquences, de l'ensemble des données spatio-temporelles ainsi que de l'espèce animale hôte à l'origine de l'isolement. Cette base de données s'avère être très utile pour l'identification rapide de l'origine animale et géographique des cas d'importation. Cette dernière ne sera pas détaillée ci-dessous.

### **3.1. Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine**

Les Directions Départementales (de la Cohésion Sociale et) de la Protection des Populations (DDPP ou DDCSPP) nous adressent tous les animaux suspects de contamination humaine décédés pendant la période de mise sous surveillance. Les données utiles à l'analyse nous sont communiquées sur un formulaire de commémoratif type (note de service DGA/SDSPA/N.96/N°8173 du 29/07/96) et sont saisies et analysées à l'aide du logiciel Lagon (société Epiconcept). Les informations recueillies sont les suivantes: numéros d'ordre et de référence de l'envoi, espèce, sexe, date de décès, nature du décès (mort naturelle, abattus ou euthanasiés), commune, département et pays d'origine de l'animal, nature de la contamination humaine (morsure, griffure, léchage, soins, simple manipulation), contamination animale, résultats

de chaque analyse pratiquée (immunofluorescence, isolement viral et ELISA) et résultat final de l'essai.

### **3.2. Banque de données N°2 : Suspensions de rage humaine et suivi sérologique**

Le CNRR assure le suivi sérologique de certaines catégories de personnes (chiroptérologues notamment) et centralise toutes les analyses concernant les suspicions de rage humaine. Ces suspicions lui sont communiquées directement par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers nationaux, voire internationaux. Les informations recueillies par le CNRR au travers d'une fiche standardisée (disponible sur son site Internet) sont fournies par les services hospitaliers demandeurs et concernent les identifications suivantes : identification de l'expéditeur (adresse), personnel demandeur (nom, fonction et service d'appartenance), prélèvements (date, nature, N° d'identification), patient (nom, prénom, sexe, âge, signes cliniques et biologiques, N° d'identification), résultats d'analyse (techniques utilisées, date, résultats). Les données sont saisies et analysées à l'aide des logiciels Word et Excel (société Microsoft).

Compte tenu des contraintes réglementaires liées à la loi de bioéthique d'août 2004 et au décret d'application du 10 août 2007, le CNRR réalise et réactualise régulièrement le recensement de sa collection d'échantillons biologiques humains. La déclaration des activités de préparation et/ou conservation à des fins scientifiques de cette collection a été intégrée aux dossiers de déclaration de l'Institut Pasteur DC-2009-1067 (sous la référence "Collection N°12"), DC-2012-1698 (sous la référence "Collection N°11"), et DC-2011-1471, qui ont été soumis auprès d'un Comité de Protection des Personnes (CPP) et du Ministère de la Recherche. Cette déclaration a fait l'objet d'une actualisation en 2015 auprès de ces deux autorités compétentes, où elle est maintenant enregistrée sous le numéro DC-2015-2429, et le recensement a été réactualisé en 2016.

### **3.3. Banque de données N°3 : Consultations et traitements antirabiques**

Les données recueillies concernent tous les patients qui consultent dans un CAR suite à un risque d'exposition à la rage. Ainsi, les CAR et les AAR, répartis dans toute la France, envoient chaque année leurs données collectées au CNRR. Cet envoi est réalisé sur la base du volontariat. Les données enregistrées sont les suivantes : âge, sexe, date d'exposition, commune, département et pays où a eu lieu l'exposition, espèce animale en cause, statut de l'animal vis-à-vis de la rage, prescription d'un traitement antirabique, délai de mise en place du traitement (délai entre exposition et traitement), prescription d'une sérothérapie, type(s) de vaccin prescrit, observance du traitement, tolérance au traitement. Les données ci-dessus sont saisies et analysées à l'aide du logiciel Voozanoo© (société Epiconcept).

### **3.4. Aspects réglementaires et légaux**

- Dispositions relatives aux traitements automatisés de données à caractère personnel mises en œuvre par le CNRR dans le cadre de ses activités de surveillance et d'expertise :

Conformément aux dispositions de la loi du 6 juillet 1978 dite « Informatique et Libertés », l'Institut Pasteur a déclaré à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) (déclaration normale, numéro de déclaration 1474691v0) les traitements de données personnelles ayant été mis en œuvre par chaque CNR (dont le CNRR) dans le cadre de leurs activités d'expertise et de surveillance. Cette déclaration comporte l'engagement que le traitement satisfait aux exigences de la loi, notamment en ce qui concerne les droits des personnes dont les échantillons et données collectées sont susceptibles d'être utilisés à des fins de recherche.

- Dispositions relatives aux traitements automatisés de données à caractère personnel mises en œuvre par le CNRR dans le cadre de ses activités de recherche :

En complément de leurs activités de surveillance et d'expertise, le CNRR a également une activité spécifique de recherche dont l'objectif est de faire progresser les connaissances sur les maladies infectieuses et notamment sur les microorganismes qui y sont associés. Dans le cadre de ses missions de recherche, le CNRR respecte les dispositions du chapitre IX de la loi du 6 janvier 1978 telle que modifiée par la loi du 6 août 2004, relatif aux traitements automatisés de données à caractère personnel ayant pour fin la recherche dans le domaine de la santé, qui autorise, sous certaines conditions, les transmissions de données médicales nominatives entre professionnels de santé et organismes de recherche tout en définissant les droits des personnes concernées. En application de ces dispositions, un avis du Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé (CCTIRS) et une autorisation de la CNIL sont requis.

### Annexe 3 : Tableaux complémentaires décrivant l'activité de diagnostic de la rage animale

**Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2018.**  
(Tous ces animaux proviennent de France métropolitaine)

ESPECE	NOMBRE RECU	POSITIF	ANNULE
<b>ANIMAUX DOMESTIQUES</b>			
CHAT	625		
CHIEN	591		
FURET	4		
HAMSTER	1		
<b>ANIMAUX SAUVAGES</b>			
BOVIN	2		
FOUNE	5		
RENARD	17		
HERISSON	1		
FENNEC	1		
LAMA	1		
BELETTE	1		
SINGE	5		
<b>INSECTIVORES</b>			
CHAUVE-SOURIS	28	2	
<b>RONGEURS et LAGOMORPHES</b>			
ECUREUIL	4		
LIEVRE	1		
RAT	3		
<b>TOTAL</b>	1 290	2	

**Tableau AIII: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2018.**

DEPARTEMENTS	ANIMAUX DOMESTIQUES			ANIMAUX SAUVAGES		
	NEGATIFS	MPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS	MPOSSIBLES	POSITIFS
01 AIN	23			1		
02 AISNE	10					
03 ALLIER	16			2		
04 ALPES DE HAUTE PROVENCE	8					
05 HAUTES-ALPES	9					
06 ALPES-MARITIMES	7					
07 ARDECHE*	7					
08 ARDENNES	8					
09 ARIEGE	5					
10 AUBE	9			1		
11 AUDE	10					
12 AVEYRON	5					
13 BOUCHES-DU-RHONE	32					
14 CALVADOS	8			1		
15 CANTAL	4			1		
16 CHARENTE	8			1		
17 CHARENTE MARITIME	9			2		
18 CHER	9					1
19 CORREZE	3					
20 CORSE	4					
21 COTES D'OR	8			2		
22 COTES D'ARMOR	8			1		
23 CREUSE	3					
24 DORDOGNE	7			1		
25 DOUBS	8			1		
26 DROME	14			3		
27 EURE	12			1		
28 EURE & LOIR	1					
29 FINISTERE	37			1		
30 GARD	12					
31 HAUTE-GARONNE	22			1		
32 GERS	9					
33 GIRONDE	25			1		
34 HERAULT	32					
35 ILLE & VILAINE	16					
36 INDRE	8					
37 INDRE & LOIRE	9			1		
38 ISERE	16				1	
39 JURA	7					
40 LANDES	5			2		
41 LOIR & CHER*	12					
42 LOIRE	18			1		
43 HAUTE-LOIRE	7			1		
44 LOIRE ATLANTIQUE	14			3		

\* Les prélèvements de l'Ardèche sont acheminés par l'intermédiaire du LVD de la Drôme, ceux du Loir & Cher par le Laboratoire de Touraine.

DEPARTEMENTS		ANIMAUX DOMESTIQUES			ANIMAUX SAUVAGES		
		NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS
45	LOIRET	8					
46	LOT	2			1		
47	LOT & GARONNE*	9			1		
48	LOZERE	2					
49	MAINE & LOIRE	21			2		
50	MANCHE	6					
51	MARNE	10			1		1
52	HAUTE-MARNE	2					
53	MAYENNE	4					
54	MEURTHE-ET-MOSELLE	16					
55	MEUSE	4					
56	MORBIHAN	25			1		
57	MOSELLE	25			2		
58	NIEVRE	4			2		
59	NORD	22					
60	OISE*	8					
61	ORNE	3					
62	PAS-DE-CALAIS	16					
63	PUY-DE-DOME	13					
64	PYRENEES ATLANTIQUES	20			2		
65	HAUTES PYRENNES*	7					
66	PYRENEES ORIENTALES	10					
67	BAS-RHIN	18			1		
68	HAUT-RHIN	36			2		
69	RHONE	26			3		
70	HAUTE-SAONE	4			1		
71	SAONE & LOIRE	23			1		
72	SARTHE	8					
73	SAVOIE	7			2		
74	HAUTE-SAVOIE	22			2		
76	SEINE-MARITIME	19					
79	DEUX-SEVRES	8					
80	SOMME	9					
81	TARN	14			2		
82	TARN & GARONNE	8					
83	VAR	15					
84	VAUCLUSE	13					
85	VENDEE	16			2		
86	VIENNE*	10			1		
87	HAUTE-VIENNE	9			1		
88	VOSGES	8			1		
89	YONNE	3					
90	TERRITOIRE DE BELFORT	5					
	<b>REGION PARISIENNE :</b>						
75	PARIS	12					
77	SEINE & MARNE	32			1		
78	YVELINES	25				1	
91	ESSONNES	21			1		
92	HAUTS DE SEINE	20					
93	SEINE ST-DENIS	32			2		
94	VAL DE MARNE	32					
95	VAL D'OISE	16			2		
<b>TOTAL</b>		<b>1 286</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>37</b>	<b>2</b>	<b>2</b>

\* Les prélèvements du Lot & Garonne sont acheminés par l'intermédiaire du LVD des Pyrénées Atlantiques, ceux de l'Oise par le LVD de la Somme, ceux des Hautes-Pyrénées par le LVD des Pyrénées Atlantiques et enfin ceux de la Vienne par le LVD des Deux-Sèvres.