

Centre National de Référence de la Rage

Rapport annuel d'activité
2019

Directeur : Mr Hervé BOURHY
Directeurs Adjoint : Mr Laurent DACHEUX
Mme Perrine PARIZE

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 qu'elle que soient les conditions épidémiologiques.

Table des matières

Résumé analytique de l'activité du Centre National de Référence de la Rage (CNRR)	9
1 Missions et organisation du CNR de la Rage (CNRR)	11
2 Activités d'expertise	12
2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2019.....	12
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	12
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	12
2.4 Collections de matériel biologique	12
2.4.1 Distribution de souches	12
2.4.2 Distribution de prélèvements et sérums de référence	13
2.5 Activités d'expertise de l'année 2019 : Diagnostic de la rage en France.....	13
2.5.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine	13
2.5.2 Chez l'homme	17
2.5.3 Analyses sérologiques.....	18
2.6 Activités de séquençage.....	19
2.6.1 Accès à une plateforme de séquençage à haut débit.....	19
2.6.2 Accès à une expertise bio-informatique.....	19
2.6.3 Séquençage à haut débit réalisé dans le cadre des activités du CNRR	19
3 Activités de surveillance	20
3.1 Description du réseau de partenaires, des circuits de surveillance en fonction des analyses effectuées	20
3.1.1 Circuit humain	22
3.1.1.1 Suspicion de rage humaine	22
3.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine.....	22
3.1.2 Circuit animal.....	23
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques de la rage	24
3.2.1 Circuit humain	24
3.2.1.1 Suspicion de rage humaine	24
3.2.1.2 Prophylaxie de la rage humaine.....	25
3.3 Surveillance de la résistance des lyssavirus à la prophylaxie médicale	27
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux et internationaux	28
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	29
4 Alerte	29
5 Activités de rétro-informations, de formation et de conseil	29

5.1	Conseil et expertise auprès des professionnels de santé	29
	Cours, formations, évaluations	31
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 structure européenne ou internationale	32
5.2.1	Actions au niveau national	32
5.2.2	Actions au niveau international	32
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grands public	33
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....	33
6.1	Activités de recherche en cours	33
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.....	33
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	34
6.1.3	Etude des facteurs génétiques et épidémiologiques associés au franchissement de la barrière d'espèce et à la dispersion du virus rabique dans les écosystèmes.....	35
6.1.4	Etude des facteurs associés à une réponse anticorps inadéquate après une vaccination antirabique en préexposition chez des professionnels exposés.	37
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	37
6.2	Liste des publications et communications	38
	Publications nationales	38
	Publications internationales	38
	Conférences nationales sur invitation	39
	Conférences Internationales sur invitation.....	39
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale	39
8	Programme d'activité pour la période 2019-2020.....	40
8.1	Du diagnostic au rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial de la surveillance de la rage.....	40
8.2	Diagnostic de la rage en France: Rapidité, Fiabilité et Qualité.....	41
8.3	Contribution à la surveillance et rôle d'alerte : le CNRR comme maillon initial.....	41
8.4	Conseil	42
8.4.1	Mesures générales.....	42
8.4.2	Surveillance épidémiologique des pratiques de prophylaxie post-exposition en France.....	42
8.4.3	Cas particulier de la prévention de la rage chez les chiroptérologues	42

8.4.4	Coordination entre le CNRR et les CAR.....	43
8.5	Activités de recherche en lien avec le CNRR.....	43
Annexe 1 : Missions et organisation du CNRR.....		45
1.	Rappel des missions et objectifs majeurs du CNRR	45
2.	Effectif et Qualification du personnel du CNRR	46
2.1.	Organigramme général.....	46
2.2.	Effectif par catégorie de fonction.....	46
2.3.	Personnel technique	46
2.4.	Personnel cadre.....	47
3.	Locaux et équipements du CNRR.....	47
3.1.	Locaux.....	47
3.2.	Matériel et équipement actuels de la structure	50
4.	Collection de matériel biologique du CNRR.....	50
5.	Démarche Qualité au sein du CNRR.....	51
6.	Procédure d'alerte du CNRR	53
Annexe 2 : Capacités techniques du CNRR.....		55
1.	Liste des techniques de référence	55
1.1.	Techniques de diagnostic post-mortem de rage (animale et humaine)	55
1.2.	Techniques de diagnostic intra-vitam de la rage humaine.....	55
1.3.	Typage des isolats.....	56
1.4.	Sérologie.....	56
2.	Liste des techniques recommandées par le CNRR	57
3.	Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles	57
3.1.	Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine.....	57
3.2.	Banque de données N°2 : Suspensions de rage humaine et suivi sérologique.....	58
3.3.	Banque de données N°3 : Consultations et traitements antirabiques.....	58
3.4.	Aspects réglementaires et légaux	59
Annexe 3 : Tableaux complémentaires décrivant l'activité de diagnostic de la rage animale.....		61

Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2019. 62

Tableau Alll: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2018. 63

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau I:	Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2019	Page 14
Tableau II:	Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2019	Page 14
Tableau III:	Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2019 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental	Page 15
Tableau IV:	Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2019 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques	Page 18
Tableau V:	Cas humains de rage recensés en France depuis 1970	Page 24
Tableau AI:	Effectif par catégorie de fonctions	Page 45
Tableau AII:	Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2019	Page 60
Tableau AIII:	Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2019	Page 63

Liste des figures

Figure 1:	Organigramme général du CNRR	Page 11
Figure 2:	Description des circuits de surveillance de la rage en France	Page 21
Figure 3:	Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France	Page 21
Figure 4:	Distribution des CAR/AAR sur le territoire français en 2019	Page 22
Figure 5:	Evolution du nombre de traitements antirabiques chez les patients exposés à l'étranger (2018)	Page 25
Figure 6:	Evolution du nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients exposés à l'étranger (2018)	Page 26
Figure 7:	Plans des locaux de l'unité LyEN (utilisés par le CNRR)	Page 48/47
Figure 8:	Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2002	Page 59

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 générale 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

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**. Il collabore ainsi avec le Laboratoire National de la Rage (Anses-Nancy) pour assurer la surveillance de la rage animale. En 2019, 1365 suspensions chez l'animal et 23 suspensions chez l'homme dont 6 en provenance de la République Démocratique du Congo et 1 originaire de Moldavie n'impliquant pas des patients français, ont été investiguées par le CNRR. **Un seul cas de rage** a été mis en évidence chez des chauves-souris. Aucun cas de rage n'a été diagnostiqué en 2019 chez des patients hospitalisés en France. En revanche, **6 suspensions humaines** d'origine étrangère ont été confirmées.

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 dans le cadre de ses **analyses en biologie vétérinaire (ISO 17025, section Laboratoire, accréditation N°1-1692)** et pour quatre de ses techniques utilisées dans le diagnostic de la rage **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**).

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 2018 et ont fait l'objet d'une analyse dans le dernier bulletin épidémiologie et prophylaxie de la rage humaine en France paru en 2019 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). En 2018, le nombre de patients exposés et celui des traités (51,3% du total) étaient globalement stables par rapport aux années précédentes. On observe cependant une diminution des consultations et des PPE suite à une exposition en France métropolitaine et dans le même temps une augmentation des expositions 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. Il a été moteur dans la promotion de l'allègement des schémas de prophylaxie antirabique en France.

Contribution aux réseaux internationaux de surveillance (en liaison avec le Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé de référence et de Recherche sur la rage : 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.

- **Révision et promotion des recommandations internationales de l'OMS en matière de prophylaxie antirabique chez l'homme**. 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) et à l'évolution du contrôle de la rage dans les pays situés en zone d'enzootie rabique. En particulier, le CNRR en collaboration avec le CCOMS rage a largement promu un schéma par voie intradermique (ID) en 3 visites. Ce schéma est maintenant recommandé par l'OMS en remplacement des autres protocoles par voie ID.

Epidemiological surveillance and alert

The CNRR is in charge of laboratory analyzes concerning all suspicions of human rabies as well as all suspicions of animal rabies likely to have infected humans. It thus collaborates with the National Rabies Reference Laboratory (Anses-Nancy) to ensure the surveillance of animal rabies. In 2019, 1365 suspicions in animals and 23 suspicions in humans, including 6 from the Democratic Republic of Congo and 1 from Moldova not involving French patients, were investigated by the CNRR. Only one case of rabies has been detected in bats. No case of rabies was diagnosed in 2019 in hospitalized patients in France. However, 6 human suspicions of foreign origin have been confirmed.

In order to maintain the quality of the analyzes carried out, the CNRR is accredited by COFRAC for two of its techniques used in the post-mortem diagnosis of rabies as part of its analyzes in veterinary biology (ISO 17025, Laboratory section, accreditation N° 1-1692) and for four of its techniques used in the diagnosis of human rabies through its membership of the reference and multi-site expertise laboratory of the Institut Pasteur (ISO 15189, Human Health section, accreditation No. 8-2588).

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 requests for information, advice and biological results from physicians, practicing veterinarians, biologists, CARs and the veterinary services.

- Data concerning the epidemiological analysis of human rabies prophylaxis in France are available for the year 2018 and were analyzed in the last bulletin epidemiology and prophylaxis of human rabies in France published in 2019 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). In 2018, the number of patients exposed and that of treated (51.3% of the total) were globally stable compared to previous years. However, there has been a decrease in consultations and PEPs following exposure in mainland France and at the same time an increase in exposure abroad.

- The CNRR has been participating since the end of 2016 within the HCSP in the response to a referral from the DGS on the subject of the revision of the recommendations on anti-rabies prophylaxis after exposure according to the current epidemiological situation. It has been a driving force in promoting the reduction of rabies prophylaxis regimens in France.

Contribution to international monitoring networks

The CNRR contributes, in liaison with the World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on rabies (WHOCC Rabies) to the monitoring and control of rabies in Europe and more generally in the world:

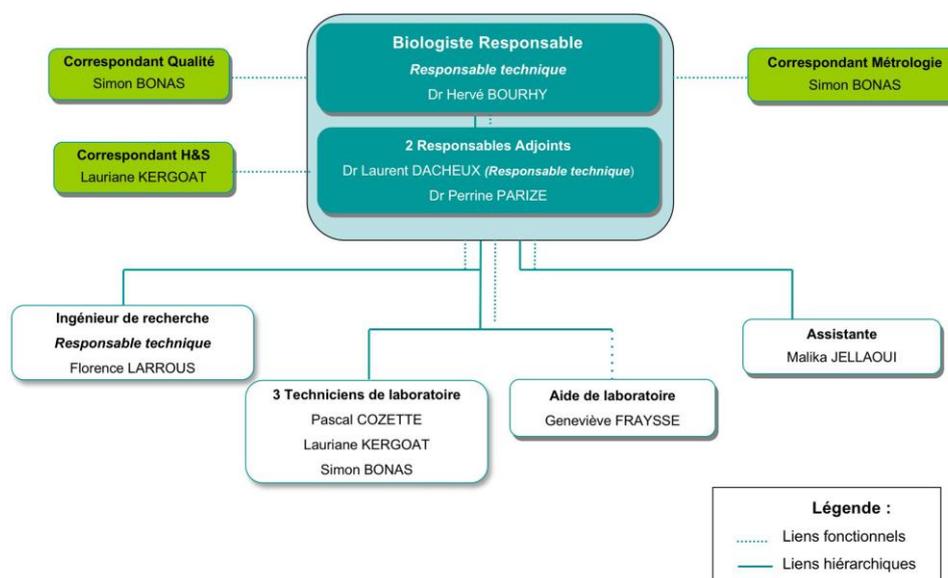
- At European level: contribution to the surveillance of rabies in Europe, data exchange and collaborations with other national and European institutions in charge of rabies.
- At the developing countries, particularly in Africa and Asia, level: improvement of rabies control through training (rabies 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.
- Revision and promotion of WHO international recommendations on rabies prophylaxis in humans. The CNRR in conjunction with WHOCC Rabies has significantly contributed to the revision of the WHO international recommendations on anti-rabies prophylaxis in humans (pre- and especially post-exposure) and to the development of rabies control in countries located in rabies endemic zones. In particular, the CNRR in collaboration with the CCOMS rabies has widely promoted an intradermal (ID) regimen in 3 visits. This regimen was promoted in the WHO recommendations in replacement of other protocols by ID route.

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, *Epidémiologie et Neuropathologie*" (LyEN) au sein de l'Institut Pasteur, il est placé sous la responsabilité du Dr. Vét. et biologiste médical spécialisé en virologie, 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 prophylaxies antirabiques post-exposition pratiquées en France. Les données transmises par les CAR sont regroupées et publiées annuellement dans un "Bulletin sur l'Epidémiologie 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.

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 dans le cadre de ses analyses en biologie vétérinaire (ISO 17025, section Laboratoire, accréditation N°1-1692) et pour quatre de ses techniques utilisées dans le diagnostic de la rage 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). Le dossier de validation de la technique de séroneutralisation (RFFIT) utilisée pour le dosage des anticorps antirabiques chez l'homme, et celui de la RT-qPCR, préparé selon le référentiel ISO 15189 on été acceptés par le COFRAC en 2019.

Figure 1: Organigramme général du CNRR.



2 Activités d'expertise

Diagnostic de laboratoire de la rage en 2019

- 1365 suspicions de rage animale analysées.
- 16 suspicions de rage humaine reçues correspondant à 54 échantillons biologiques humains analysés.

Séquençage de génomes complets de virus rabique en 2019

- 1 cas de rage humaine diagnostiquée en Moldavie.
- 1 cas de rage de chauve-souris.

Analyses sérologiques

- 62 sérums humains (hors demande de diagnostic de rage humaine).

2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2019

Les techniques utilisées par le CNRR pour la mise en œuvre de ses missions sont restées identiques en 2019 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 2019.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune activité de ce type en 2019

2.4 Collections de matériel biologique

2.4.1 Distribution de souches

L'unité LyEN qui héberge le CNRR et le CCOMS aide les laboratoires intéressés à améliorer la surveillance de la rage et à fournir selon des normes authentifiées et qualifiées du matériel biologique nécessaire au diagnostic de laboratoire. Ainsi l'Unité LyEN dispose d'une très grande collection historique d'environ 2500 isolats et souches de lyssavirus.

L'unité LyEN contribue aussi au projet européen «European Virus Archive GLOBAL (EVAg)», Thème: H2020-INFRAIA-01-2018-2019, coordonné par le Pr Jean-Louis Romette, Université d'Aix-Marseille, Marseille, France (<http://www.european-virus-archive.com>). Ce consortium comprend un groupe international de 37 laboratoires répartis dans le monde entier, y compris les Amériques, l'Afrique et l'Asie, partageant chacun le même intérêt pour la génération d'une collection virale internationale. EVAg a pour objectif de répondre aux besoins des scientifiques, dans le monde entier, en générant une collection authentifiée de virus animaux et humains qui est plus grande que n'importe quel

référentiel existant et facilement accessible à tous les laboratoires qui satisfont aux normes éthiques, de sûreté et de sécurité approuvées. Dans le cadre de ce programme et en collaboration avec d'autres centres collaborateurs de l'OMS et de l'OIE (AHPLA et Friedrich Leoffer Institute), l'unité LyEN propose 39 isolats et souches comprenant des virus vaccinaux et de référence qui sont désormais inclus dans le catalogue d'EVAg et 3 d'entre eux ont été échangés avec des institutions étrangères pendant la période de ce rapport. La totalité de ces isolats sont historiques (antérieurs au mandat du CNR 2017-2021) ou sont issus d'activités de diagnostic ou de collaborations avec des pays étrangers et donc non couvert par le mandat actuel du CNRR.

2.4.2 Distribution de prélèvements et sérums de référence

En 2019, 7 souches de virus rabique (correspondant aux différents cas positifs diagnostiqués), 62 sérums et 80 autres produits biologiques ont été incorporées à la collection du CNRR. Aucun prélèvement, sérum de référence ou souche n'a été transféré par le CNRR. L'état des collections est décrit dans l'annexe, chapitre 4.

2.5 Activités d'expertise de l'année 2019 : 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 2019, le CNRR a reçu un total de **1365 prélèvements animaux** correspondant à un volume d'activité en légère augmentation (+2.6% vs 2018 n=1290), comparé à celui de l'année précédente, restant en augmentation par rapport à l'année 2017 (+7,2%).

Parmi les **1365** prélèvements animaux réceptionnés au CNRR en 2019 (Tableau I), **1340 échantillons étaient originaires de France métropolitaine** (Tableau AII), **25 prélèvements étaient originaires des départements d'outre-mer** (Tableau II) et **42 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).

Un prélèvement provenant d'animaux positif a été reçu en 2019.

Tableau I: Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2019

	RESULTATS			
	NEGATIFS	POSITIFS	IMPOSSIBLES	TOTAL
Animaux domestiques	1323			1323
Animaux sauvages	40	1	1*	42
TOTAL	1363	1	1*	1 365

* Impossibles: absence de matière cérébrale pour 1 animal (1 chauve-souris).

Tableau II: Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2019

FRANCE D'OUTRE-MER		RESULTATS		
		NEGATIFS	POSITIFS	TOTAL
MARTINIQUE	Chat	2		2
	Chien	1		1
GUYANE	Chat	4		4
	Chien	8		8
	Caprin	2		2
	Equin	1		1
	Loutre	1		1
REUNION	Chien	4		4
NOUVELLE CALEDONIE	Chien	1		1
POLYNESIE FRANCAISE	Chien	1		1
TOTAL		25	0	25

Tableau III: Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2019 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
Albanie	Chien*	DDPP Ain (01)	1	
Allemagne	Chat*	DDPP Morbihan (57)	1	
	Chien	DDPP Val-d'oise (95)	1	
Bulgarie	Chien*	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
	Chien	DDPP Loire (42)	1	
Espagne	Chien	DDPP Sarthe (73)	1	
	Chat*	DDPP Essonne (91)	1	
Ile de la Réunion	Chat*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
Ile Maurice	Singe	DDPP Rhône (69)	3	
Macédoine	Chien	DDPP Rhône (69)	1	
Malaisie	Chat*	DDPP Gironde (33)	1	
Maroc	Chat*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
	Chat*	DDPP Finistère (29)	1	
	Chat	DDPP Gers (32)	1	
	Chat	DDPP Seine-et-Marne (77)	1	
Mexique	Chien*	DSV (98)	1	
Pologne	Chien*	DDPP Val de Marne (94)	1	
Portugal	Chien	DDPP Ain (01)	1	
	Chien*	DDPP Rhône (69)	1	
	Chat	DDPP Val-d'oise (95)	1	
	Chien*	DDPP Yvelines (78)	1	
Roumanie	Chien*	DDPP Maine-et-Loire (49)	1	
		DDPP Nord (59)	1	
	Chat*	DDPP Val de Marne (94)	1	
Russie	Chien	DDPP Bas-Rhin (67)	1	
	Chien*	DDPP Paris (75)	1	
	Chien*	DDPP Val de Marne (94)	1	
Sénégal	Chauve-souris	DDPP Vaucluse (84)	1	
	Chat *	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
Tunisie	Chat	DDPP Bouches-du-Rhône (13)	1	
	Chat *	DDPP Maine-et-Loire (49)	1	
	Chien*	DDPP Moselle (57)	1	
	Chien*	DDPP Paris (75)	1	
Turquie	Chien	DDPP Val-d'oise (95)	1	
	Chien*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
	Chat*	DDPP Val de Marne (94)	1	
Ukraine	Chat*	DDPP Val-d'oise (95)	1	
	Chat*	DDPP 0Hautes Alpes (05)	1	
Origine inconnue	Chien	DDPP Essonne (91)	1	
	Chien*	DDPP Seine et marne (77)	1	
total			42	

* 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 2019, 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 EpiInfo 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 2019, 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 : **58,3% 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 **97,7% 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. Un cas animal positif a été diagnostiqué en 2019, avec un délai de 4 jours pour ce typage. **Seul 1 échantillon** (1 chauve-souris) parmi les 1365 prélèvements animaux reçus au CNRR en 2019 n'a pu être analysé, de par son 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 cérébro-spinal (LCS) pour le diagnostic *intra-vitam* ou biopsie cérébrale et biopsie de peau pour le diagnostic *post-mortem*. En 2019, le CNRR a reçu 16 demandes de diagnostic de rage humaine pour des patients pris en charge dans des centres hospitaliers français. Les demandes de diagnostic ont été annulées par les prescripteurs dans 4 cas en raison d'un tableau clinique non compatible ou de la confirmation d'un autre diagnostic avant la réalisation de la recherche de rage par le CNRR. De plus, 2 demandes de diagnostic ont été considérées comme impossibles par le CNRR en raison de la non-conformité des échantillons à réception (prélèvements décongelés notamment).

Parmi ces 16 demandes de diagnostic en 2019, 8 (50%) étaient conformes aux exigences et recommandations du CNRR en termes de nature, nombre et état des prélèvements reçus ce qui représente une amélioration par rapports aux années précédentes (pour mémoire 37,5% de demandes conformes en 2018). Pour rappel, une biopsie cutanée réalisée au niveau de la nuque et 3 recueils salivaires séquentiels (prélevés à 3-6 heures d'intervalle) constituent les prélèvements minimums nécessaires pour la mise en œuvre du diagnostic *intra-vitam* de la rage humaine et une biopsie de peau ou une biopsie cérébrale pour le diagnostic *post-mortem*.

Pour l'ensemble des demandes de diagnostic analysées (n=10) par le CNRR et provenant de centres hospitaliers en France, le résultat s'est révélé négatif. Pour ces suspicions d'encéphalites rabiques, 54 échantillons biologiques humains (27 salives, 13 sérums, 6 LCS, 7 biopsies cutanées et 1 biopsie cérébrale) ont été reçus, correspondant à une diminution du nombre d'échantillons analysés de 18,7% par rapport à 2018 (n=78).

Le CNRR a par ailleurs reçu en juillet 2019, dans le cadre de sa coopération avec le CCOMS Rage, une demande de diagnostic pour un jeune patient de 11 ans hospitalisé en Moldavie, qui présentait un tableau encéphalitique et qui avait été exposé à plusieurs reprises à des morsures de carnivores sauvages. Un virus RABV appartenant au clade Cosmopolitan (circulant chez les chiens viverrins et les renards roux dans les pays du Nord-Est de l'Europe) a été identifié dans les prélèvements de ce patient. Cet enfant est décédé avant la confirmation du diagnostic par le CNRR. Le CNRR a également reçu 6 prélèvements du laboratoire de la rage de République Démocratique du Congo pour lesquels le diagnostic de rage a été confirmé dans 5 cas (Tableau IV).

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). 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.

Tableau IV: Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2019 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	Biopsie cérébrale	
H190001	CHU Bichat (75)			1 ^a			Impossible
H190002	Laboratoire de la rage, République Démocratique du Congo ^b	1 ^b					Positif
H190003	Laboratoire de la rage, République Démocratique du Congo ^b	1 ^b					Négatif
H190004	Laboratoire de la rage, République Démocratique du Congo ^b	1 ^b					Positif
H190005	Laboratoire de la rage, République Démocratique du Congo ^b	1 ^b					Positif
H190006	Laboratoire de la rage, République Démocratique du Congo ^b	1 ^b					Positif
H190007	CHU Tours (37)	3	1	1	1		Négatif
H190008	CHU Rennes (35)		1			1	Négatif
H190009	CHU Clermont Ferrand (63)	3					Négatif
H190010	CHU Rouen (76)	3	1	1	1		Négatif
H190011	CHU Raymond Poincaré, Garches (92)	1					Négatif
H190012	CHU La Timone (13)	3 ^c	1 ^c		1 ^c		Demande annulée
H190013	CHU Angers (49)	2	1	1	1		Négatif
H190014	CHU Ambroise Paré (75)	3	1	1	1		Négatif
H190015	Hôpital de Chişinău, Moldavie			2 ^{b,c}		3 ^b	Positif
H190016	Laboratoire de la rage, République Démocratique du Congo ^b	1 ^b					Positif
H190017	CHU Saint-Antoine (75)		1 ^a				Demande annulée
H190018	CH Royan (17)	6			1		Négatif
H190019	CHU Saint-Etienne (42)	3	2	1	1		Négatif
H190020	CHU Raymond Poincaré, Garches (92)	1 ^c					Demande annulée
H190021	CHU Lyon (69)	3	6	1	1		Négatif
H190022	CHU Raymond Poincaré, Garches (92)			1 ^a			Demande annulée
H190023	CHU Henri Mondor (94)	3 ^a	2				Impossible
TOTAL		33	21	15	8	1	

^a 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).

^b 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.

^c Prélèvements reçus mais non traités (demande annulée).

2.5.3 Analyses sérologiques

Un total de **62 sérums** humains (hors demande de diagnostic de rage humaine, d'essais inter-laboratoires et protocoles de recherche clinique) a été reçu au CNRR en provenance de LABM et de

centres hospitaliers au cours de l'année 2019 et analysé selon les techniques habituelles (cf. Annexe 2). Ceci représente respectivement une baisse d'activité de 40% et de 20% par rapport aux années 2018 (n=103) et 2017 (n=87). Sept 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 2019, 70,2% des résultats ont été communiqués dans ce délai (57% en 2018), démontrant une amélioration dans les délais de rendu de ces résultats, et permettant ainsi de se rapprocher de l'objectif fixé.

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 2019 à des fins d'investigation de cas de rage chez l'homme et chez l'animal. Le génome complet du virus isolé chez le cas humain en

provenance de Moldavie ainsi que celui isolé chez une chauve-souris en France métropolitaine en 2019 ont été obtenus par séquençage à haut débit. Ces analyses ont 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 en 2019:

- **Un cas chez une chauve-souris a été** mis en évidence.
- **Aucun cas humain n'a été confirmé à partir de patients français hospitalisés en France mais 6 cas humains** ont été confirmés parmi 6 suspicions de rage chez des patients moldaves et congolais hospitalisés dans leur pays.

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 2018 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. Rôle moteur du CNRR dans la promotion de l'allègement des schémas de prophylaxie antirabique en France.
- **Révision et promotion des recommandations internationales de l'OMS en matière de prophylaxie antirabique chez l'homme (pré- et surtout post-exposition)** en liaison avec le CCOMS Rage hébergé dans la même unité. A la suite de nos travaux, le remplacement des autres protocoles par voie ID par un schéma de prophylaxie post-exposition par voie intradermique (ID) en 3 visites a fait l'objet d'une recommandation internationale par l'OMS.

3.1 Description du réseau de partenaires, des circuits de surveillance 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).

Figure 2: Description des circuits de surveillance de la rage en France (d'après Z. Lardon).

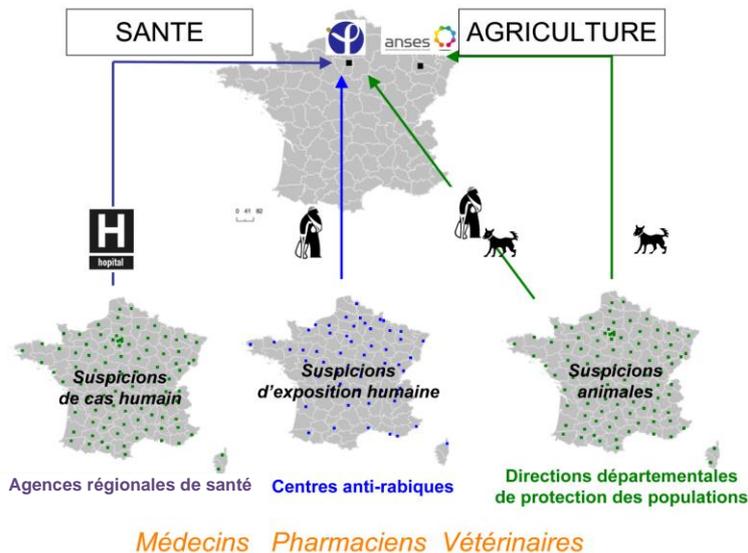
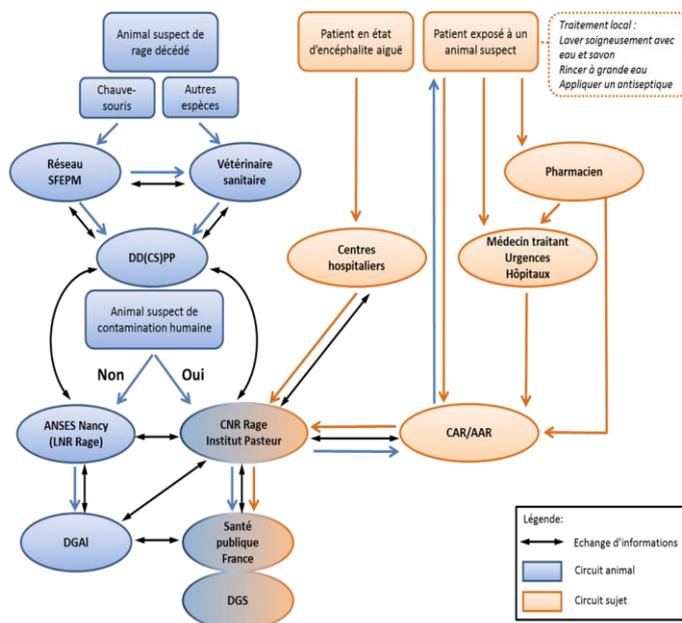


Figure 3 : Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France.



Abbreviations:
SFEPM : 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 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. Les procédures d'alerte restent inchangées et sont décrites en Annexe 1.

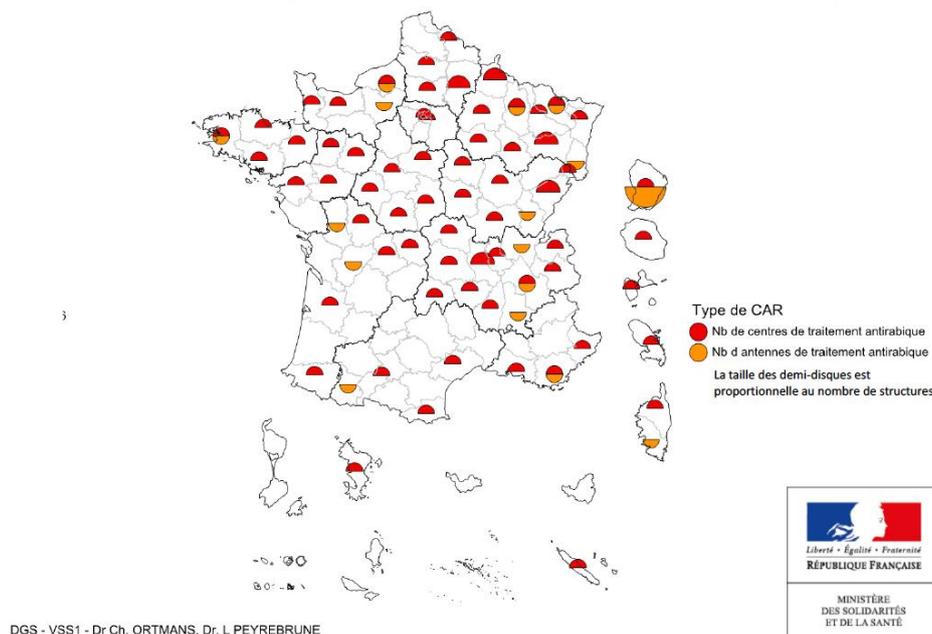
3.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

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) (Fig. 5).

Figure 4 : Distribution des CAR/AAR sur le territoire français en 2017

(Source : 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)



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. 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. 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 (cf. Chapitres 3.2.1.2 et 5.1)

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 (source ANSES-Nancy)**. 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.

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 LVD et des DDPP (ou DDCSPP). La dernière enquête concerne la période 2018, et a été mise en œuvre en juin 2019. Un taux de réponse de 73,3% des départements contactés a été noté. Parmi ces derniers, **le taux de satisfaction au regard des délais de rendu de résultats était de 95,9%**. Plus de 40% des entités interrogées signalaient connaître notre site internet, parmi lesquelles 93,2% étaient satisfaites du contenu. Les entités interrogées ont émis 3 réclamations pendant l'année 2018, ces réclamations concernaient l'envoi des comptes-rendus de résultats (mauvaise transmission par fax, erreur de destinataire, demande d'envoi à 2 destinataires par département). L'enquête satisfaction-client pour l'année 2019 est en cours d'analyse.

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

Aucun cas positif de rage n'a été diagnostiqué pour un patient hospitalisé en France en 2019, 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 hémato-phages d'Amérique latine).

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

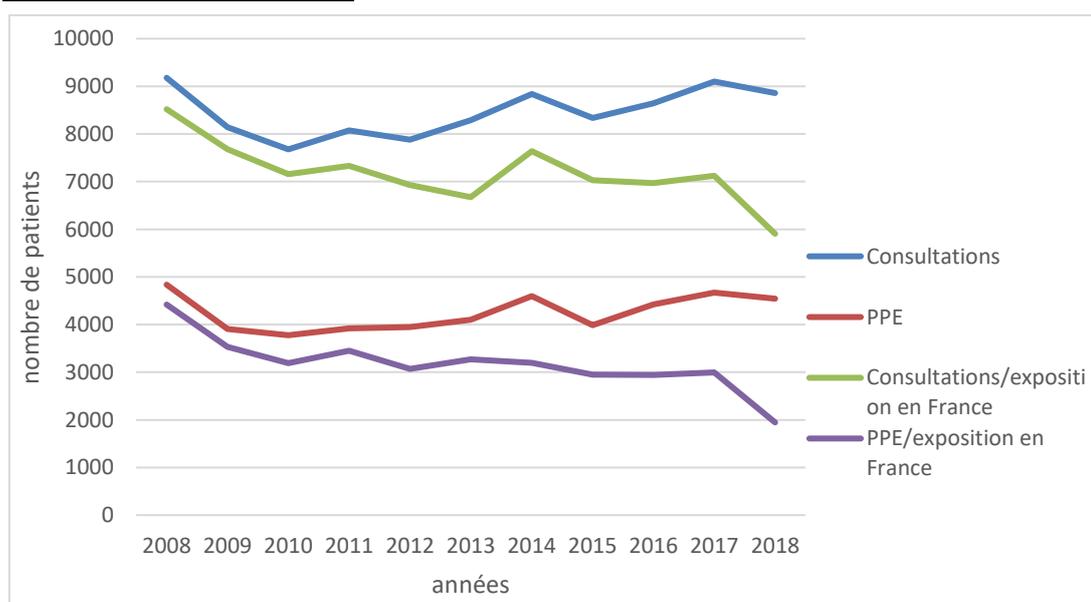
3.2.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

L'édition du Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France de 2018 a été réalisée le 19 juin 2019 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 2019 ne sont pas encore disponibles dû à un retard de transmission de certains départements particulièrement impactés par le COVID-19 (Guyane par exemple). Pour l'année 2018, 61 CAR (sur un total de 71) ont directement transmis leurs données au CNRR. Les données de 9 AAR ont été transmises indirectement par l'intermédiaire de leur CAR de référence. Un total de 8857 patients consultant au moins à une reprise dans un CAR français a été enregistré avec :

- 4543 patients ayant reçu une prophylaxie post-exposition (PPE) (51,3%).
- 4173 patients non traités (47,1%).
- 134 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.
- 7 patients pour lesquels la notion de prophylaxie est manquante.

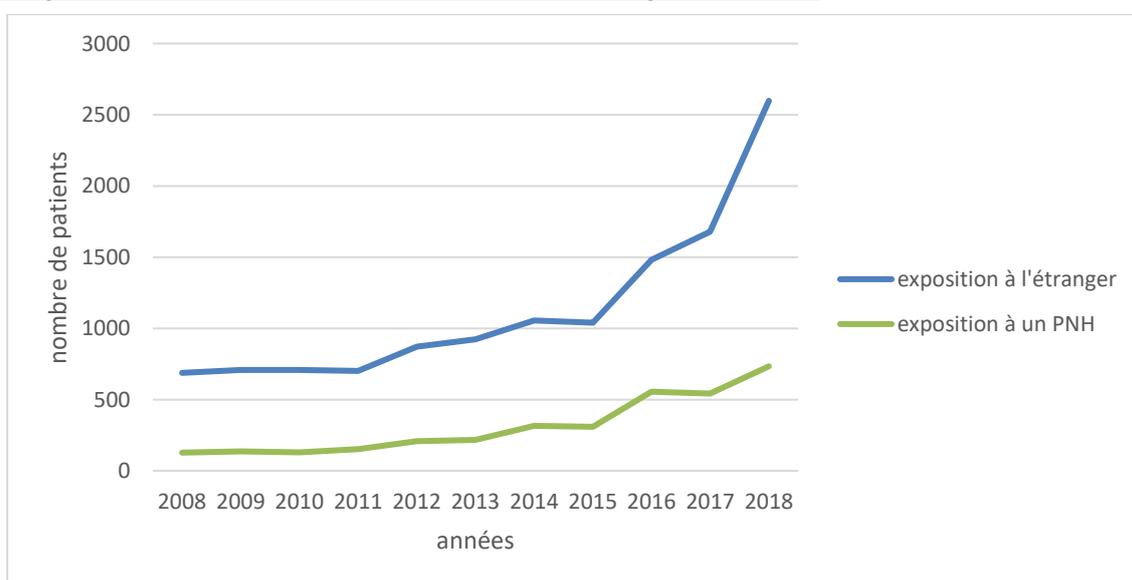
Le nombre de consultants et de patients ayant reçus une PPE est globalement stable depuis 10 ans (Figure 6). Cependant, en 2018, les consultations et les PPE des patients exposés en France sont en nette diminution. En effet, l'analyse de l'épidémiologie actuelle de la rage en France permet de considérer que le risque d'être exposé à un mammifère non volant enragé en France hors Guyane est négligeable. Les données recueillies pour 2018 confirment que le changement de pratiques des médecins de CAR et AAR français a été amorcé en tenant compte de cette épidémiologie actuelle favorable.

Figure 5 : Evolution du nombre de patients consultants dans un CAR ou une AAR et du nombre de PPE délivrées (2006 à 2018)



Le projet de recommandations en matière de traitement antirabique, du groupe de travail rage du Haut Comité de Santé Publique (HCSP), présenté aux JNI 2019 a été accueilli positivement par la plupart des CAR et AAR et l'abstention de traitement après exposition à un animal domestique sur le territoire français hors Guyane, a déjà été intégré dans l'algorithme décisionnel thérapeutique de nombreux centres. En 2018, en revanche, la part des PPE liées à des expositions survenues hors du territoire métropolitain continue d'augmenter et représente plus de 57% 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.

Figure 6 : 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 (2008-2019)



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 devraient être publiées au dernier trimestre 2020. La validation de ces recommandations devrait permettre une harmonisation des pratiques sur tout le territoire et une diminution significative du nombre de PPE délivrées suite à des expositions associées à un risque nul de transmission de rage, 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 2019, aucun cas de rage humaine n'a été diagnostiqué sur le territoire français. Cependant le cas de rage humaine diagnostiqué par le CNRR en Europe orientale en 2019 ainsi que les 2 cas diagnostiqués en France en 2017 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. En 2019 aucun mammifère terrestre non volant n'a été diagnostiqué positif pour la rage sur le sol français.

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 et le suivi épidémiologique de la rage animale doit être maintenu. Il est à noter que le CNRR a reçu et traité en 2019 un total de **42 prélèvements d'animaux importés dont 25 illégalement** (selon les indications mentionnées sur les commémoratifs associés aux prélèvements). Parmi ces 42 cas d'importation, 9 étaient originaires des pays du Maghreb (Tableau III).

Les chiroptères représentent toujours, en France métropolitaine, un risque de transmission de lyssavirus à l'homme. En 2019, le CNRR a diagnostiqué une chauve-souris positive sur le territoire français. Un lyssavirus appartenant à l'espèce *European bat 1 lyssavirus* (EBLV-1) de sous-type b a été identifié chez cette chauve-souris originaire de Crozon dans le Finistère.

A titre informatif et afin de présenter une vue plus exhaustive de la situation épidémiologique de la rage des chiroptères en France, nous signalons dans ce rapport que le Laboratoire de la Rage et de la Faune Sauvage de L'Anses à Nancy a également identifié 6 chauves-souris positives par l'intermédiaire du réseau de surveillance passive au cours de l'année 2019 (dont 4 prélèvements reçus en 2018); il s'agissait de 6 sérotines communes provenant respectivement de Lège-Cap-Ferret, Sainte-Hélène, Arzac et Saint-André-de-Cubzac en Gironde, de Morcenx dans les Landes, de Bizanos dans les Pyrénées-Atlantiques et de Lignières et Le Subdray dans le Cher (Source ANSES-Nancy).

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.

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 *Leida 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. (cf. chapitre 3.1.2.)

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 CCOMS Rage 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 activité 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.). Plus particulièrement des actions sont menées en collaboration avec les autorités marocaines et iraniennes ainsi qu'avec l'Institut Pasteur du Cambodge et l'Institut Pasteur de République Centrafricaine. Enfin, les membres du CNRR participent à un programme de recherche EDCTP (BlockRabies) coordonné par le Professeur Jakob Zinsstag (Swiss TPH, Basel, Suisse) visant à accroître la surveillance de la rage et l'accessibilité des populations humaines à la PPE au Mali et en Côte d'Ivoire par la mise en place d'un système de type « Block chain ». 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 de cas de rage en Europe et plus particulièrement en France.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

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

Pour plus de détails se reporter au chapitre 6.1.1.

(Parize P, Travecedo Robledo IC, Cervantes-Gonzalez M, et al. *Circumstances of Human-Bat interactions and risk of lyssavirus transmission in metropolitan France [published online ahead of print, 2020 Aug 8]. Zoonoses Public Health. 2020;10.1111/zph.12747*).

4 Alerte

Un cas chez une chauve-souris a été mis en évidence en 2019. Aucun cas humain n'a été confirmé à partir de patients français hospitalisés en France mais 6 cas humains ont été confirmés parmi 6 suspicions de rage chez des patients moldaves et congolais hospitalisés dans leur pays. La procédure d'alerte n'a pas changé et est décrite en Annexe 1.

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

5.1 Conseil et expertise auprès des professionnels de santé

Ces activités de conseils et de d'expertise prennent de nombreuses formes.

Le CNRR répond quotidiennement aux nombreuses demandes de renseignements et conseils émanant de personne 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. 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.

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 :

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

(Dacheux L, Parize P, Bourhy H. *Virus de la rage et Lyssavirus. In: Mourez T, Burrel S, Boutolleau D, Pillet S, editors. Traité de Virologie Médicale. Second ed. Société Française de Microbiologie (SFM); 2019. p. 639-654*)

Enfin, le CNRR organise périodiquement une journée d'information à destination des professionnels de santé des CAR. La 10e journée des Centres Antirabiques a été organisée le 28 novembre 2019 à L'Institut Pasteur. Cette journée a rassemblé 12 intervenants, des représentants de la Direction Générale de la Santé, de Santé publique France, du Haut Conseil de la Santé Publique, de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail, de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament, du Muséum national d'Histoire naturelle, du département des sciences vétérinaires au National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japon (Dr Satoshi Inoue) et 60 participants venant de 40 Centres Antirabiques. Les présentations ont abordé différentes thématiques incluant un point sur l'épidémiologie de la rage en France et dans le monde avec un focus sur la situation épidémiologique au Japon qui est très proche de la situation épidémiologique en Europe de l'Ouest, des présentations sur les actualités thérapeutiques PPE (schéma abrégé « Institut Pasteur du Cambodge ») et PrEP (schéma en 2 doses) et sur la problématique des falsifications de vaccins rage. Une présentation était consacrée au projet de recommandations en matière de PPE, du groupe de travail rage du Haut Comité de Santé Publique (HCSP). Ces recommandations, proposant une abstention de PPE après exposition à un animal domestique sur le territoire français hors Guyane, sont déjà intégrées dans l'algorithme décisionnel thérapeutique de nombreux CAR.

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://epidemiopasteur.fr/rage/vaccilab/> grâce au logiciel Voozoo 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 Voozoo 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 2018, il a été utilisé par 80% des CAR pour saisir leurs données. Les données 2019 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.

- Diplôme inter-universitaire (DIU) de Vaccinologie, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, France, 18 mars 2019. « Vaccination contre la rage » (L. Dacheux)

- Intervention "Les risques liés aux chiroptères - la rage" dans le cadre du Stage théorique d'initiation à la pratique de la capture des Chiroptères organisé par le Muséum National d'Histoire Naturelle, 25 - 26 mai 2019, Bruz (L. Dacheux)

- Master 2, Virologie moléculaire et pathogénèse, Université Paris-Diderot, France, 9 Octobre 2019 « Rhabdovirus » (H. Bourhy).

- Master Université de Paris – Sorbonne Université, Cours Pasteur Virologie fondamentale, 22 October 2019, « Rabies virus » (H. Bourhy)

- Master 2, MBPV « mécanismes moléculaires et cellulaires des interactions hôtes micro-organismes », Université Paris Sud, France, 29 Octobre 2019. « Physiopathologie de la rage » (H. Bourhy).

- Master SEMHA « Surveillance épidémiologiques des maladies humaines et animales ; CES Epidémiologie animale, Université de Montpellier-CIRAD, Montpellier, France, 20 Novembre 2019. « Le réseau d'épidémiosurveillance de la rage » (H. Bourhy)

- Diplôme inter-universitaire (DIU) dermatologie infectieuse et tropicale, Sorbonne Université, Paris, 29 Novembre 2019. « Conduite à tenir devant une morsure animale » (P. Parize)

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 2019 ont été les suivantes:

- Dr Mahamat ABA, Centre hospitalier d'Ajaccio, 28/01/2019
- Dr Christophe LONGUET, CAR de Lyon, 18/03/2019
- Dr Mathilde REVEILLON ISTIN, CH du Havre, 27/05/2019
- Dr Lucie KUHMELE, CAR de Paris, 23/08/19

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 2018 mis en ligne en août 2019). Ce site est actualisé environ 2 fois par an (dernière actualisation le 08 juillet 2020).

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 structure européenne 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-referenc/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

Le directeur du CNRR est aussi directeur du 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. 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 situé 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>). 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. Sept suspicions en provenance de Moldavie et de la République Démocratique du Congo, ont été reçues dans ce cadre en 2019. Enfin, le CNRR contribue, en liaison avec le CCOMS Rage à la surveillance et au contrôle de la rage 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 actions 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.

Enseignements internationaux

En collaboration avec le CCOMS Rage, le CNRR, a organisé avec l'OMS, l'Université de Lausanne, Suisse, la fondation HSET, le réseau international des instituts Pasteur, l'Institut Pasteur du Maroc et l'OIE et avec la participation active de la FAO et de l'Alliance mondiale pour la lutte contre la rage (GARC) la 5^{ème} édition de l'atelier sur la surveillance et le contrôle de la rage, une formation en ligne personnalisée (COLT), qui s'est tenue à Casablanca, au Maroc, du 17 au 28 septembre 2019. Le cours a souligné la nécessité d'une approche multidisciplinaire et d'une coopération intersectorielle. Plusieurs objectifs majeurs abordant des questions critiques de la situation actuelle de la rage dans les pays en développement et en particulier en Afrique du Nord et en Afrique de l'Ouest ont été ciblés lors de cette session.

D'autres formations plus courtes ont aussi été assurées en Afrique et en Asie :

- CAZCOM-Workshop on rabies diagnosis organized with l'Institut de Recherche et du Développement (IRD), Harare, Zimbabwe, December 17-20, 2019 (Laurent Dacheux).

- Workshop "Towards rabies elimination 2030: a Lao PDR-Swiss initiative" organized with the Swiss TPH, Vientiane, Laos, February 19-22, 2019 (Laurent Dacheux).

- Workshop organized with the African Centers of Excellence in Neglected Tropical Diseases and Forensic Biotechnology, Zaria, Nigeria, April 1-5, 2019 (Laurent Dacheux).

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. Cependant aucune activité de ce type n'a été enregistrée en 2019.

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 au sein de l'Unité LyEN 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 facteurs de 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 10⁶ 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 être mise à profit pour 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 a été publié dans *Zoonoses and Public Health* en 2020.

(Parize P, Travecedo Robledo IC, Cervantes-Gonzalez M, et al. *Circumstances of Human-Bat interactions and risk of lyssavirus transmission in metropolitan France [published online ahead of print, 2020 Aug 8]. Zoonoses Public Health. 2020;10.1111/zph.12747.*)

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

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. Cette étude montre que le partage des habitats et

le mouvement des animaux apparaissent comme des facteurs clés dans la diffusion du virus EBLV-1 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. L'ensemble de ces travaux 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.

(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)

6.1.3 Etude des facteurs génétiques et épidémiologiques associés au franchissement de la barrière d'espèce et à la dispersion du virus rabique dans les écosystèmes

Selon le rapport de consultation d'experts de l'OMS (TRS 1012), une question clé en épidémiologie de la rage est l'identification des facteurs qui influent sur la dispersion du virus. En collaboration avec des collègues de la KU Leuven, le CNRR avec l'aide de l'Unité LyEN a continué d'appliquer de nouvelles méthodes analytiques, basées sur des reconstructions phylogéographiques du mouvement des lignées virales, pour entreprendre une étude comparative de la dynamique spatiale des épidémies de RABV en différents hôtes et habitats. La rage transmise par les chiens étant responsable de plus de 98% des cas humains dans le monde, nous nous sommes surtout intéressés à la dynamique d'infection dans les populations canines.

Les membres du CNRR ont récemment effectué des inférences phylogéographiques et appliqué différentes approches post-hoc pour analyser un nouvel ensemble de données sur des génomes viraux complets afin d'élucider l'histoire et la dynamique de dispersion du RABV en Iran, jusqu'à présent largement inconnues dans cette région. L'analyse s'est faite en 2 étapes. Nous appliquons d'abord une méthodologie déjà introduite pour analyser l'association entre les facteurs environnementaux et les variations de la vitesse de dispersion des lignées. Enfin, nous présentons, testons et appliquons une nouvelle approche pour étudier le lien entre les conditions environnementales et la direction de dispersion des lignées. Les performances statistiques (puissance de détection, taux de faux positifs) de cette nouvelle méthode ont été évaluées en analysant des ensembles de données simulés selon des scénarios de contrôle. Les analyses phylogéographiques des génomes du RABV nous ont permis de décrire la grande diversité du RABV en Iran, confirmant ainsi que plusieurs clades co-circulent dans le pays. La vitesse estimée de dispersion des lignées est relativement élevée, ce qui est similaire aux estimations précédentes obtenues dans le cas de la propagation du virus de la rage canine en Afrique du Nord. Enfin, nous soulignons également une forte tendance du RABV à se diffuser dans les zones accessibles associées à une forte densité de population humaine. Ce travail analytique illustre l'intérêt de telles approches phylogéographiques pour étudier l'impact des facteurs environnementaux sur la dynamique de dispersion des maladies virales / zoonotiques.

(Dellicour S, Troupin C, Jahanbakhsh F, Salama A, Massoudi S, Moghaddam MK, Baele G, Lemey P, Gholami A, Bourhy H. Using phylogeographic approaches to analyse the dispersal history, velocity and direction of viral lineages - Application to rabies virus spread in Iran. *Mol Ecol* 2019 Sep;28(18):4335-4350.doi:10.1111/mec.15222)

Le virus rabique s'est adapté à de nombreuses espèces de carnivores, et de nouveaux cycles épidémiologiques apparaissent régulièrement sans qu'on connaisse les modalités de survenue de ces changements d'espèce hôte primaire. Or, le développement du séquençage du génome à haut débit permet des mesures précises des niveaux de diversité génétique virale intra-hôte et l'analyse du rôle joué par la sélection naturelle lors de la transmission inter-espèces. Ainsi, nous avons (i) analysé l'évolution du RABV durant un changement d'hôte expérimental dans le but d'identifier d'éventuels marqueurs génétiques de l'adaptation de l'hôte, (ii) comparé les changements mutationnels observés lors des passages expérimentaux à ceux observés *in natura*, et (iii) déterminé si la colonisation de nouveaux hôtes ou tissus nécessite une évolution adaptative du virus. Pour atteindre ces objectifs, des modèles d'infection animale (chien et renard) et des modèles de culture cellulaire primaire (cellules cérébrales embryonnaires de chien et de renard) ont été développés et les variations génétiques induites ont été analysées en détail par séquençage profond du génome. Notre analyse a révélé un fort effet évolutif unidirectionnel de l'hôte, car le virus de la rage adapté au chien était capable d'infecter avec efficacité le renard et de se multiplier relativement facilement dans ses cellules, tandis que les chiens ou les cellules neuronales de chien n'étaient pas facilement sensibles au RABV adapté au renard. Ceci suggère que le RABV adapté au chien peut être capable de s'adapter à certains hôtes plus facilement que d'autres variantes génétiques et que lorsque le RABV est adapté au renard roux, il a perdu sa capacité à se propager facilement chez le chien. Aucune différence notable dans la composition des mutations n'a été observée entre les différents organes d'un même hôte. Quelques mutations apparaissent spécifiques d'un type de passage et certaines d'entre elles sont également observées dans la nature. Ces travaux suggèrent que le franchissement de la barrière d'espèce résulte d'un processus complexe et multifactoriel dont la composante évolutive est confirmée.

(Comparison of intra- and inter-host genetic diversity in rabies virus during experimental cross-species transmission. Bonnaud EM, Troupin C, Dacheux L, Holmes EC, Monchatre-Leroy E, Tanguy M, Bouchier C, Cliquet F, Barrat J, Bourhy H. *PLoS Pathog*. 2019 Jun 20;15(6):e1007799. PMID:31220188)

La vaccination de masse des chiens est la mesure de choix pour lutter contre la rage en particulier dans les pays en zone d'enzootie. Cependant la mise en œuvre de ces campagnes se trouve confrontée à des problèmes d'efficacité. La vaccination de masse cible principalement les grandes villes, compromettant ainsi souvent la lutte en raison des réintroductions fréquentes. Des travaux antérieurs suggéraient que les zones voisines des villes pourraient se comporter comme la source de ces réintroductions. Pour évaluer cette hypothèse, nous avons introduit un modèle de métapopulation spatialement explicite pour la diffusion de la rage en République Centrafricaine tenant compte de la fragmentation spatiale naturelle des populations canines. Calibré sur les données épidémiologiques de la capitale, Bangui, le modèle prédit que les mouvements à longue distance sont essentiels pour les réintroductions continues de cas de rage. Enfin, les grandes fluctuations de la période d'incubation

chez le chien facilitent la persistance et la diffusion de RABV. Nos résultats suggèrent que la restriction des déplacements de chiens sur de longues distances (probablement en voiture) peut être très efficace pour limiter la persistance / réintroduction de la rage dans une population canine importante et dont la structure est fragmentée. Ce cadre peut être appliqué à d'autres contextes géographiques où la rage canine est endémique

(Colombi D, Poletto C, Nakouné E, Bourhy H, Colizza V. Long-range movements coupled with heterogeneous incubation period sustain dog rabies at the national scale in Africa. *PLoS Negl Trop Dis*, 2020 May 26;14(5):e0008317. doi: 10.1371/journal.pntd.0008317)

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

Le CNRR 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^{er} 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 2019 et un article devrait être prochainement soumis pour publication.

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

Les autorités sanitaires internationales soutiennent un effort visant à éliminer la rage d'origine canine chez l'homme d'ici 2030. Cela nécessitera d'améliorer l'accès à une prophylaxie antirabique

post-exposition (PPE) adéquate, car le respect des schémas thérapeutiques précédemment recommandés par l'OMS est faible (4 à 5 visites sur une période d'un mois). L'accès pourrait être considérablement amélioré par un régime abrégé pour réduire les doses, les coûts directs et indirects et améliorer l'équité de l'accès aux vaccins par un meilleur partage et une utilisation plus raisonnée des vaccins disponibles. Dans cet objectif, le CNRR en lien avec le CCOMS Rage et l'Institut Pasteur du Cambodge a évalué l'efficacité d'un schéma de PPE intradermique abrégé d'une semaine. Ces travaux montrent que la PEP contre la rage peut être abrégée en un schéma par voie intradermique «IPC» à deux doses, trois séances, une semaine (J0, J3, J7). Cette étude a complété une étude rétrospective publiée par la même équipe dans *Vaccine* en 2018. 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.

(Tineke Cantaert, Laurence Borand, Lauriane Kergoat, Chanthly Leng, Sivlin Ung, Sotheary, Yiksing Peng, M.D.; Chandara Phoeun, R.N.; Chanthly Hing, R.N.; Chun Navy Taing, M.D.; Manil Saman, M.D.; Sivuth Ong, M.D.; Channa Mey, M.D.; Rithy Choeung, PharmD.; Sowath Ly, Ph.D.; Philippe Dussart, Ph.D.; Hervé Bourhy*, Ph.D.; Arnaud Tarantola*, Ph.D. *an observational cohort study on a one-week intradermal dose-sparing regimen for rabies post-exposure prophylaxis (resist-2)*, *Lancet Infectious Diseases*, 2019 Dec;19(12):1355-1362. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30311-1)

6.2 Liste des publications et communications

Publications nationales

- [Rabies]. Parize P, Dacheux L, Bourhy H. *Rev Prat*. 2019 Apr;69(4):423-428.
- Dacheux L, Parize P, Bourhy H. Virus de la rage et *Lyssavirus*. In: Mourez T, Burrel S, Boutolleau D, Pillet S, editors. *Traité de Virologie Médicale*. Second ed. Société Française de Microbiologie (SFM); 2019. p. 639-654.
- Parize P, Dacheux L, Bourhy H. Rage humaine. EMC - Maladies infectieuses. *In press*.

Publications internationales

- Hossain MA, Larrous F, Rawlinson SM, Zhan J, Sethi A, Ibrahim Y, Aloï M, Lieu KG, Mok YF, Griffin MDW, Ito N, Ose T, Bourhy H, Moseley GW, Gooley PR. Structural Elucidation of Viral Antagonism of Innate Immunity at the STAT1 Interface. *Cell Rep*. 2019 Nov 12;29(7):1934-1945.e8. doi: 10.1016/j.celrep.2019.10.020. PMID: 31722208.
- Parize P, Dacheux L, Bourhy H. Rage [Rabies]. *Rev Prat*. 2019 Apr;69(4):423-428. French. PMID: 31626500.
- Cantaert T, Borand L, Kergoat L, Leng C, Ung S, In S, Peng Y, Phoeun C, Hing C, Taing CN, Saman M, Ong S, Mey C, Choeung R, Ly S, Dussart P, Bourhy H, Tarantola A. A 1-week intradermal dose-sparing regimen for rabies post-exposure prophylaxis (RESIST-2): an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2019 Dec;19(12):1355-1362. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30311-1. Epub 2019 Sep 27. PMID: 31570311.
- Dellicour S, Troupin C, Jahanbakhsh F, Salama A, Massoudi S, Moghaddam MK, Baele G, Lemey P, Gholami A, Bourhy H. Using phylogeographic approaches to analyse the dispersal history, velocity and direction of viral lineages - Application to rabies virus spread in Iran. *Mol Ecol*. 2019 Sep;28(18):4335-4350. doi: 10.1111/mec.15222. Epub 2019 Sep 18. PMID: 31535448.
- Sonthonnax F, Besson B, Bonnaud E, Jouvion G, Merino D, Larrous F, Bourhy H. Lyssavirus matrix protein cooperates with phosphoprotein to modulate the Jak-Stat pathway. *Sci Rep*. 2019 Aug 21;9(1):12171. doi: 10.1038/s41598-019-48507-4. PMID: 31434934; PMCID: PMC6704159.
- Dacheux L, Dommergues L, Chouanibou Y, Doméon L, Schuler C, Bonas S, Luo D, Maufrais C, Cetre-Sossah C, Cardinale E, Bourhy H, Métras R. Co-circulation and characterization of novel African arboviruses (genus Ephemerovirus) in cattle, Mayotte island, Indian Ocean, 2017. *Transbound Emerg*

- Dis. 2019 Nov;66(6):2601-2604. doi: 10.1111/tbed.13323. Epub 2019 Aug 27. PMID: 31390479; PMCID: PMC6899740.
- Bonnaud EM, Troupin C, Dacheux L, Holmes EC, Monchatre-Leroy E, Tanguy M, Bouchier C, Cliquet F, Barrat J, Bourhy H. Comparison of intra- and inter-host genetic diversity in rabies virus during experimental cross-species transmission. PLoS Pathog. 2019 Jun 20;15(6):e1007799. doi: 10.1371/journal.ppat.1007799. PMID: 31220188; PMCID: PMC6615636.
 - Besson B, Kim S, Kim T, Ko Y, Lee S, Larrous F, Song J, Shum D, Grailhe R, Bourhy H. Kinome-Wide RNA Interference Screening Identifies Mitogen-Activated Protein Kinases and Phosphatidylinositol Metabolism as Key Factors for Rabies Virus Infection. mSphere. 2019 May 22;4(3):e00047-19. doi: 10.1128/mSphere.00047-19. PMID: 31118297; PMCID: PMC6531879.
 - De Benedictis P, Bourhy H, Echevarría JE, Fooks AR, Freuling C, Serra-Cobo J, Müller T. Comments to "Detection and phylogenetic characterization of astroviruses in insectivorous bats from Central-Southern Italy". Zoonoses Public Health. 2019 Jun;66(4):355-358. doi: 10.1111/zph.12556. PMID: 31050204.
 - Taylor E, Banyard AC, Bourhy H, Cliquet F, Ertl H, Fehlner-Gardiner C, Horton DL, Mani RS, Müller T, Rupprecht CE, Schnell MJ, Del Rio Vilas V, Fooks AR. Avoiding preventable deaths: The scourge of counterfeit rabies vaccines. Vaccine. 2019 Apr 17;37(17):2285-2287. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.03.037. Epub 2019 Mar 25. PMID: 30922698.
 - 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; PMCID: PMC6345892.
 - Cauchemez S, Bourhy H. Improving the provision of rabies post-exposure prophylaxis. Lancet Infect Dis. 2019 Jan;19(1):12-13. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30606-6. Epub 2018 Nov 21. PMID: 30472177.
 - 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. 2019 Oct 3;37 Suppl 1:A118-A127. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.10.054. Epub 2018 Nov 16. 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.

Conférences nationales sur invitation

- "Vaccination antirabique chez le voyageur". Journées de printemps de la Société de Médecine du Voyage, Paris, 29 mars 2019 (P Parize)

Conférences Internationales sur invitation

- "Diagnostic tools for the surveillance of rabies". Workshop "Towards rabies elimination 2030 : a Lao PDR-Swiss initiative", Vientiane, Laos, 21 February 2019 (L Dacheux).
- "Rabies laboratory surveillance and diagnostic experiences in humans and animals". 6th International Conference on Rabies in West Africa (RIWA), Abuja, Nigeria, 19-24 August 2019 (L. Dacheux).
- "Theoretical hands-on training on rabies diagnostic techniques". 6th International Conference on Rabies in West Africa (RIWA), Abuja, Nigeria, 19-24 August 2019 (L. Dacheux).
- Rabies pre-exposure and post exposure prophylaxis in humans: an update". Rabies workshop "Rabies Surveillance and Control" organized by the African Centres of Excellence in Neglected Tropical Diseases and Forensic Biotechnology, Zaria, Nigeria, 4 April 2019 (L. Dacheux).
- "Rabies laboratory surveillance and diagnostic experiences in humans and animals". Rabies workshop "Rabies Surveillance and Control" organized by the African Centres of Excellence in Neglected Tropical Diseases and Forensic Biotechnology, Zaria, Nigeria, 4 April 2019 (L. Dacheux).
- "Working on rabies in the Mediterranean". OIE meeting "One Health for the Mediterranean Region in the Age of Big Data" Cagliari, Sardinia, Italy, 30 September – 2 October 2019 (L. Dacheux).

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale

Le CNRR a 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

Un accord de collaboration entre le CNRR et l'Anses-Nancy a été mis en place pour assurer la continuité du diagnostic de la rage animale lors des entretiens respectifs de leur P3. En 2019, aucun échange de prélèvements animaux n'a eu à être entrepris.

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

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 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 commun en 2019 (cf. Chapitre 6.1.3)

(Comparison of intra- and inter-host genetic diversity in rabies virus during experimental cross-species transmission. Bonnaud EM, Troupin C, Dacheux L, Holmes EC, Monchatre-Leroy E, Tanguy M, Bouchier C, Cliquet F, Barrat J, Bourhy H. PLoS Pathog. 2019 Jun 20;15(6):e1007799. PMID:31220188)

8 Programme d'activité pour la période 2019-2020

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 2020-2021, le CNRR maintiendra son expertise technique dans le domaine du diagnostic de la rage humaine et animale en France. 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 2020-2021 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. Il poursuivra son engagement dans la démarche d'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 *intra-vitam* et *post-mortem* de la rage humaine (techniques FAT, RTCIT, RT-PCR en temps réel et RFFIT).

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 2020-2021 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) 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 2020 et 2021 ses fonctions de conseils dans le cadre des saisines éventuelles 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-referance/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 2020 et 2021, 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 2020-2021 à élaborer en concertation avec la DGS un modèle de formation initiale et continue, en ligne, sur la prophylaxie de la rage humaine en France à destination des personnels de santé des CAR.

Enfin, la 11eme journée des CAR sera organisée en 2021 par le CNRR.

8.5 Activités de recherche en lien avec le CNRR

Le CNRR poursuivra en 2020-2021 les thématiques de recherche décrites dans le Chapitre 6.1 (Travaux de recherche).

Annexe 1 : Missions et organisation du CNRR

1. Rappel des missions et objectifs majeurs du CNRR

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^{er} 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^{er} 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 <i>(Nombre de postes)</i>	3	1	3	0	1
Dont pour le. CNR (en Equivalent Temps Plein ETP estimés)	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 LyEN qui héberge le CNRR.

3.1. Locaux

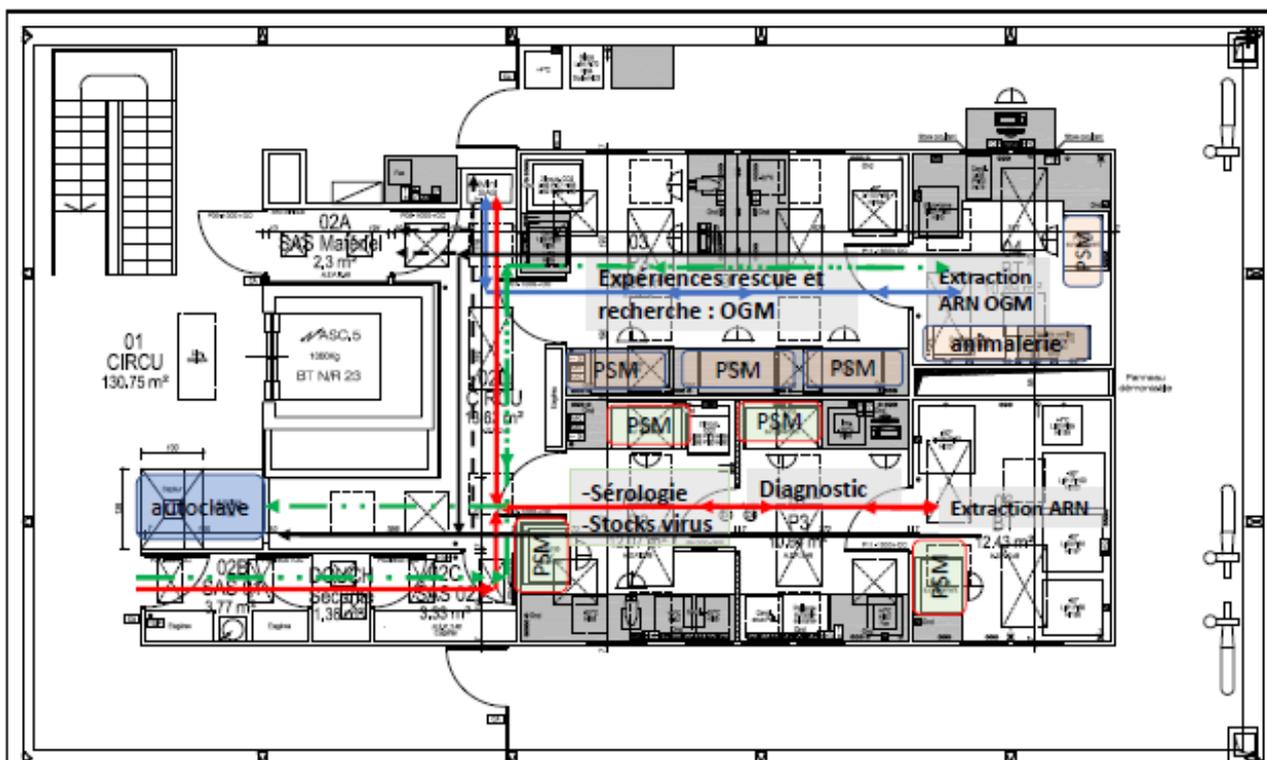
Le CNRR est hébergé à l'Institut Pasteur, 28 rue du Docteur, Roux, 75724 Paris cedex 15, au sein du bâtiment Lwoff, à l'exception du laboratoire P3 situé dans le bâtiment Nocard.

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



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 CO₂
- 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 rage 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 2019, 7 souches de virus rabique (correspondant aux différents cas positifs diagnostiqués) ont été incorporées à la collection du CNRR.

Total 2019 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) : 1702

Total 2019 des autres produits biologiques du CNR, reçus dans le cadre d'une demande de diagnostic de la rage chez l'homme : 1362

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

Les 2 autres CNR ont déposé leur demande d'extension le 1^{er} 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 2019 du CNR s'est organisée comme suit :

Etapes clés LRE-MS	Périodes de réalisation
Audit interne de surveillance qualité et technique	23 novembre 2019
Audit COFRAC 17025	13 février 2019

Perspectives 2020 :

Etapes clés	Prévision de réalisation
Audit COFRAC 17025	8-9 juin 2020
Revue qualité LRE	13 mars 2020
Audit interne de surveillance qualité et technique	21 octobre 2020

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 février 2019 et a permis de maintenir cette accréditation. En 2019, 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 2019 des essais en sérologie antirabique pour les techniques ELISA et RFFIT avec le Laboratoire de sérologie rabique de l'Université

de l'Etat du Kansas aux USA, (analyse de 11 échantillons de sérum anonymisés). Il a également participé à l'essai inter-laboratoire organisé tous les deux ans par l'Anses-Nancy pour les techniques FAT, RTCIT et RT-PCR (panel de 10 échantillons de cerveaux anonymisés). Les résultats des différentes techniques évaluées se sont **tous révélés conformes**.

Les dossiers de validation de la technique de détection moléculaire des ARN de lyssavirus par RT-qPCR et de la technique de séroneutralisation (RFFIT) ont été acceptés par le COFRAC et l'accréditation de ces techniques a été obtenu 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 2019 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) 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 CNRR

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),

Dans le cas de prélèvements animaux pour lesquels il est impossible d'appliquer les deux 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 les virus Bokeloh bat lyssavirus et Lleida bat lyssavirus récemment identifiés, ainsi que le virus European bat lyssavirus 1).

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) (PlateliaTM 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/r_mt_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 DGAI/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 2018.

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 :

Les souches, le matériel biologique ou toutes autres informations fournies au CNR par un laboratoire de biologie médicale ainsi que les résultats des travaux effectués par le CNR sont strictement confidentiels. Cette disposition de confidentialité ne préjuge pas de l'obligation de communication faite aux CNR, en application de dispositions réglementaires, des résultats aux autorités réglementaires compétentes, conformément à leurs missions. Les renseignements cliniques et épidémiologiques étant indispensables pour accomplir l'expertise et la prestation de conseil qui leur est demandée, chaque CNR tient des fiches de renseignements à la disposition de tous leurs correspondants pour accompagner l'envoi des échantillons ou pour récupérer ces renseignements sans transmission d'échantillon. Les CNR ne sont pas en contact direct avec les patients ayant fait l'objet de prélèvements biologiques dans les laboratoires de biologie médicale, publics ou privés. Dans la suite d'un prélèvement biologique effectué dans un laboratoire de biologie médicale, des données médicales et administratives ont été recueillies et transmises à un Centre National de Référence (CNR) de l'Institut Pasteur dans le cadre des missions qui lui ont été confiées par les autorités de santé (arrêté du 7 mars 2017) dans le cadre de la lutte contre les maladies transmissibles. Ces données médicales et administratives font l'objet d'un traitement de données à caractère personnel dans le respect des dispositions du règlement (UE) n° 2016/679 relatif à la protection des données personnelles (RGPD) et de la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 dite « Loi Informatique et Libertés » modifiée. Par ailleurs, le CNR est rattaché à une unité de recherche qui mène des activités de recherche et d'expertise en santé publique. Ces recherches peuvent nécessiter une réutilisation des échantillons biologiques et des données personnelles des patients. Ces utilisations secondaires en recherche sont possibles et encadrées par le Code de la Santé Publique, la Loi relative à l'Informatique et aux Libertés, et le Règlement Général européen pour la protection des données (RGPD). Ces recherches ont obtenu préalablement à leur réalisation un avis favorable d'un Comité de Protection des Personnes ainsi qu'une autorisation de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés.

Les patients concernés disposent de droits relatifs à l'utilisation de leurs échantillons biologiques et de leurs données personnelles et peuvent, à tout moment et sans limitation de temps, s'opposer à ces utilisations secondaires.

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

Figure 8: Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2002.

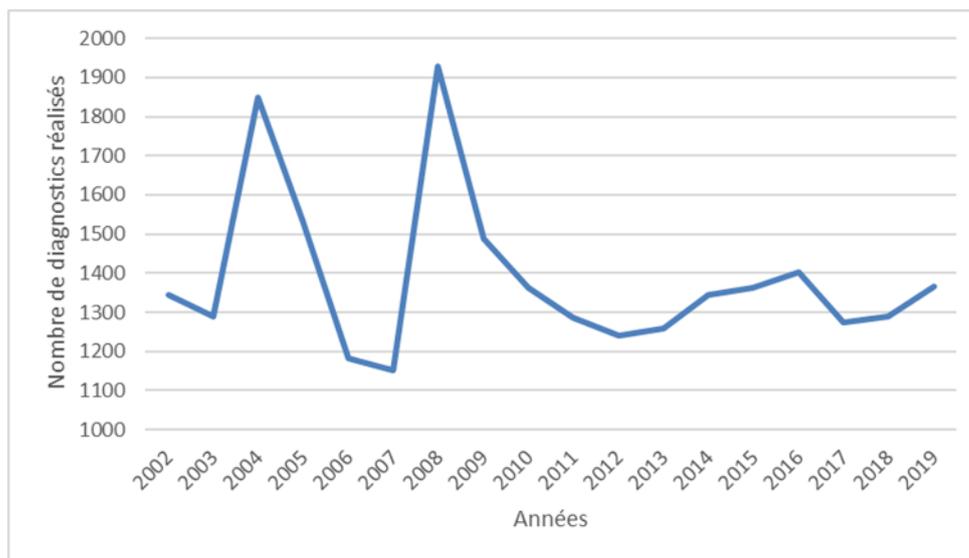


Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2019.
(Tous ces animaux proviennent de France métropolitaine)

ESPECE	NOMBRE RECU	POSITIF	ANNULE
ANIMAUX DOMESTIQUES			
CHAT	639		
CHIEN	654		
FURET	4		
BOVIN	2		
EQUIN (poney)	1		
CAPRIN (chèvre)	2		
ANIMAUX SAUVAGES			
FOUINE	5		
RENARD	19		
BLAIREAU	1		
SANGLIER	1		
SINGE	3		
LOUTRE	1		
INSECTIVORES			
CHAUVE-SOURIS	25	1	
HERISSON	2		
RONGEURS et LAGOMORPHES			
ECUREUIL	2		
LAPIN	2		
RAT	1		
HAMSTER	1		
TOTAL	1 365	1	

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

DEPARTEMENTS		ANIMAUX DOMESTIQUES			ANIMAUX SAUVAGES		
		NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS
01	AIN	36					
02	AISNE	18					
03	ALLIER	13					
04	ALPES DE HAUTE PROVENCE	3					
05	HAUTES-ALPES	13					
06	ALPES-MARITIMES	11					
07	ARDECHE*	5					
08	ARDENNES	11					
09	ARIEGE	3					
10	AUBE	9			1		
11	AUDE	12					
12	AVEYRON	3					
13	BOUCHES-DU-RHONE	22					
14	CALVADOS	4			1		
15	CANTAL	2					
16	CHARENTE	8					
17	CHARENTE MARITIME	10					
18	CHER	9			1		
19	CORREZE	4					
20	CORSE	0					
21	COTES D'OR	19					
22	COTES D'ARMOR	21					
23	CREUSE	1					
24	DORDOGNE	13					
25	DOUBS	4					
26	DROME	11			1		
27	EURE	12					
28	EURE & LOIR	3					
29	FINISTERE	26					
30	GARD	8					
31	HAUTE-GARONNE	18			2		
32	GERS	4					
33	GIRONDE	29					
34	HERAULT	32					
35	ILLE & VILAINE	28			1		
36	INDRE	7					
37	INDRE & LOIRE	15					
38	ISERE	21					
39	JURA	9					
40	LANDES	8					
41	LOIR & CHER*	12					
42	LOIRE	19			1		
43	HAUTE-LOIRE	7					
44	LOIRE ATLANTIQUE	19			5		

* 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	11			1		
46	LOT	3			2		
47	LOT & GARONNE*	15					
48	LOZERE	8					
49	MAINE & LOIRE	15					
50	MANCHE	7					
51	MARNE	7			1		
52	HAUTE-MARNE	2					
53	MAYENNE	13					
54	MEURTHE-ET-MOSELLE	10					
55	MEUSE	9			1		
56	MORBIHAN	25					1
57	MOSELLE	19					
58	NIEVRE	3					
59	NORD	36					
60	OISE*	20			1		
61	ORNE	8					
62	PAS-DE-CALAIS	6					
63	PUY-DE-DOME	10					
64	PYRENEES ATLANTIQUES	15			2		
65	HAUTES PYRENNES*	5			1		
66	PYRENEES ORIENTALES	11					
67	BAS-RHIN	26					
68	HAUT-RHIN	41			2		
69	RHONE	33			4		
70	HAUTE-SAONE	8			1		
71	SAONE & LOIRE	30					
72	SARTHE	2					
73	SAVOIE	13			1		
74	HAUTE-SAVOIE	18			1		
76	SEINE-MARITIME	18			1		
79	DEUX-SEVRES	5					
80	SOMME	8					
81	TARN	5			1		
82	TARN & GARONNE	9					
83	VAR	11					
84	VAUCLUSE	12			1		
85	VENDEE	10					
86	VIENNE*	7					
87	HAUTE-VIENNE	15					
88	VOSGES	8					
89	YONNE	9			1		
90	TERRITOIRE DE BELFORT	1					
	REGION PARISIENNE :						
75	PARIS	16					
77	SEINE & MARNE	35			1		
78	YVELINES	24					
91	ESSONNES	25			1		
92	HAUTS DE SEINE	22					
93	SEINE ST-DENIS	32					
94	VAL DE MARNE	31			3		
95	VAL D'OISE	22					
TOTAL		1 296	0	0	40		1

* 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.