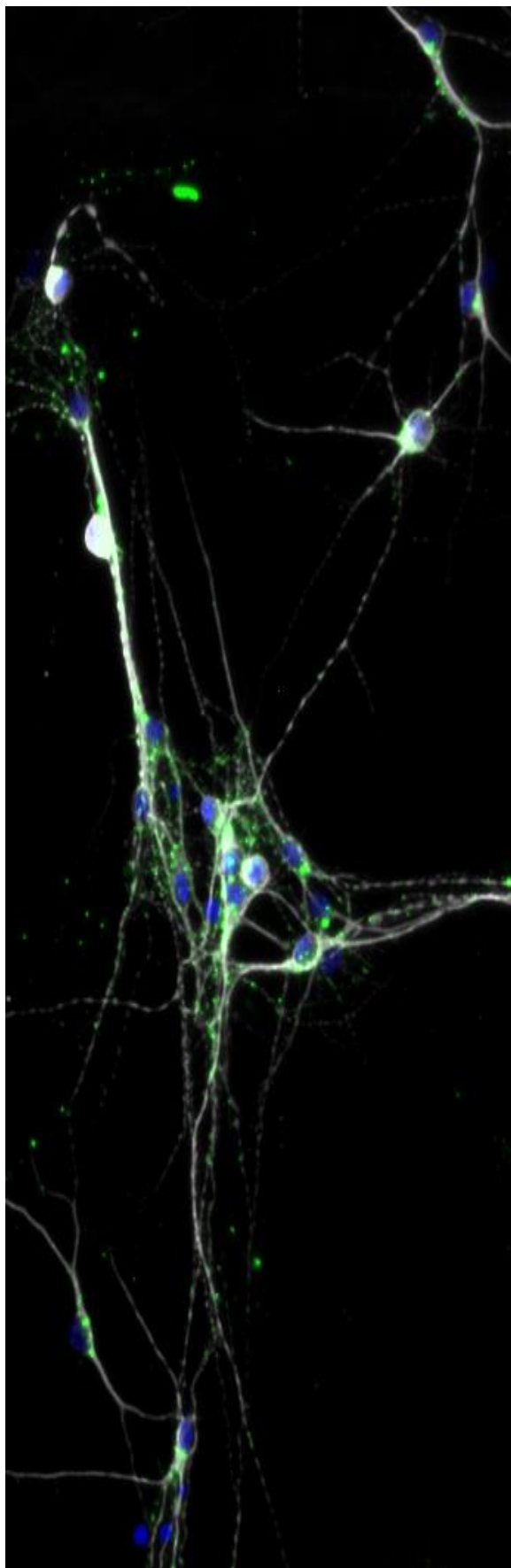




Centre National de Référence de la Rage

Rapport annuel d'activité Année 2016

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

Unité "Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte"
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, et particulièrement le docteur Philippe POUJOL, responsable du Centre Antirabique au Centre Médical de l'Institut Pasteur pour sa collaboration et la fréquence et qualité des échanges d'expertise et discussions sur le thème de la prophylaxie de la rage.

Enfin, les cadres du Centre National de Référence de la Rage sont particulièrement reconnaissants envers l'ensemble du personnel de l'Unité Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'hôte 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 et d'établir ce rapport.

Table des matières

Résumé analytique de l'activité du Centre National de Référence de la Rage (CNRR)	1
1 Missions et organisation du CNR de la Rage (CNRR)	5
2 Activité d'expertise	5
2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2016	5
2.2 Activités d'expertise de l'année 2016 : Diagnostic de la rage en France	5
2.2.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine	5
2.2.2 Chez l'homme	9
2.2.3 Analyses sérologiques	10
2.2.4 Distribution de souches, prélèvements et sérums de référence	11
3 Activités de surveillance	11
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	11
3.1.1 Description des circuits de surveillance et analyses épidémiologiques	11
3.1.1.1 Circuit humain	12
3.1.1.1.1 Suspensions de rage humaine	12
3.1.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine	14
3.1.1.2 Circuit animal	17
3.1.2 Conclusions	19
3.1.2.1 Surveillance de la rage animale en France	19
3.1.2.2 Prophylaxie de la rage humaine en France	19
3.2 Participation aux réseaux de surveillance	20
3.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	20
3.3.1 Evaluation du risque résiduel de rage chez les animaux domestiques en Europe de l'Ouest en rapport avec les mouvements d'animaux depuis les pays endémiques... ..	20
3.3.2 Développement et validation d'une technique de détection des ARN viraux par RT-qPCR pour le diagnostic intra-vitam et post-mortem de la rage.	20
3.3.3 Validation d'un test de diagnostic rapide de la rage applicable en conditions de terrain dans les pays en voie de développement	21
3.3.4 Analyse des propriétés des tests diagnostiques en fonction de la situation épidémiologique	21
4 Alerte	22
4.1 Procédure d'alerte de SPF et de la DGS	22
4.2 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux	22
5 Activités d'informations, de formation et de conseil	23
5.1 Diffusion des résultats animaux	23

5.2	Diffusion des résultats humains	23
5.3	Centralisation et diffusion des données sur la prophylaxie de la rage chez l'homme.	24
5.4	Activités de conseil aux professionnels.....	24
5.5	Activités d'expertise auprès du ministère chargé de la santé, de Santé Publique France, des agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité en Santé, de structures européennes ou internationale.....	25
5.5.1	Actions au niveau national	25
5.5.2	Actions au niveau international	25
5.6	Enseignements	26
5.6.1	Cours, formations, évaluations.....	26
5.6.2	Formation d'étudiants étrangers ou de personnel	26
5.6.3	Stagiaires.....	26
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNRR	28
6.1	Activités de recherche en cours	28
6.1.1	Recherches sur l'épidémiologie et la physiopathogénie des lyssavirus de chauves-souris.....	28
6.1.2	La rage des chauves-souris et implication en santé publique	28
6.1.3	Analyse de la dynamique micro-spatiale de la rage au niveau d'un centre urbain africain29	
6.1.4	Développement d'un cocktail d'anticorps monoclonaux humains à large spectre pour la prophylaxie post-exposition antirabique.	30
6.1.5	Etude des facteurs associés à une réponse anticorps inadéquate après une vaccination antirabique en préexposition chez des professionnels exposés.	30
6.2	Liste des publications et communications	31
	Publications internationales	31
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale	32
8	Programme d'activité pour la période 2017-2018.....	33
8.1	Du diagnostic au rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial de la surveillance de la rage	33
8.2	Diagnostic de la rage en France: Rapidité, Fiabilité et Qualité.....	33
8.3	Contribution à la surveillance et rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial.....	34
8.4	Conseil	34
8.4.1	Mesures générales.....	34
8.4.2	Surveillance épidémiologique des pratiques de prophylaxie post-exposition en France 35	
8.4.3	Cas particulier de la prévention de la rage chez les chiroptérologues	35

8.4.4	Coordination entre le CNRR et les CAR	35
8.4.5	Atelier sur la rage, Téhéran, Iran	36
8.5	Activités de recherche en lien avec le CNRR.....	36

Annexe 1 : Missions et organisation du CNR.....37

1.	Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR	37
2.	Effectif et Qualification du personnel du CNRR	38
2.1.	Organigramme général.....	38
2.2.	Effectif par catégorie de fonction.....	39
2.3.	Personnel technique	39
2.4.	Personnel cadre.....	39
3.	Locaux et équipements du CNRR.....	39
3.1.	Locaux.....	39
3.2.	Matériel et équipement actuels de la structure	41
4.	Démarche Qualité au sein du CNRR.....	41

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....43

1.	Liste des techniques de référence	43
1.1.	Techniques de diagnostic post-mortem de rage (animale et humaine)	43
1.2.	Techniques de diagnostic intra-vitam de la rage humaine	43
1.3.	Typage des isolats.....	43
2.	Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles	44
2.1.	Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine	44
2.2.	Banque de données N°2 : Suspensions de rage humaine et suivi sérologique	45
2.3.	Banque de données N°3 : Consultations et traitements antirabiques	45
2.4.	Aspects réglementaires et légaux	46
3.	Collections de souches, prélèvements et sérums de référence.....	46
3.1.	Descriptions et conditions de stockage	46
3.2.	Conditions de mise à disposition de ces collections	47
4.	Liste des techniques recommandées par le CNRR.....	49

Annexe 3.....51

Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2016.51

**Tableau Alll: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine
reçus au CNRR en 2016.....52**

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau I:	Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2016	Page 7
Tableau II:	Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2016	Page 7
Tableau III:	Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2016 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental	Page 8
Tableau IV:	Résultats des prélèvements en provenance directe de l'étranger reçus en 2016	Page 9
Tableau V:	Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2016 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques	Page 10
Tableau VI:	Cas humains de rage recensés en France depuis 1970	Page 15
Tableau AI:	Effectif par catégorie de fonctions	Page 40
Tableau AII:	Nombre de prélèvements par espèce reçu au CNRR en 2016	Page 53
Tableau AIII:	Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2016	Page 54/55

Liste des figures

Figure 1:	Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2002	Page 6
Figure 2:	Description des circuits de surveillance de la rage en France	Page 12
Figure 3 :	Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France	Page 13
Figure 4 :	Evolution du nombre de traitements et de consultants en post-exposition de 2003 à 2013	Page 17
Figure 5 :	Evolution du nombre de traitements antirabiques chez les patients exposés à l'étranger (1982-2013)	Page 18
Figure A1 :	Organigramme général du CNRR	Page 39
Figure A2 :	Plans des locaux de l'unité DyLAH (utilisés par le CNRR)	Page 41

Abréviations :

- ADNc : ADN complémentaire
- Anses: Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
- 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
- DDPP : Direction départementale de la protection des populations
- DGAI : Direction général de l'alimentation
- DRH : Direction des ressources humaines
- DSI : Direction déléguée aux systèmes d'information
- DyLAH : Dynamique des lyssavirus et adaptation à l'hôte
- EEQ: Evaluation externe de la qualité
- FAT : Détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence directe (Fluorescent antibody test)
- GBEA : Guide de bonne exécution des analyses
- InVS : Institut de veille sanitaire
- LRE-MS : Laboratoires de référence et d'expertise multi-site
- LCR : Liquide céphalo-rachidien
- 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
- 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)
- WELYSSA : Détection d'antigènes rabiques par test immuno-enzymatique

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

Enjeux de santé publique

La France métropolitaine est officiellement déclarée libre de rage des animaux terrestres non volants. Cependant, de **nombreuses zones d'enzootie rabique persistent dans le monde** et en particulier en Afrique et en Asie, continents avec lesquels la France entretient de nombreux échanges. En conséquence, le **danger d'importation** d'animaux de compagnie en incubation de rage subsiste. De même, de nombreux voyageurs sont exposés à des animaux suspects de rage à l'étranger. Enfin, les chauves-souris sont le réservoir de plusieurs espèces de lyssavirus qui circulent sur le territoire français métropolitain et en Guyane. Le risque associé de transmission de la rage à l'homme et aux animaux domestiques, bien que faible, continue de poser des problèmes de santé publique. Hors métropole, les risques d'importation de rage canine sont identiques.

Atouts de l'organisation du système de surveillance de la rage en France

La France dispose d'un système unique de surveillance et de prophylaxie de la rage avec une situation du CNRR au cœur du dispositif à la fois sur le volet humain mais aussi vétérinaire. Cette organisation ancienne est le reflet de la vision des autorités françaises qui dès 1982 ont organisé la lutte contre la rage dans un souci de collaboration intersectorielle bien avant l'apparition du concept d'une « seule santé ». Cette organisation est le gage d'une vision intégrée et globale au service de la protection des populations.

Missions de surveillance épidémiologique et d'alerte

Le CNRR est en charge des **analyses de laboratoire** concernant toutes les **suspensions de rage humaine** ainsi que toutes les **suspensions de rage animale susceptibles d'avoir contaminé l'homme**. Le CNRR collabore avec le Laboratoire National de la Rage (Anses-Nancy) en ce qui concerne la surveillance de la rage animale. En 2016, 1401 suspicions chez l'animal et 13 suspicions chez l'homme ont été investiguées par le CNRR. **Aucun cas animal** n'a été mis en évidence. Cependant **un cas humain** a été confirmé chez un patient malgache hospitalisé à Madagascar.

Afin de maintenir la qualité des analyses effectuées, le **CNRR est accrédité par le Cofrac** pour les **analyses vétérinaires (ISO 17025, section Laboratoire, accréditation N°1-1692)** ainsi que pour les **analyses humaines** (diagnostic post-mortem de la rage) dans le cadre du laboratoire de référence et d'expertise multi-site de l'Institut Pasteur dont fait partie le CNRR (**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

La situation épidémiologique de la rage en France reste aujourd'hui favorable. Cependant, le récent cas d'importation de rage humaine en France diagnostiqué par le CNRR chez un patient revenant d'un séjour en zone d'enzootie, et les multiples épisodes précédents de rage identifiés chez des animaux en période d'incubation de rage et introduits illégalement sur le territoire démontrent la nécessité de **poursuivre la surveillance** de la rage chez l'homme et chez l'animal afin **d'identifier rapidement les risques** et de **protéger la population** française par des mesures appropriées. Dans ce contexte, les actions du CNRR en 2016 ont visé à :

- l'analyse bénéfice-risque et coût-efficacité de la prophylaxie post-exposition en France métropolitaine afin de contribuer activement à l'élaboration de recommandations françaises en matière de prophylaxie post-exposition.
- la compréhension du rôle de l'écologie des chiroptères en Europe dans la dissémination des lyssavirus de chauves-souris.

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 2015 (8336 dossiers provenant des CAR en France) et ont fait l'objet d'une analyse dans le dernier Bulletin Epidémiologie et Prophylaxie de la rage humaine en France paru en 2016 (et disponible à l'adresse <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). Le nombre de patients exposés et celui des traités (47,9% du total) est en très faible baisse par rapport aux années précédentes mais reste beaucoup trop important par rapport à la situation épidémiologique favorable.
- Le CNRR plaide depuis des années pour une révision des pratiques en matière de prophylaxie antirabique et leur adaptation à la situation épidémiologique favorable de la rage en France. Dans ce contexte, le CNRR travaille à la production de données médico-économiques afin d'étayer la position française dans ce domaine et d'adapter, sur la base de données scientifiques, les pratiques en matière de prophylaxie post exposition en France. Une analyse critique des pratiques a été publiée. Enfin, 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.

Contribution aux réseaux internationaux de surveillance

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

- **Au niveau européen:** contribution à la surveillance de la rage en Europe, échange de données et collaborations avec les autres institutions nationales et européennes en charge de la rage.
- **Aide aux pays en développement, en particulier en Afrique et en Asie,** pour le contrôle de la rage par des actions de **formations** (cours et conférences sur la rage) et de **lobbying** en collaboration avec des organisations internationales (OMS, Alliance mondiale pour la rage, réseau AfroREB, 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.

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 "Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte" (DyLAH) au sein de l'Institut Pasteur, il est placé sous la responsabilité du Dr. Vét. Hervé Bourhy, qui est secondé par le Dr. Méd. Perrine Parize et par le Dr. Pharm. Laurent Dacheux.

Depuis 1968 (date de la réintroduction de la rage en France), le CNRR analyse les prélèvements d'animaux suspects de contamination humaine. Il reçoit également les prélèvements envoyés par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers concernant les patients présentant une suspicion d'encéphalite rabique. Depuis 1982, le CNRR informe les Centres Antirabiques (CAR) et Antennes Antirabiques (AAR), centralise et analyse les données concernant le nombre et la nature des consultations et prophylaxie antirabiques post-exposition pratiqués en France. Les données transmises par les CAR sont regroupées et publiées annuellement dans un "Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France". Le CNRR assure aussi la formation des médecins des CAR et l'information des différents partenaires impliqués au niveau national dans la prophylaxie de la rage humaine. Le détail des missions et de l'organisation est retrouvé en annexe 1.

2 Activité d'expertise

2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2016

Au cours de l'année 2016, le CNRR, en association avec le CCOMS Rage et en collaboration avec l'Institut tropical et de santé publique suisse et l'Institut de recherche en élevage pour le développement à N'Djaména, Tchad, a procédé à l'évaluation et la validation d'un test rapide pour le diagnostic *post-mortem* de la rage animale (test immunochromatographique de type bandelette), applicable directement sur le terrain en zone d'enzootie, notamment dans les pays en voie de développement (Léchenne et al., PLoS NTD 2016). Ce test s'est révélé particulièrement intéressant pour les laboratoires décentralisés dans lesquels la mise en œuvre de la technique de référence (immunofluorescence directe) restait difficile. A ce stade, ce test n'est cependant pas encore utilisé en routine et les techniques utilisées par le CNRR pour la mise en œuvre de ses missions sont restées en 2016 identiques à celles décrites antérieurement (Annexe 2).

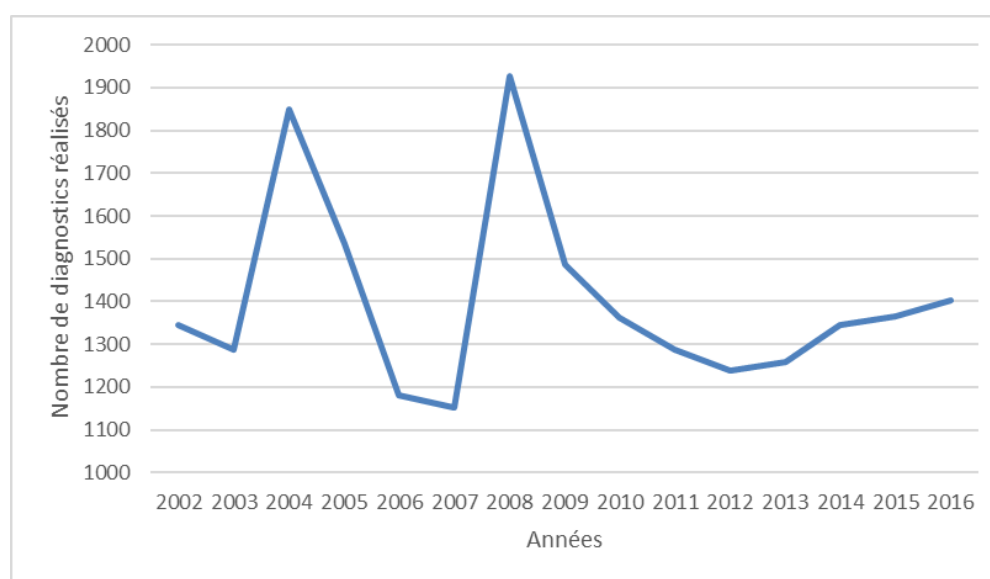
2.2 Activités d'expertise de l'année 2016 : Diagnostic de la rage en France

2.2.1 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 2016, le CNRR a reçu un total de **1402 prélèvements animaux** correspondant à un volume d'activité en légère augmentation comparé à celui des deux années précédentes (augmentation respective de 4,2% et 2,8% versus 2014 et 2015).

Figure 1: Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2002.



Parmi les **1402** prélèvements animaux réceptionnés au CNRR en 2016, **1361 échantillons** étaient originaires de France métropolitaine (Tableau I), **39 prélèvements** étaient originaires des départements d'outre-mer (Tableau II) et **38 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).

Tableau I: Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2016.

	RESULTATS				TOTAL
	NEGATIFS	POSITIFS	IMPOSSIBLES	Demande de prélèvement annulée	
Animaux domestiques	1307	0	1*	0	1311
Animaux sauvages	50	1	1*	1	49
TOTAL	1357	1	2*	1	1 361

* Impossibles: absence de matière cérébrale pour 2 animaux (1 chien et 1 chauve-souris).

Tableau II: Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2016.

FRANCE D'OUTRE-MER		RESULTATS			
		NEGATIFS	POSITIFS	IMPOSSIBLES	TOTAL
GUADELOUPE	Chat	1	0	0	1
	Chiens	5	0	0	5
MARTINIQUE	Chats	3	0	0	3
	Chien	1	0	0	1
GUYANE	Bovin	1	0	0	1
	Chats	6	0	0	6
	Chiens	16	0	0	16
	Singes	3	0	0	3
LA REUNION	Chiens	3	0	0	3
TOTAL		39	0	0	39

Tableau III: Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2016 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
Algérie	Chien*	DDPP Haute Garonne (31)	1	
	Chat	DDPP Seine Saint-Denis (93)	1	
	Chat*	DDPP Seine Saint-Denis (93)	2	
Brésil	Chien	DAAF Guyane (973)	1	
Bulgarie	Chien*	DDPP Alpes-Martimes (06)	1	
	Chien	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
Côte d'Ivoire	Chien	DDPP Seine Saint-Denis (93)	1	
Espagne	Chien	DDPP Isère (38)	1	
	Chien	DDPP Hérault (34)	1	
Maroc	Chien	DDPP Drôme (26)	1	
	Chien	DDPP Hérault (34)	1	
	Chien	DDPP Côtes d'Armor (22)	1	
	Chat	DDPP Rhône (69)	1	
	Chat	DDPP Saine Saint-Denis (93)	1	
	Chat	DDPP Lot (46)	1	
Moldavie	Chien	DDPP Indre-et-Loire (37)	1	
Pologne	Chat	DDPP Seine-et-Marne (77)	1	
Portugal	Chien*	DDPP Ain (01)	1	
	Chien	DDPP Haute-Savoie (74)	1	
	Chien	DDPP Lot-et Garonne (47)	1	
	Chien	DDPP Gard (30)	1	
	Chat	DDPP Essonne (91)	1	
République Tchèque	Chien	DDPP Charente-Maritime (17)	1	
Roumanie	Chien*	DDPP Seine Saint-Denis (93)	1	
	Chien	DDPP Ile et Vilaine (35)	1	
	Chien	DDPP Seint Saint-Denis (93)	1	
Russie	Chat	DDPP Haut Rhin (68)	1	
Sardaigne	Chien	DDPP Ain (01)	1	
Serbie	Chien*	DDPP Seine Saint-Denis (93)	1	
Tunisie	Chien	DDPP Yvelines (78)	1	
Turquie	Chien	DDPP Marne (51)	2	
	Chien	DDPP Loiret (45)	1	
Ukraine	Chat*	DDPP Savoie (73)	2	
	Chien*	DDPP Val d'Oise (95)	1	
Origine inconnue	Chien	DDPP Orne (61)	1	
total			38	0

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

Les répartitions par espèce domestique ou sauvage et par résultat ainsi que celles par département et par résultat sont données dans les Tableaux A2 et A3 (Annexe 3).

Le CNRR effectue aussi 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 2016, le CNRR a reçu **2 prélèvements animaux de ce type**, correspondant à des chats expédiés par l'Armée Française en poste au Mali. Après analyse, ils se sont révélés négatifs (Tableau IV).

Tableau IV: Résultats des prélèvements en provenance directe de l'étranger reçus en 2016.

PAYS	Type d'animal	RESULTAT NEGATIF	RESULTAT POSITIF
MALI (Armées)	Chat	2	0
TOTAL		2	0

2.2.2 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 : LCR, sérum, salives et biopsies de peau (au niveau de la nuque) pour le diagnostic *intra-vitam* ou biopsie cérébrale et biopsie de peau pour le diagnostic *post-mortem*. Un total de **13 suspicions d'encéphalite rabique** a été soumis au CNRR en 2016, représentant une augmentation d'environ 44% par rapport à l'année précédente. A ce titre, **52 prélèvements humains** (21 prélèvements salivaires, 11 sérums, 7 LCR, 11 biopsies de peau et 2 biopsies cérébrales) ont été reçus, dont la plupart a pu être analysée (Tableau V). Toutes les demandes (n=9) émanant d'un centre hospitalier français se sont révélées négatives, à l'exception d'une demande de diagnostic qui a été annulée sur demande du service hospitalier prescripteur.

Quatre autres demandes ont été directement adressées par un organisme étranger (Bénin, Madagascar et République Centrafricaine) et ont été réalisées en collaboration avec les activités du CCOMS de Référence et de Recherche pour la Rage (CCOMS Rage) hébergé par l'unité DyLAH. Trois d'entre-elles concernaient une demande de diagnostic *post-mortem* de la rage, dont l'une a pu être confirmée, au travers notamment de la caractérisation d'un virus rabique circulant habituellement dans le pays enzootique considéré (Madagascar). Les résultats se sont révélés non conclusifs pour les deux autres demandes, de par la qualité ou la nature des échantillons transmis.

Le nombre et la nature des prélèvements reçus par patient se sont révélés **conformes aux recommandations du CNRR** (au minimum 1 biopsie de peau et 3 salives séquentielles lors du

diagnostic *intra-vitam* de la rage, et une biopsie de peau ou une biopsie cérébrale lors du diagnostic *post-mortem*) dans plus de la moitié des demandes traitées en 2016. Ce résultat est en lien avec les efforts d'information du CNRR à destination des services des Centres Hospitaliers confrontés à une suspicion de rage humaine.

Tableau V: Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2016 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques.

CODE PATIENT	HÔPITAL DEMANDEUR	PRELEVEMENTS BIOLOGIQUES					RESULTATS BIOLOGIQUES
		Salive	Sérum/Sang	LCR	Biopsie de peau	Biopsie cérébrale	
H160001	CHU Montpellier (34)	3	1	1	1		Négatif
H160002 ^a	Cotonou (Bénin)*			1**		1**	Non conclusif**
H160003	CHU Clermont-Ferrand (63)		2	1	1		Négatif
H160004	CHU Lille (59)	3	1	1	1		Négatif
H160005	CH Garches (92)		1				Demande annulée
H160006	CHU Lariboisière, Paris (75)	6	2	1	4		Négatif
H160007	CHU Marseille (13)	3					Négatif
H160008	CH Amiens (80)				1		Négatif
H160009	CHU Rennes (35)	3	1	1	1		Négatif
H160010 ^a	IP Madagascar*		1				Non conclusif***
H160011 ^a	IP Madagascar*				1	1	Positif
H160012	IP Bangui (République Centrafricaine)*		1		1		Négatif
H160013	CHU Clermont-Ferrand (63)	3	1	1			Négatif
TOTAL		21	11	7	11	2	

^a Diagnostic *post-mortem* de la rage

* Prélèvements reçus et analysés en collaboration avec les activités confiées à l'Unité DyLAH en tant que Centre Collaborateur OMS de référence et d'expertise pour la rage.

** Prélèvements reçus non conformes (expédiés à température ambiante).

*** Sérologie positive chez un patient ayant reçu un début de prophylaxie post-exposition.

2.2.3 Analyses sérologiques

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

post-exposition et au suivi sérologique des personnes régulièrement exposées aux virus de la rage des chauves-souris en France métropolitaine" disponible à l'adresse www.hcsp.fr/explore.cgi/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 (un essai réalisé en 2015-2016 avec l'Institut Suédois pour le Contrôle des Maladies Transmissibles et un second réalisé avec l'Université de l'état du Kansas aux USA).

Au total, les anticorps antirabiques ont été dosés dans **87 sérums** humains au cours de l'année 2016.

2.2.4 Distribution de souches, prélèvements et sérums de référence

Au cours de l'année 2016, aucune demande de cession de souches ou d'échantillons de matériel biologique issus des collections du CNRR n'a été reçue.

Le CNRR contribue au projet européen European Virus Archive goes global EVAg, Topic: H2020-INFRAIA-2014-2015. "*High-containment biosafety facilities and virus collections including high-risk animal/human pathogens*" coordonné par le Prof. Jean-Louis Romette, Université d'Aix-Marseille, Marseille, France (<http://www.european-virus-archive.com>). Ce consortium regroupe 25 laboratoires internationaux dont 16 membres de l'UE et 9 extérieurs. Ces partenaires s'engagent dans la constitution d'une bio-banque d'isolats humains et vétérinaires caractérisés proposée à la communauté scientifique mondiale. Il s'agit du plus grand projet de ce type au niveau mondial.

3 Activités de surveillance

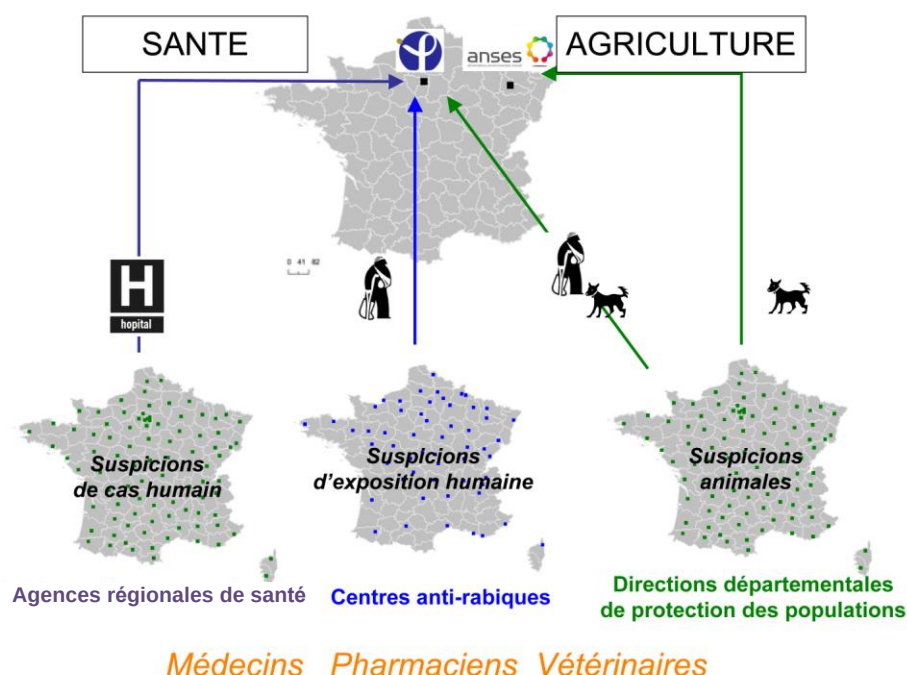
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.1.1 Description des circuits de surveillance et analyses épidémiologiques

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 se présente comme un maillon initial et 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 des CAR et dédié à la prophylaxie de la rage humaine (Fig. 2 et 3). 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)

3.1.1.1 Circuit humain

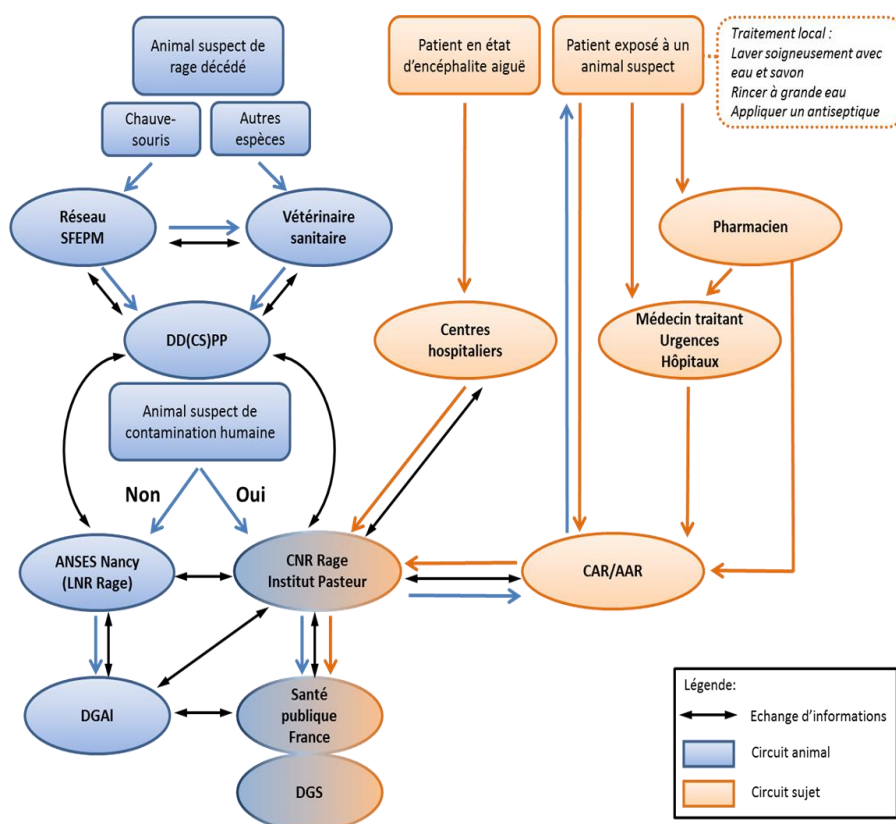
3.1.1.1.1 Suspensions de rage humaine

Le CNRR centralise toutes les analyses concernant les suspicions de rage humaine (Fig. 2 et 3). Ces suspicions lui sont communiquées directement 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, associées ou non à un antécédent de voyage à l'étranger ou à une morsure animale. Le CNRR intervient habituellement pour établir un diagnostic de deuxième voire de troisième intention. Comme précédemment décrit, un total de **13 suspicions de rage humaine** a été adressé au CNRR en 2016 et analysé par les techniques moléculaires, sérologiques et/ou de détection d'antigènes rabiques.

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 décrite précédemment reprenant le descriptif technique du diagnostic de la rage humaine (et qui 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, LCR et biopsie de peau et détection des anticorps antirabiques par test ELISA dans le LCR 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.

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



Abréviations:

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

Pour les 9 demandes reçues de France par le CNRR au cours de l'année 2016, le **diagnostic biologique** complet a pu être établi en moyenne en un peu plus de **3 jours** après la réception des prélèvements.

Le dernier cas de rage humaine contractée en France métropolitaine remonte à 1924. Cependant, le risque de rage humaine reste présent en France, comme le démontre le précédent cas diagnostiqué positif par le CNRR en 2014, chez un patient revenant d'un séjour au **Mali**. Ce dernier patient correspond au 21^{ème} cas recensé en France métropolitaine de 1970 à 2014 (Tableau VI). Aucun cas n'a été recensé depuis.

Enfin, il convient de rappeler 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 VI: Cas humains de rage recensés en France depuis 1970.

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	Grefe 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	?

3.1.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des expositions

La prophylaxie de la rage humaine est pratiquée en France dans les CAR et les AAR (Fig. 2 et 3). 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, 68 CAR et 20 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 et DGS/SD 5 C du 28 novembre 2007 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). Le réseau des CAR continue de s'élargir avec l'ouverture en 2016 de deux nouveaux centres dans le

Morbihan (Centre hospitalier de Bretagne Sud à Lorient) et à Mayotte. 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.

Contribution à la surveillance nationale : analyse des données

La surveillance de la rage humaine et de sa prophylaxie est effective en France depuis 1982. La collaboration des CAR avec le CNRR permet l'édition annuelle d'un Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France, à la demande des Autorités de tutelle, SPF et DGS. Ces données sont aussi directement disponibles sur Internet, de façon sécurisée (identifiant nominatif et mot de passe) pour les membres des CAR autorisés et les personnes habilitées des organismes de tutelle, SPF et DGS.

Les données sont saisies :

- Directement par les CAR ou les AAR (via le logiciel Voozanoo, Société Epiconcept),
- Par le CNRR à partir des données envoyées sous format papier par les CAR,
- Par la société Epiconcept à partir des données reçues sous format électronique.

La mise à disposition du logiciel Voozanoo permet une saisie régulière tout au long de l'année. De fait, chaque CAR peut analyser et suivre son activité directement, les autorités de tutelle également.

L'analyse globale des données est effectuée annuellement lors de la parution du Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France. Les tableaux sont directement accessibles sur Internet. Des analyses intermédiaires et/ou complémentaires peuvent être effectuées par chaque utilisateur au moyen du module statistique. Une fois réalisée par le CNRR, cette analyse globale est envoyée par courrier électronique à tous les CAR et AAR et mise sur le site Internet de l'Institut Pasteur. L'édition du Bulletin de 2015 a été communiquée le 1^{er} juillet 2016 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 2016 ne seront disponibles qu'au deuxième trimestre 2017, et seule une analyse préliminaire de ces données sera présentée dans ce rapport.

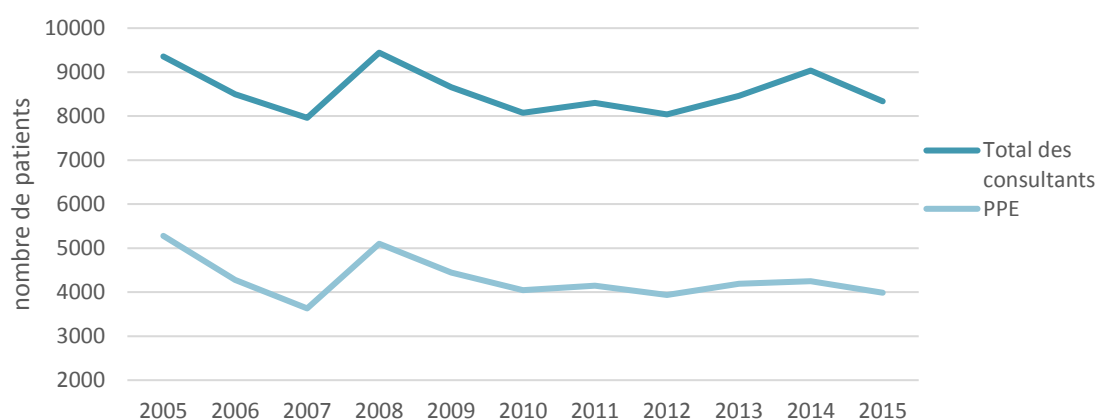
Résumé de l'analyse des données de 2015

Au total, 60 CAR (sur un total de 68) ont directement transmis leurs données au CNRR pour l'année 2015. Les données de 9 AAR (sur 20) ont été transmises indirectement par l'intermédiaire de leur CAR de référence. Un total de 8336 patients consultant au moins à une reprise dans un CAR français a été enregistré pour l'année 2015 avec :

- 3989 patients ayant reçu une prophylaxie post-exposition (PPE) (47,9%)
- 4173 patients non traités (50,0%)
- 174 patients « de passage » (2,1%) ce qui correspond à des patients qui, après avoir commencé la PPE dans un CAR, l'ont poursuivie dans un autre centre ou antenne.

Une légère diminution du nombre de consultants de 9,9% et de PPE délivrées de 5,4% est notée en 2015 par rapport à 2014, avec cependant une relative stabilité de ces données sur les 10 dernières années, en dehors du pic observé en 2008 à l'occasion de plusieurs importations de chiens enragés sur le sol français et d'alertes sanitaires relayées par les médias. La part des patients recevant une PPE parmi les consultants est elle aussi globalement stable autour de 50% (Figure 4).

Figure 4 : Evolution du nombre de traitements et de consultants en post-exposition de 2005 à 2015.



L'analyse des données 2015 montre la poursuite de la décroissance lente du nombre de PPE prescrites en France. Cependant, certaines prophylaxies semblent encore non justifiées par rapport à la situation épidémiologique favorable de la France. Les expositions aux animaux sauvages non volants en France (ex: renard, mustélidés, sanglier, lapin) font toujours l'objet de consultation dans les CAR en dépit de l'absence de risque de transmission de la rage par ces animaux depuis l'éradication de la rage vulpine de notre territoire et de nos frontières. Ces consultations sont le reflet de la mauvaise connaissance du public et des praticiens de 1er recours de la situation épidémiologique de la France par rapport à la rage. Ces expositions n'entraînent néanmoins qu'un nombre réduit de PPE : 72 par an.

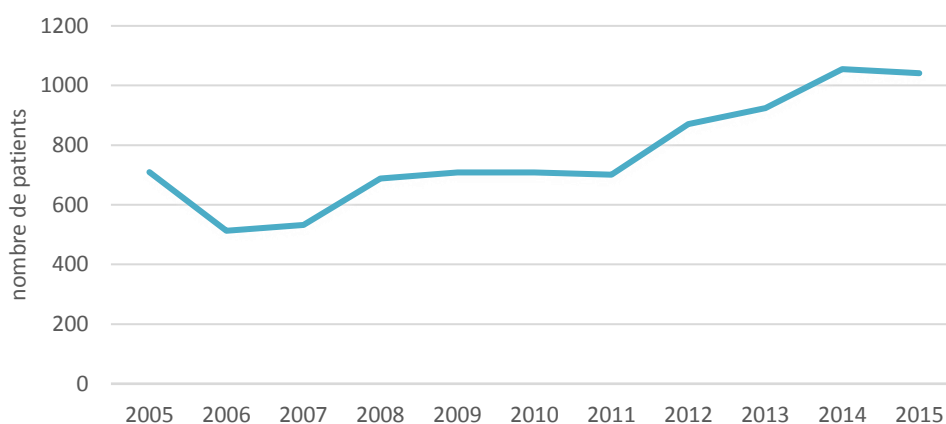
L'essentiel des PPE prescrites en France fait suite à des expositions à des animaux domestiques survenues en France avec 63,4% des PPE en lien avec un chien ou un chat. Ce chiffre contraste avec l'absence de cas autochtone de rage chez des animaux domestiques (surveillée par l'analyse de près de 2000 prélèvements animaux par an par le CNRR et l'Anses-Nancy) et avec l'absence de cas humain identifié sur le territoire français.

Le nombre de patients recevant une PPE suite à une exposition à un chien est relativement stable depuis 10 ans et représente 65% de toutes les PPE en 2015, de même de 2010 à 2014, le nombre de patients recevant une PPE en France suite à une exposition à un chat est stable, légèrement

au-dessus de 800 cas par an. En revanche, en 2015, seuls 584 patients ont bénéficié d'une PPE après une exposition à un chat, soit une réduction notoire de 32% entre 2014 et 2015. Ceci est la conséquence directe du fait qu'en raison du très faible risque d'être exposé au virus de la rage après morsure par un chat en France, plusieurs CAR ont décidé en 2015 de ne plus pratiquer de PPE dans ce cas, que le chat soit mis sous surveillance ou non. Cette décision était conditionnée à l'absence de notion de voyage chez l'animal ou de comportement évocateur de rage au moment de la morsure.

La part de l'exposition aux chauves-souris et aux singes est stable par rapport à l'an dernier mais a doublé sur la période 2005-2015 (la grande majorité des expositions aux singes ayant lieu en zone d'enzootie rabique). En 2015, la part des PPE liées à des expositions survenues à l'étranger continue d'augmenter par rapport à 2014 et représente maintenant plus de 25% des toutes les PPE délivrées dans les CAR français (Figure 5). Cette tendance reflète une mauvaise connaissance des risques liés à la rage par les voyageurs. L'effort de sensibilisation du public au risque rabique à l'étranger et l'information concernant l'intérêt de la vaccination pré-exposition doivent être poursuivis dans les centres de vaccinations internationales mais également dans les cabinets des médecins généralistes et les lieux de transit des voyageurs.

Figure 5 : Evolution du nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients exposés à l'étranger (2005-2015).



3.1.1.2 Circuit animal

Les DDPP ou DDCSPP, les LVD et les Ecoles Nationales Vétérinaires constituent les partenaires de ce réseau (Fig. 2 et 3). 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. En 2016, ces prélèvements correspondent à **près de 80% des suspicions animales en France**. De manière complémentaire, l'Anses-Nancy traite spécifiquement des cas animaux non susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme. L'ensemble de ces partenaires permet d'obtenir un maillage très serré sur le terrain, offrant ainsi une surveillance nationale (France métropolitaine et d'Outre-mer) permanente et la plus exhaustive possible de tous les cas animaux suspects, y compris les chauves-souris. **L'activité du**

CNRR contribue donc pour une très grande part à l'analyse épidémiologique effectuée par l'Anses-Nancy qui regroupe toutes les analyses pour recherche de rage animale faites en France.

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 2016, 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 : **65,9% des résultats ont été validés et envoyés dans un délai de 2 jours** après réception des échantillons par le CNRR (seuil fixé à 50%) et **97,1% dans un délai de 5 jours** (seuil fixé à 95%).

En cas de diagnostic positif, 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. 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. Ce délai a été respecté en 2016, avec l'établissement du typage viral de la chauve-souris positive en 5 jours. Parallèlement, en vue d'améliorer les conditions générales d'acheminement des prélèvements animaux envoyés au CNRR pour analyse, les délais observés entre la mort de l'animal suspecté de rage et sa réception au CNRR ont été collectés mensuellement pour chaque département et analysés. En moyenne, **un délai de plus de 5 jours** a été observé entre la mort de l'animal et son arrivée au CNRR. Ce délai reste stable comparativement aux années précédentes. **Seuls 2 échantillons** (un chien et une chauve-souris) parmi les 1402 prélèvements animaux reçus au CNRR en 2016 n'ont pu être analysés, de par leur état à réception au laboratoire (absence de matière cérébrale) (Tableau I). Dans ce cas de figure, les DDPP correspondantes sont immédiatement contactées afin qu'elles puissent 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).

3.1.2 Conclusions

3.1.2.1 *Surveillance de la rage animale en France*

Le système de surveillance de la rage animale en France est basé sur la vigilance de nombreux acteurs : vétérinaires sanitaires, médecins généralistes, CAR, DDPP et DDCSPP, LVD. Le CNRR intervient au bout de cette chaîne par l'analyse des échantillons reçus et le conseil aux autorités de Santé.

Au niveau épidémiologique, le dernier cas de rage vulpine en France a été diagnostiqué à l'Institut Pasteur sur un chat en provenance de Moselle en décembre 1998. Cependant, le suivi épidémiologique de la rage animale doit être maintenu. En effet, l'existence du risque d'exposition à la rage en France suite à l'importation illégale d'animaux non protégés originaires de zones d'enzootie, notamment celles situées en Afrique du Nord, persiste. **Cette situation n'a toutefois pas été observée en 2016.** Il est à noter cependant que le CNRR a reçu et traité en 2016 un total de **38 animaux importés dont 10 illégalement** (selon les indications mentionnées sur les commémoratifs associés aux prélèvements). Parmi ces 38 cas d'importation, près d'un quart (n=10) étaient originaires des pays du Maghreb (Tableau III).

La rage des chiroptères est toujours présente en France métropolitaine. **Un cas de chauve-souris** (appartenant à l'espèce sérotine commune ou *Eptesicus serotinus*) retrouvé infecté par le virus European bat 1 lyssavirus (EBLV-1) a été diagnostiqué positif par le CNRR en 2016. En parallèle, 5 autres cas ont aussi été identifiés par l'Anses-Nancy en 2016 au travers du réseau de surveillance passive.

Enfin, des mouvements d'animaux exotiques augmentent les risques d'introduction de la rage en France. Ils permettent l'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.

3.1.2.2 *Prophylaxie de la rage humaine en France*

La diminution progressive des prescriptions de PPE par les CAR français reflètent un changement de perception du risque rabique par les professionnels de santé. Les risques pour la population sont actuellement représentés par les expositions à l'étranger en zone d'endémie, les contacts avec des chauves-souris sur tous les continents et avec des animaux en provenance de zones d'endémies et importés en France de façon illégale. Il a été bien montré que le risque d'être infecté par la rage en France par un mammifère non volant est extrêmement faible (voire quasi nul pour certains experts) et sur la base de ces connaissances épidémiologiques actuelles aucune PPE n'est prescrite dans de nombreux CAR après exposition à un chat n'ayant jamais quitté le territoire national. Des recommandations nationales clarifiant les indications de PPE permettraient d'harmoniser les attitudes des différents CAR et d'adapter les prescriptions de PPE au risque réel.

3.2 Participation aux réseaux de surveillance

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

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

3.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

3.3.1 Evaluation du risque résiduel de rage chez les animaux domestiques en Europe de l'Ouest en rapport avec les mouvements d'animaux depuis les pays endémiques.

Les pays d'Europe de l'Ouest sont indemnes de rage terrestre, cependant le risque d'importation illégale d'un animal enragé provenant d'un pays endémique existe. Ce risque résiduel est difficile à apprécier et justifie pour certains centres antirabiques la poursuite de la vaccination post-exposition après une exposition en France avec un animal domestique ne pouvant bénéficier de la surveillance vétérinaire (animal disparu). Grâce aux données d'importation d'animaux enragés en Europe de l'Ouest entre 2001 et 2013, Florence Ribadeau-Dumas a pu évaluer le risque d'être en contact un jour donné avec un animal infecté par la rage. Ce risque résiduel de rage lié aux mouvements des animaux domestiques depuis les pays d'enzootie rabique vers l'Europe de l'Ouest a été estimé à $7,52 \times 10^{-10}$. Ce risque est extrêmement faible et peut probablement être considéré comme négligeable et justifier l'arrêt de la prophylaxie post-exposition après exposition avec un animal terrestre en Europe de l'Ouest comme cela est déjà recommandé par les experts de Public Health England depuis plusieurs années.

(Travel-Associated Rabies in Pets and Residual Rabies Risk, Western Europe) .Ribadeau-Dumas F, et al. Emerg Infect Distr. 2016 Jul;22(7):1268-71.

3.3.2 Développement et validation d'une technique de détection des ARN viraux par RT-qPCR pour le diagnostic intra-vitam et post-mortem de la rage.

Le CNR Rage développé une double technique moléculaire pour la détection à large spectre des lyssavirus par PCR en temps réel après transcription inverse (RT-qPCR), en combinant un essai à base de sondes spécifiques (TaqMan) pour détecter l'espèce rage classique (RABV) et un second utilisant un colorant intercalant (SYBR Green) pour détecter les autres espèces de lyssavirus.

Les paramètres de performance de ces essais combinés ont été évalués à partir d'un large panel d'échantillons d'animaux positifs (n=155) couvrant la quasi-totalité de la variabilité génétique virale existante, et s'étendant à presque toutes les espèces de lyssavirus caractérisées à ce jour. Cette méthode a également été évaluée pour le diagnostic de la rage humaine sur 211 échantillons biologiques (positifs n = 76 et négatifs n = 135), y compris la salive, la peau et les biopsies du cerveau. Il a détecté les 41 cas humains de rage testés et confirmé la sensibilité et l'intérêt de la biopsie cutanée (91,5%) et de la salive (54%) des échantillons pour le diagnostic intra-vitam de la rage humaine. Enfin, cette méthode a été mise en œuvre avec succès dans deux laboratoires de référence de la rage dans les pays enzootiques (Cambodge et Maroc).

(Dual Combined Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Lyssavirus Infection) Dacheux.L et al. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Jul 5;10(7):e0004812.

3.3.3 Validation d'un test de diagnostic rapide de la rage applicable en conditions de terrain dans les pays en voie de développement

L'une des principales origines de la négligence de la rage touchant les pays en voie de développement situés en zones d'enzootie repose sur l'absence d'outils diagnostiques rapides, fiables, peu coûteux et facile d'utilisation. En collaboration avec l'Institut tropical et de santé publique suisse situé à Bâle et l'Institut de recherche en élevage pour le développement à N'Djaména au Tchad, nous avons réalisé l'évaluation d'une technique immunodiagnostique rapide (RIDT) commerciale (Anigen, BioNote, Corée du Sud) de diagnostic *post-mortem* de la rage, dans une approche multicentrique, après une étape d'adaptation du protocole expérimental initial¹. En comparaison avec la technique de référence (immunofluorescence directe ou FAT), les caractéristiques intrinsèques de cette technique se sont révélées très élevées en laboratoire (spécificité: 93,3%, sensibilité: 95,3%) et même supérieures à celles de la technique de référence en condition de terrain, sur un total de 121 échantillons (13 espèces différentes). Nous avons également pu démontrer que cet outil pouvait servir de support pour les analyses moléculaires (détection par RT-PCR, séquençage), après extraction de l'ARN viral à partir du papier filtre.

(Validation of a Rapid Rabies Diagnostic Tool for Field Surveillance in Developing Countries) Léchennes et al *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Oct 5;10(10):e0005010.

3.3.4 Analyse des propriétés des tests diagnostiques en fonction de la situation épidémiologique.

Le diagnostic de la rage médiée par les chiens chez les humains et les animaux a grandement profité des récents progrès techniques. Les approches du diagnostic comprennent maintenant la détection des virus de la rage (RABV), de l'ARN RABV ou des antigènes RABV. Ces essais sont des outils importants dans les efforts actuels visant à éliminer globalement la rage médiée par les chiens. Les tests disponibles pour les laboratoires ainsi que leurs points forts et leurs faiblesses varient selon

les types d'échantillons analysés. Selon la situation épidémiologique et les objectifs de santé publique, le choix des méthodes peut varier.

Dans les contextes non endémiques, la détection de tous les cas animaux ou humains introduits ou émergents justifie des tests exhaustifs. Dans les contextes endémiques, comme les zones rurales des pays en développement où la plupart des cas se produisent, la disponibilité ou l'accès aux tests peut être sévèrement réduit. Ainsi, le CNRR et le CCOMS ont contribué à proposer une stratégie pour hiérarchiser l'utilisation des tests de diagnostic en fonction de la situation épidémiologique.

(Laboratory diagnostics in dog-mediated rabies: an overview of performance and a proposed strategy for various settings) Duong et al., Int J. Infect. Dis. 2016 May;46:107-14. doi: 10.1016/j.ijid.2016.03.016

4 Alerte

4.1 Procédure d'alerte de SPF et de la DGS

Chaque cas de rage diagnostiqué chez l'homme ou l'animal est signifié directement à la DGS, à SPF, à la DGAI et à l'Anses selon une procédure applicable depuis 2002 dans le système Qualité du CNRR (procédure RR00055), et qui a été appliquée en 2016 lors de la communication du diagnostic de rage chez une chauve-souris en France métropolitaine. La transmission des résultats est réalisée par courriel et éventuellement par téléphone et/ou télécopie. Une adresse courriel unique pour le CNRR (cnrrage@pasteur.fr) 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 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.

4.2 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Au cours de l'année 2016, le CNRR a reçu et analysé un total de 1402 prélèvements animaux liés à une suspicion de transmission de rage animale à l'homme. Un nombre relativement important d'entre eux provenait de la **Guyane**, avec 26 échantillons reçus.

En parallèle, un total de **13 suspicions de cas de rage** chez l'homme a été reçu au CNRR en 2016, dont 12 ont pu être analysées (une demande ayant été annulée par le prescripteur). Parmi ces suspicions, 4 ont été directement adressées par un organisme étranger, parmi lesquelles l'une d'entre-

elles s'est révélée positive. Aucun phénomène de ces groupes n'a été détecté en 2016.

5 Activités d'informations, de formation et de conseil

5.1 Diffusion des résultats animaux

Les techniques actuelles de diagnostic *post-mortem* de la rage permettent de porter un diagnostic de certitude dans un délai de 24 à 48 heures suivant la réception du prélèvement. Les résultats positifs sont alors télécopiés et envoyés par courrier aux directeurs des 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 formulaires de réponse 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 parallèle, le CNRR réalise régulièrement des enquêtes "satisfactions-clients" afin d'apprécier la qualité de ses services et de ses prestations auprès de l'ensemble des LDV et des DDPP (ou DDCSPP). L'enquête pour la période 2015, et qui a été mise en œuvre début 2016, a obtenu un taux de réponse de 82% des structures contactées. Parmi ces dernières, **le taux de satisfaction au regard des délais de rendu de résultats était de près de 90%**. En parallèle, les entités interrogées n'ont émis aucune réclamation pendant la période considérée, démontrant **leur satisfaction vis-à-vis des activités du CNRR**. L'enquête satisfaction-client pour l'année 2016 devrait être mise en place courant 2017.

Le CNRR contribue à l'analyse épidémiologique de la rage animale en France (animaux domestiques et sauvages y compris chauves-souris) effectuée par l'Anses-Nancy. Les données épidémiologiques et les résultats associés à ces analyses sont ainsi communiqués à cet organisme qui les utilise pour établir le bilan annuel.

5.2 Diffusion des résultats humains

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 décrite précédemment reprenant le descriptif technique du diagnostic de la rage humaine (et qui 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, LCR et biopsie de peau et détection des anticorps antirabiques par test ELISA dans le LCR 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.

5.3 Centralisation et diffusion des données sur la prophylaxie de la rage chez l'homme

Les personnes autorisées des CAR et des organismes de tutelle (SPF, DGS) peuvent se connecter sur le site <https://epidemie.pasteur.fr/rage/vaccilab/> grâce au logiciel Voozanoo 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 Internet, les consulter et effectuer des analyses simples. Ils peuvent aussi accéder aux données générales du CNRR de l'année en cours ou précédente. Le logiciel Voozanoo de saisie et d'analyse des données des CAR est utilisé depuis 2005 par le CNRR et il a été mis à la disposition des CAR depuis 2006. En 2013, il a été utilisé par 90% des CAR et AAR pour saisir leurs données. Les données 2016 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/sites/www.pasteur.fr/files/bulletin.cnrr_2013.pdf). 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 membres des CAR.

5.4 Activités de conseil aux professionnels

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.

Le CNRR va organiser en 2017 la 9e Journée des Centres antirabiques à Institut Pasteur de Paris.

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

5.5.1 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-reference/les-cnr/rage>). Des articles ont régulièrement été publiés dans la presse médicale et épidémiologique internationale. Les médias trouvent enfin auprès du CNRR une source d'informations fiables et régulièrement mises à jour.

5.5.2 Actions au niveau international

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

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

A la demande de certains centres hospitaliers situés dans des pays européens, ou extra européens notamment ceux ne bénéficiant pas de centre national de référence de la rage et/ou sur la recommandation de l'ECDC, le CNRR peut également être amené à réaliser un diagnostic *intra-vitam* ou *post-mortem* de rage pour des patients hospitalisés dans leurs services. Ce fut le cas en 2016 pour 2 patients hospitalisés à Madagascar et 1 patient hospitalisé en République Centrafricaine.

Un atelier sur la rage dont l'enseignement a été délivré par télé-enseignement et sur le terrain à Yaoundé, Cameroun, a été organisé conjointement avec l'OMS, le programme européen FP7/PREDEMICS, l'Université de Lausanne, la fondation HSET et le Centre Pasteur du Cameroun du 25 octobre au 5 novembre 2016. Ce cours faisait suite à deux autres workshops organisés sur le même modèle à Dakar, Sénégal, en décembre 2013 et Phnom-Penh, Cambodge en novembre 2015. Il a permis de former 25 professionnels de santé provenant de 12 différents pays d'Afrique (médecins, vétérinaires, universitaires, etc.) au concept de la lutte intégrée et de la collaboration intersectorielle (<http://predemics.biomedtrain.eu>).

5.6 Enseignements

5.6.1 Cours, formations, évaluations

- Master 2 « gestion transdisciplinaire de la sécurité sanitaire et nutritionnelle mondiale ». Université de Nantes, ONIRIS, France, 29 janvier 2016. Défi et opportunités pour lutter contre la rage à l'interface humaine et animale » (H. Bourhy).
- Master 2, « Circulation des agents pathogènes et maladies infectieuses et parasitaires animales », Université de Versailles-Saint-Quentin, France, 10 novembre 2016 (H. Bourhy).
- Master 2, Microbiologie « mécanismes cellulaires et moléculaires des interactions hôtes micro-organismes » Université de Versailles-Saint-Quentin, France, 7 octobre 2016 (H. Bourhy).
- Master 2, virologie médicale et moléculaire, Université Paris-Diderot, France, 5 octobre 2016 (H. Bourhy).
- Méthodologie principale de l'épidémiosurveillance, Université de Montpellier-CIRAD, Montpellier, France, 28 octobre 2016 (H. Bourhy).
- Master 2, cours international de vaccination, Université de Bordeaux 2, France, "Vaccination contre la rage", Ecole du Val de Grâce, Paris, 13 avril 2016 (H. Bourhy).

5.6.2 Formation d'étudiants étrangers ou de personnel

- M. Martin Faye, doctorant, Institut Pasteur de Dakar, Sénégal, 2 mois
- M. Mehdi Ajorloo, post-doc, Université Tarbiat Moddares, Téhéran, Iran, 6 mois
- Dr. Akram Salama, post-doc, Université de Sadat City, Egypte, 7 mois
- Davide Colombi, ISI Foundation, Turin, Italie, (programme d'échange de scientifiques de PREDEMICS), 5 semaines
- Service Naissengar, technicien responsable du diagnostic de la rage, Laboratoire de Recherches Vétérinaires et Zootechniques (LRVZ), Farcha, N'Djaména, Tchad 6 mois

5.6.3 Stagiaires

Le CNRR est chargé de la formation des médecins des CAR. Les médecins responsables de ces centres doivent réglementairement effectuer un stage de formation (1 journée au CAR situé à l'Institut Pasteur à Paris qui se décompose en ½ journée de présence en consultation antirabique et ½ journée d'information au CNRR avec l'un des responsables). Nous essayons d'étendre cette formation à tous les médecins exerçant dans un CAR. Ceci est effectif pour les nouveaux centres et les personnes nouvellement impliquées.

Reçus dans le cadre de la formation des médecins responsables des CAR:

- Dr Maxime LEROUX, Centre Hospitalier de Avranches-Granville, le 13 avril 2016
- Dr Emmanuelle FRANCOIS, Centre antirabique de Rouen, le 29 juin 2016
- Dr Cécile JANSSEN, Centre Hospitalier Annecy Genevois, le 19 septembre 2016
- Dr Céline POYET, Centre antirabique de Toulon, le 20 septembre 2016
- Dr Charles QUINQUENET, Centre antirabique d'Annonay, le 14 novembre 2016
- Dr Sylvie LAUMOND, Centre de Santé et Voyages de Nouméa, Nouvelle Calédonie, le 24 novembre 2016

Encadrement d'étudiants et de stagiaires scientifiques:

- M. Benoit Besson, étudiant en Thèse de Doctorat B3MI, Université Paris VII : " Rôle de RelAp43 dans la modulation de la réponse à l'infection par le virus de la rage", soutenance prévue en octobre 2016 (Directeur de thèse : H. Bourhy).

- M. Florian Sonthonnax, étudiant en Master 2 IMVI (Infectiologie, Microbiologie, Virologie, Immunologie, option Virologie fondamentale), Université Paris VII : "Mécanismes d'adaptation et de virulence des lyssavirus impliquant la phosphoprotéine et la protéine de matrice", 2/12/13 au 1/06/2014.

* Préparation d'un Doctorat, Bio Sorbonne Paris Cité, Université Paris 7 : "Rôle de la protéine de matrice et de la phosphoprotéine des lyssavirus dans la réponse immunitaire innée", 1/09/2014 au 1/09/2017.

- Maliki Ankavay, étudiant camourenais en Master 2 (Recherche en infectiologie fondamentale), Université de Lyon 1 Claude Bernard : "Identification du site d'action de molécules antivirales contre la rage et compréhension du fonctionnement des complexes de réplication viraux", 1/10/14 au 14/01/2015 et du 16/02/15 au 11/06/15.

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

6.1 Activités de recherche en cours

6.1.1 Recherches sur l'épidémiologie et la physiopathogénie des lyssavirus de chauves-souris

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

L'unité DyLAH a montré par un suivi longitudinal de colonies de chauves-souris en Espagne que de nombreuses espèces peuvent être infectées par les lyssavirus de chauves-souris européennes de type EBLV-1. Ces études ont utilisé plusieurs approches : recueil de données écologiques, sérologiques et virologiques sur le terrain, études phylogénétiques des isolats, modélisation mathématique de l'infection en essayant d'intégrer tous les paramètres recueillis afin d'obtenir des informations sur la dynamique spatio-temporelle de la rage dans les colonies de chauves-souris. Elles sont poursuivies principalement en Espagne dans le cadre du programme européen PREDEMICS (<http://predemics.biomedtrain.eu>) en collaboration avec J. Serra-Cobo (Université de Barcelone).

6.1.2 La rage des chauves-souris et implication en santé publique

La compréhension de la fréquence, et de l'importance des mouvements de chauves-souris infectées par les lyssavirus permettra 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 à l'élaboration de modèles épidémiologiques afin de mieux estimer et étudier le rôle de facteurs écologiques et anthropologiques dans l'épidémiologie de la rage chez les chauves-souris. Ceci a en particulier été effectué au travers d'un suivi longitudinal durant 4 ans de deux colonies de chauves-souris hématoiphages en Guyane. Plus de 1000 chauves-souris appartenant à une trentaine d'espèces différentes ont été analysés afin d'étudier les facteurs biologiques et écologiques assurant le maintien du virus de la rage dans une large communauté de chauves-souris. Le virus de la rage a été détecté au niveau moléculaire chez un vampire commun et dans une chauve-souris frugivore. Les séquences correspondaient à des souches du type chauve-souris hématoiphage et étaient proches des virus circulant dans la région amazonienne brésilienne. La séroprévalence de l'espèce variait de 0 à 20% et le risque de séropositivité était plus élevé chez les chauves-souris hématoiphage, vivant dans des colonies monospécifiques et dans des forêts denses. L'enquête longitudinale a montré des fluctuations temporelles importantes, avec des vagues individuelles de séroconversions et une immunité décroissante. Les résultats obtenus suggèrent (i) une exposition fréquente des animaux, (ii) une capacité de l'hôte infecté à contrôler et à éliminer le virus, (iii) des modes d'exposition plus variés entre les chauve-souris que l'infection habituellement présumée par

contact direct avec la salive des animaux infectés, ce qui devrait faire l'objet d'une enquête plus approfondie. Nous avons émis l'hypothèse que la circulation du virus de la rage en Guyane française est principalement maintenue dans les habitats de la forêt vierge qui peut fournir des ressources alimentaires suffisantes pour permettre aux chauves-souris vampires, principales espèces répandues, de survivre et de propager le virus de la rage. Cependant, en bordure de la forêt et dans les zones perturbées, les activités humaines peuvent induire des effets plus insidieux sur la faune. L'une des conséquences écologiques est la disparition des ressources pour les consommateurs tertiaires ou secondaires. Les populations de vampires peuvent ensuite passer à des ressources alternatives telles que le bétail, les animaux domestiques et les humains. Par conséquent, un bon état forestier, permettant à la fois un effet de dilution dans les communautés de chauves-souris très riches et le maintien de grandes populations de mammifères de taille moyenne et grande utilisés comme proies par les vampires, devraient empêcher leur migration vers les zones anthropisées.

(Bioecological Drivers of Rabies Virus Circulation in a Neotropical Bat Community, de Thoisy et al. PLoS Negl Trop. Dis. 2016).

6.1.3 Analyse de la dynamique micro-spatiale de la rage au niveau d'un centre urbain africain

Le développement d'approches novatrices qui combinent des données épidémiologiques et génomiques offre maintenant de nouvelles opportunités pour révéler la dynamique spatio-temporelle des maladies infectieuses et déterminer les processus responsables de leur propagation et de leur maintenance. Profitant des séries chronologiques épidémiologiques détaillées et des données de séquences virales de plus de 20 ans rapportées par le Centre national de référence pour la rage de Bangui, la capitale de la République centrafricaine, nous avons utilisé une combinaison de modélisation mathématique et d'analyse phylogénétique pour déterminer la dynamique spatiotemporelle de la rage chez les chiens domestiques ainsi que la fréquence des événements d'extinction et d'introduction dans une ville africaine. Nous montrons que bien que le virus de la rage du chien (RABV) semble être endémique à Bangui, son épidémiologie est en fait façonnée par l'extinction régulière des chaînes de transmission locale couplée à l'introduction de nouvelles lignées, générant des vagues successives de propagation. Notamment, le nombre de reproduction efficace au cours de chaque vague était rarement supérieur à la valeur critique de 1, de sorte que la rage ne persiste pas à Bangui. Ceci suggère que la rage se perpétue à l'échelle géographique locale par la dispersion médiée par l'homme de RABV au sein des zones périurbaines et rurales et secondairement dans les zones urbaines. Cette approche épidémiologique et génomique combinée permet d'élaborer un cadre global pour la compréhension de la persistance de la maladie et d'adapter en conséquence les mesures de contrôle. Ces dernières semblent ainsi devoir être probablement mieux ciblées sur les zones voisines de la ville qui apparaissent comme source d'incursions fréquentes de virus à Bangui.

(Revealing the Micro-scale Signature of Endemic Zoonotic Disease Transmission in an African Urban Setting, Bourhy et al., Plos Pathog, 2016)

6.1.4 Développement d'un cocktail d'anticorps monoclonaux humains à large spectre pour la prophylaxie post-exposition antirabique.

La prophylaxie post-exposition contre la rage chez l'homme actuellement disponible (PEP) comprend des immunoglobulines purifiées d'origine équine ou humaine (RIG). Le remplacement des RIG par un produit plus puissant et plus sûr est fortement encouragé en raison des coûts élevés et de la disponibilité limitée des RIG existantes. Dans cette étude, nous avons identifié deux anticorps monoclonaux humains neutralisants qui représentent une alternative valable et abordable aux RIG dans la PEP antirabique. Des cellules B de mémoire provenant de quatre donneurs vaccinés sélectionnés ont été immortalisées et des anticorps monoclonaux ont été testés pour déterminer l'activité de neutralisation et la spécificité de l'épitope. Deux anticorps, RVC20 et RVC58 (dirigés respectivement contre les sites antigéniques I et III), ont été choisis pour leur efficacité et leur large spectre de réactivité. In vitro, RVC20 et RVC58 ont réussi à neutraliser tous les virus de la rage (RABV) et 25 lyssavirus non RABV. Ils ont montré une activité plus importante et plus large comparativement aux autres anticorps en développement clinique (CR57, CR4098 et RAB1) et aux RIG d'origine humaine disponibles dans le commerce. In vivo, le cocktail RVC20-RVC58 a protégé les hamsters syriens contre une épreuve létale par le virus de la rage et n'a pas affecté la réponse en anticorps post-vaccinaux chez les hamsters. Ces résultats démontrent que ce cocktail d'anticorps humains RVC20 et RVC58 représente une alternative valable à RIG dans la PEP de la rage humaine.

(Development of a broad spectrum human monoclonal antibody cocktail for rabies post-exposure prophylaxis, De Benedictis et al., EMBO Mol Med, 2016)

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

L'unité DyLAH réalise 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 biologiques). 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 bi-annuelle 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, débutée en 2011, avait permis d'inclure 187 sujets (77 ONG, 110 personnels). L'étude a été poursuivie en 2016 avec 312 inclusions supplémentaires (268 ONG et 44 personnels) permettant un d'obtenir un total d'inclusions de 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. Ce travail donnera lieu à une publication en langue anglaise dans un journal international à comité de lecture en 2017.

6.2 Liste des publications et communications

Publications internationales

- The matrix protein of rabies virus binds to RelA43 to modulate NF- κ B-dependent gene expression related to innate immunity. Ben Khalifa Y, Luco S, Besson B, Sonthonnax F, Archambaud M, Grimes JM, Larrous F, Bourhy H. **Sci Rep. 2016** Dec 21;6:39420
- Large-Scale Phylogenomic Analysis Reveals the Complex Evolutionary History of Rabies Virus in Multiple Carnivore Hosts. Troupin C, Dacheux L, Tanguy M, Sabeta C, Blanc H, Bouchier C, Vignuzzi M, Duchene S, Holmes EC, Bourhy H. **PLoS Pathog. 2016** Dec 15;12(12):e1006041.
- Validation of a Rapid Rabies Diagnostic Tool for Field Surveillance in Developing Countries. Léchenne M, Naissengar K, Lepelletier A, Alfaroukh IO, Bourhy H, Zinsstag J, Dacheux L. **PLoS Negl Trop Dis. 2016** Oct 5;10(10):e0005010.
- Dual Combined Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Lyssavirus Infection. Dacheux L, Larrous F, Lavenir R, Lepelletier A, Faouzi A, Troupin C, Nouril J, Buchy P, Bourhy H. **PLoS Negl Trop Dis. 2016** Jul 5;10(7):e0004812.
- Travel-Associated Rabies in Pets and Residual Rabies Risk, Western Europe. Ribadeau-Dumas F, Cliquet F, Gautret P, Robardet E, Le Pen C, Bourhy H. **Emerg Infect Dis. 2016** Jul;22(7):1268-71.
- Revealing the Micro-scale Signature of Endemic Zoonotic Disease Transmission in an African Urban Setting. Bourhy H, Nakouné E, Hall M, Nouvellet P, Lepelletier A, Talbi C, Watier L, Holmes EC, Cauchemez S, Lemey P, Donnelly CA, Rambaut A. **PLoS Pathog. 2016** Apr 8;12(4):e1005525.
- Complete Genome Sequence of a Vampire Bat Rabies Virus from French Guiana. Lavergne A, Darcissac E, Bourhy H, Tirera S, de Thoisy B, Lacoste V. **Genome Announc. 2016** Apr 7;4(2). pii: e00188-16.
- Laboratory diagnostics in dog-mediated rabies: an overview of performance and a proposed strategy for various settings. Duong V, Tarantola A, Ong S, Mey C, Choeung R, Ly S, Bourhy H, Dussart P, Buchy P. **Int J Infect Dis. 2016** May;46:107-14.
- Development of broad-spectrum human monoclonal antibodies for rabies post-exposure prophylaxis. De Benedictis P, Minola A, Rota Nodari E, Aiello R, Zecchin B, Salomoni A,

Fogliolini M, Agatic G, Vanzetta F, Lavenir R, Lepelletier A, Bentley E, Weiss R, Cattoli G, Capua I, Sallusto F, Wright E, Lanzavecchia A, Bourhy H, Corti D. **EMBO Mol Med.** **2016** Apr 1;8(4):407-21.

- Rabies transmission risks during peripartum--Two cases and a review of the literature. Aguèmon CT, Tarantola A, Zoumènou E, Goyet S, Assouto P, Ly S, Mewanou S, Bourhy H, Dodet B, Aguèmon AR. **Vaccine.** **2016** Apr 4;34(15):1752-7.
- The potential lethal consequences of rabies vaccine avoidance and dog smuggling in Europe. Botelho-Nevers E, Gagneux-Brunon A, Cantais A, Daoud F, Fouilloux P, Fresard A, Cazorla C, Witz M, Monnier G, Guerson N, Ragozin N, Parize P, Bourhy H, Dacheux L, Pihier N, Septfons A, Guichard M, Lucht F. **J Infect.** **2016** May;72(5):626-8.
- Bioecological Drivers of Rabies Virus Circulation in a Neotropical Bat Community. de Thoisy B, Bourhy H, Delaval M, Pontier D, Dacheux L, Darcissac E, Donato D, Guidez A, Larrous F, Lavenir R, Salmier A, Lacoste V, Lavergne A. **PLoS Negl Trop Dis.** **2016** Jan 25;10(1):e0004378.
- Caring for patients with rabies in developing countries - the neglected importance of palliative care. Tarantola A, Crabol Y, Mahendra BJ, In S, Barennes H, Bourhy H, Peng Y, Ly S, Buchy P. **Trop Med Int Health.** **2016** Apr;21(4):564-7.
- Evidence of two distinct phylogenetic lineages of dog rabies virus circulating in Cambodia. Mey C, Metlin A, Duong V, Ong S, In S, Horwood PF, Reynes JM, Bourhy H, Tarantola A, Buchy P. **Infect Genet Evol.** **2016** Mar;38:55-61.

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale

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

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.

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

Le CNRR entretient 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>)** depuis novembre 2011 et d'un **programme ANR (Viva&Host)** depuis mars 2013 dans lesquels nous sommes partenaires et travaillons sur les mécanismes évolutifs impliqués dans la capacité de franchissement de la barrière d'espèce (chien, renard, homme) par les lyssavirus. Ces travaux nécessitent la mise en place de protocoles expérimentaux communs, des échanges de personnel, d'équipement et de matériel biologique, des contacts téléphoniques et rapport d'avancements dont la fréquence est au minimum mensuelle. Enfin, les 2 structures sont aussi partenaires d'un programme **ANR** ayant débuté fin 2013,

intitulé "éco-épidémiologie des coronavirus, de la faune sauvage à l'homme et risque d'émergence" (EPICOREM).

8 Programme d'activité pour la période 2017-2018

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 2017-2018, le CNRR maintiendra son expertise technique dans le domaine du diagnostic de la rage humaine et animale en France. Il poursuivra notamment son engagement dans la démarche d'accréditation selon le référentiel ISO 15189, en soumettant à l'accréditation l'ensemble des techniques utilisées dans le diagnostic de la rage humaine. 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 2015-2016 sont le maintien du niveau d'Assurance-Qualité, le perfectionnement des techniques diagnostiques utilisées et le maintien des délais de réponse lors d'une demande de diagnostic rage.

En complément du maintien de l'accréditation selon le référentiel ISO 17025 des techniques mises en œuvre pour le diagnostic *post-mortem* de la rage animale (techniques FAT et RTCIT) et selon le référentiel ISO 15189 pour le diagnostic *post-mortem* de la rage humaine, le CNRR va également poursuivre son engagement dans la démarche d'accréditation selon le référentiel ISO 15189 des autres techniques utilisées dans le diagnostic de la rage humaine. En 2016, le CNRR souhaite soumettre à l'accréditation selon ce référentiel ISO 15189 **l'ensemble des techniques utilisées ou en développement pour le diagnostic *intra-vitam*** (techniques de biologie moléculaire telle la RT-PCR en temps réel) ou **pour le dosage des anticorps antirabiques** (séroneutralisation et test ELISA).

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 2014-2015 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 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, 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.

En collaboration avec les organismes officiels, les industriels et les CAR, le CNRR participera à l'évaluation des produits biologiques (vaccins et immunoglobulines) et des protocoles d'utilisation de ces produits.

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

confirmation peuvent être effectués par la technique de référence de séro-neutralisation (RFFIT) pratiquée au CNRR.

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

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

Ce bulletin est aussi l'occasion de faire le point sur les actualités en matière de rage et de prophylaxie.

La mise à la disposition des CAR à titre gratuit du logiciel Vaccilab, puis du logiciel Voozanoo (mis au point par la Société Epiconcept en collaboration avec le CNRR), a permis de réduire les délais de saisie des données. La généralisation de l'utilisation de ce dernier logiciel au sein des CAR permet d'améliorer la rapidité de 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 de la période 2015-2016, 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 la coordination 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.

Une journée de formation est obligatoire pour tous les médecins responsables des CAR (circulaire ministérielle DGS/AP/2 N°1239, Note du 15 janvier 1987). Le CNRR s'est aussi engagé à organiser une journée des CAR à intervalle régulier. **La prochaine journée de réunion des CAR aura lieu courant 2017 à l'Institut Pasteur.**

Enfin, le CNRR s'attachera en 2017 au travers de communications à convaincre les CAR français de modifier leur pratique et de diminuer le nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients en contact sur le territoire métropolitain avec un animal domestique ou sauvage disparu.

8.4.5 Atelier sur la rage, Téhéran, Iran

Un atelier sur la rage va être organisé conjointement avec l'OMS, le programme européen FP7/PREDEMICS, l'Université de Lausanne, la fondation HSET et l'institut Pasteur d'Iran et en collaboration avec l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Alliance Globale contre la Rage (GARC) du 8 au 19 octobre 2017. Ce cours sera délivré par télé-enseignement à partir de juin 2017 puis sur le terrain en Iran. Cet atelier fait suite à 3 autres ateliers organisés sur le même modèle à Dakar, Sénégal en décembre 2013, Phnom-Penh, Cambodge en novembre 2015 et Yaoundé, Cameroun en octobre 2016. Ces différents ateliers ont permis depuis 2013 de former 72 professionnels de santé provenant de 37 pays différents (médecins, vétérinaires, universitaires, etc.) au concept de la lutte intégrée et de la collaboration intersectorielle. L'annonce du cours de Téhéran est disponible sur le site <http://predemics.biomedtrain.eu/cms> et les inscriptions sont actuellement en cours.

8.5 Activités de recherche en lien avec le CNRR

Le CNRR poursuivra en 2017-2018 les thématiques de recherche décrites dans le Chapitre 6.1 (Travaux de recherche).

Annexe 1 : Missions et organisation du CNR

1. Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR

L'arrêté du 26 décembre 2011 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 spécifique, défini par l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence, demande au CNRR de respecter les missions définies par l'arrêté du 29 novembre 2004 (modifié par l'arrêté du 21 juillet 2010), et plus spécifiquement:

- *Etablir le diagnostic de rage pour tout cas humain suspecté et pour tout animal susceptible d'avoir transmis la rage à l'homme,*
- *Contribuer à la surveillance épidémiologique de la rage animale, en liaison avec le laboratoire de référence de la rage animale et collaborer avec les autres structures impliquées dans la surveillance et le contrôle de la rage animale (DGAL, Anses-Nancy, etc.),*
- *Contribuer à l'alerte en signalant à Santé Publique France 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,*
- *Participer en liaison avec Santé Publique France à toute évaluation des risques pour l'homme compte tenu de l'évolution épidémiologique chez différentes espèces animales (chauve-souris notamment),*
- *Contribuer en liaison avec Santé Publique France aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE,*
- *Participer à la coordination des centres antirabiques et à l'évaluation de la politique vaccinale.*

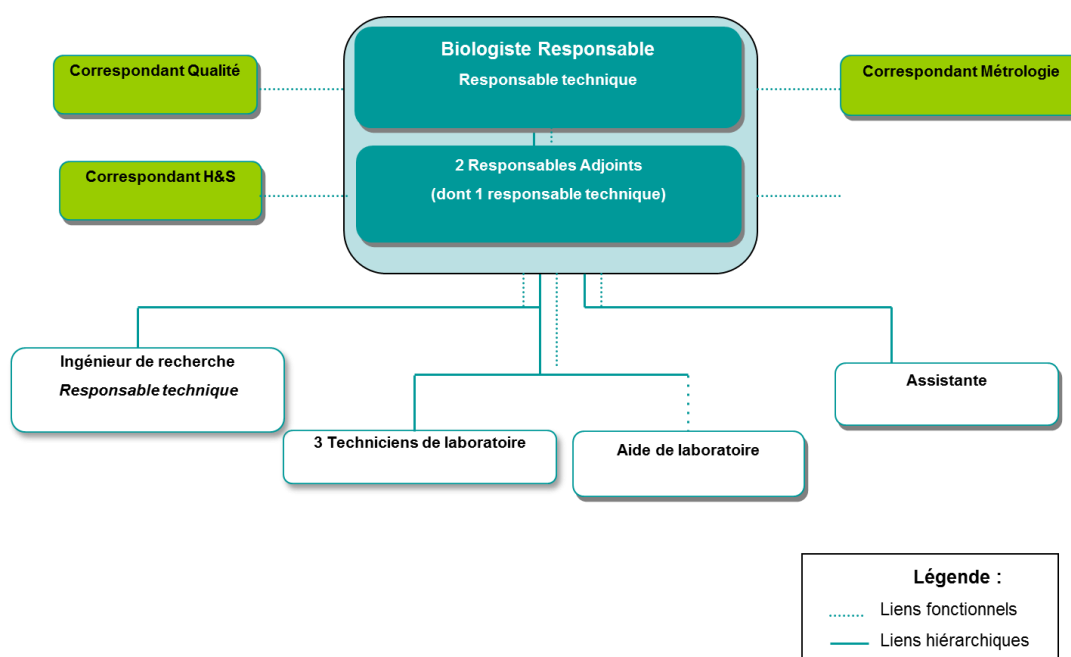
Les coûts relatifs aux analyses diagnostiques de la rage animale ne sont pas pris en charge par la subvention associée au CNRR. Cette activité est confiée à l'Institut Pasteur au titre de l'article R22-36 du code rural, du décret 2003-768 du 1^{er} août 2003 relatif à la partie réglementaire du livre 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. Cette activité fait l'objet d'une convention particulière entre l'Institut Pasteur et le Ministère de la Santé (DGS). Néanmoins la subvention du CNR contribuant à de nombreuses activités connexes (assurance qualité, typage moléculaire des souches, maintien des bases de données, développement de techniques, etc.) et le diagnostic animal faisant explicitement partie des missions, les résultats issus de ce domaine d'expertise sont largement décrits dans ce rapport.

Pour l'année 2016, une convention a été signée avec la DGS concernant une partie des charges des activités de conseil et d'expertise aux CAR. Elle s'ajoute ainsi à la subvention de Santé publique France.

2. Effectif et Qualification du personnel du CNRR

2.1. Organigramme général

Figure A1 : Organigramme général du CNRR.



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

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

2.2. Effectif par catégorie de fonction

Tableau A1: Effectif par catégorie de fonctions.

Abréviation : ETP = équivalent temps plein

	Sci./biol.	Ing.	Tech	Ag. Tech.	Adm.
Effectif de la structure de Recherche (Nombre de postes)	6	1	3	0	1
Dont pour le CNR (en Equivalent Temps Plein ETP estimés)	0,7	0	0,9	0	0,25

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

3.1. Locaux

Depuis décembre 2014, le CNRR est hébergé à l'Institut Pasteur, 28 rue du Docteur, Roux, 75724 Paris cedex 15, au sein du bâtiment Lwoff, à l'exception du laboratoire P3 situé dans le bâtiment Nocard

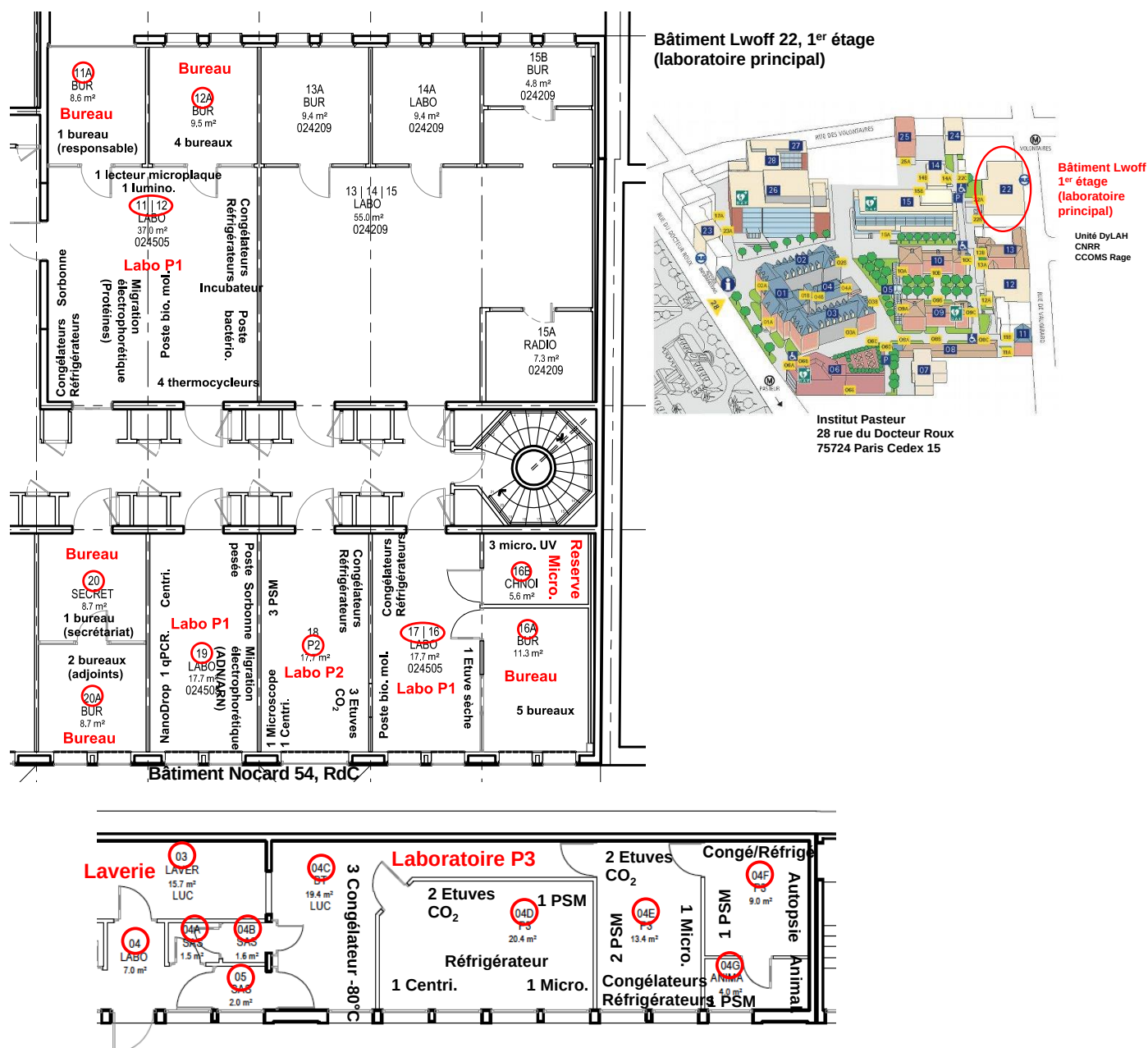
Locaux administratifs:

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

Laboratoires:

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

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



3.2. Matériel et équipement actuels de la structure

Matériel et équipement utilisés en partage avec l'unité DyLAH

- Laboratoires réglementaires de confinement pour la manipulation des lyssavirus
- 6 congélateurs -80°C
- 8 postes de sécurité microbiologique
- 5 étuves à CO₂
- 3 conteneurs à azote liquide
- 3 microscopes à immunofluorescence
- 2 lecteurs de microplaques (dont 1 de luminescence)
- 3 microscopes inversés
- 6 centrifugeuses (dont 3 réfrigérées)
- 5 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. Démarche Qualité au sein du CNRR

Le fonctionnement du CNRR est conforme au GBUI (Guide de Bonne Utilisation de l'Informatique) depuis 2003.

Le CNRR est 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). Un audit de surveillance a été réalisé en septembre 2016 et a permis de maintenir cette accréditation dans la section Laboratoire. En 2016, 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).

L'accréditation de ces mêmes techniques selon **le référentiel ISO 15189** est également effective pour le CNRR dans la section Santé Humaine (diagnostic humain, N° accréditation 8-2588) **depuis mars 2014**. Cette dernière entre dans le cadre du processus d'accréditation multi-site de l'Institut Pasteur en réponse à l'obligation faite aux CNR, au même titre que celle faite aux Laboratoires de Biologie Médicale, de se conformer au référentiel ISO 15189 pour toutes les activités en lien avec la biologie médicale. Un total de 13 diagnostics de rage humaine a été effectué par le CNRR en 2016, et deux d'entre eux ont fait appel aux techniques accréditées (diagnostic post-mortem réalisé à titre de confirmation à la demande de deux organismes étrangers) dont l'un s'est révélé positif.

Le CNRR participe régulièrement à des **essais inter-laboratoires internationaux** pour l'ensemble des techniques qu'il met en œuvre. Il a ainsi réalisé entre fin 2015 et courant 2016 des essais en sérologie antirabique pour les techniques ELISA et RFFIT avec l'Unité du développement de laboratoire et du transfert de technologie de l'Agence de Santé publique de Suède (échange de 5 échantillons de sérum anonymisés) et également avec le Laboratoire de sérologie rabique de l'Université de l'Etat du Kansas aux USA, (analyse de 7 échantillons de sérum anonymisés). Il a également participé à l'essai inter-laboratoire organisé annuellement par l'Anses-Nancy pour les techniques FAT, RTCIT, RT-PCR et RT-qPCR (panel de 9 échantillons de cerveaux anonymisés). Les résultats des différentes techniques évaluées se sont **tous révélés conformes**.

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.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

1. Liste des techniques de référence

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'Office International des Epizooties (OIE):

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

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

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

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

- la **recherche d'anticorps anti-rabiques dans le sérum et le LCR** 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 LCR et de biopsies de peau. Le CNRR dispose d'amorces oligonucléotidiques permettant de détecter les différentes espèces virales du genre *Lyssavirus* (y compris les virus des chauves-souris européennes tels le virus Bokeloh bat lyssavirus récemment identifié et le virus European bat 1 lyssavirus).

1.3. Typage des isolats

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

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

Ces typages sont notamment permis grâce à l'appui technique au sein de l'Institut Pasteur de la plate-forme Génomique, de la plateforme de microbiologie Mutualisée (P2M) et du Pôle de Génotypage des Pathogènes (PGP) au sein de l'Unité de recherche et d'expertise Environnement et Risques Infectieux.

2. 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 DyLAH 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.

2.1. 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.

2.2. 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 a réactualisé en 2014 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.

2.3. 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 (66) et les AAR (20), 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).

2.4. Aspects réglementaires et légaux

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

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

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

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

3. Collections de souches, prélèvements et sérums de référence

3.1. Descriptions et conditions de stockage

La collection de virus rabiques de l'unité DyLAH développée au travers des activités de recherche de l'unité, du CCOMS Rage et du CNRR comporte environ **2200 isolats** (dont 1 et 23 isolats collectés en 2016, respectivement dans le cadre des activités du CNRR et du CCOMS Rage) provenant de plus de 80 pays étrangers différents. Cette collection s'accroît d'année en année. Environ 80% des isolats de cette collection ont été séquencés, permettant ainsi d'établir une banque de données de séquences pour la caractérisation des isolats erratiques en France et la surveillance de la diffusion des différents virus rabiques dans le monde. Les souches infectieuses sont conservées à température négative (-80°C) après avoir été propagées et amplifiées sur culture cellulaire ou cerveaux de souriceaux nouveau-nés. Les ARN viraux extraits sont également conservés à température négative (-80°C).

L'ensemble des prélèvements biologiques reçus et analysés pour diagnostic *intra-vitam* ou *post-mortem* de rage humaine (dans le cadre des activités de recherche de l'unité DyLAH, ou des activités

du CNRR et du CCOMS Rage) est intégralement conservé comme précédemment décrit. De plus, les ARN extraits et les ADN complémentaires (ADNc) produits à partir de ces prélèvements sont également conservés respectivement à -80°C et à -20°C.

Le CNRR conserve également les spécimens de chauves-souris reçus dans le cadre de ses activités de diagnostic ou de recherche épidémiologique. Ces spécimens (environ 425 individus) sont stockés afin de pouvoir réaliser des recherches ultérieures, notamment en termes de détermination de nouveaux virus mais également d'analyses épidémiologiques moléculaires. Ces échantillons sont conservés à -80°C.

Enfin, le CNRR possède une collection importante de sérums humains (plus de 3300 sérums) provenant de demande de titrage d'anticorps antirabiques ou d'expertises. Il bénéficie aussi d'une collection de près de 3300 sérums de chauves-souris collectés sur le terrain au travers de diverses études épidémiologiques menées par l'unité DyLAH en collaboration avec différents partenaires étrangers. Ces échantillons sont conservés à -20°C.

3.2. Conditions de mise à disposition de ces collections

Les souches de référence de virus rabiques (souches d'épreuve et souches vaccinales) ainsi que les sérums de référence sont à la disposition d'autres laboratoires spécialisés dans le monde selon la réglementation en vigueur. Une intégration des virus de référence (n=38) dans le Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP) a été réalisée à partir de 2006. Ces souches correspondent à des virus de référence ainsi qu'à différents isolats de terrain représentatifs des principales espèces virales de lyssavirus. Cette collection de virus est actuellement gérée sous assurance Qualité (certification norme NF S96-900). Une caractérisation de ces souches est proposée au travers de leur identification précise par séquençage des gènes complets de la nucléoprotéine et de la glycoprotéine ainsi que par la détermination du titre infectieux. Les souches actuellement disponibles sont retrouvées sur le site Internet du CRBIP : <https://research.pasteur.fr/fr/team/biological-resources-center/>.

L'utilisation des échantillons biologiques d'origine humaine du CNRR (banque de données N°2) nécessitera d'être réalisée en collaboration avec le CNRR et fera au préalable l'objet d'un dépôt de protocole de recherche biomédicale et d'une demande d'acceptation selon une procédure interne à l'Institut Pasteur.

Depuis 2016, les virus de référence sont intégrés à la plate-forme EVAg (<http://www.european-virus-archive.com>) à laquelle participe l'unité DyLAH. Hervé Bourhy est le coordinateur de cette initiative pour l'Institut Pasteur. EVAg est un programme européen (appel à projet H2020) qui regroupe les biobanques majeures de virologie en Europe mais aussi dans le monde (CDC USA, CDC chinois, Russie, CSIRO, et de nombreux autres partenaires en Asie et en Afrique). Il s'agit donc d'une structure sans but lucratif qui mobilise un réseau mondial d'expertise en virologie visant à collecter, amplifier, caractériser, standardiser, authentifier, distribuer les virus et les produits dérivés sous assurance qualité

et dans le respect des protocoles régissant les échanges de souches et produits biologiques (ex : Protocole de Nagoya). La visibilité de cette plate-forme est internationale. Elle permet donc une diffusion facile des souches et des produits dérivés. Les isolats du CNRR pourront donc bénéficier aussi de cette plate-forme originale de mise à disposition.

L'accès aux souches, aux prélèvements biologiques et données associées collectés dans le cadre de l'activité de l'unité DyLAH, du CCOMS Rage ou du CNRR est conditionné par la mise en place de documents contractuels spécifiques. Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées, la mise en place *a minima* d'un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement -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 pas à une contrepartie financière. Ces accords ont notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire. L'unité DyLAH, reconnue CNRR, de par la valorisation de son savoir-faire et de son expertise sur le matériel biologique concerné, reste détentrice des prélèvements biologiques et données associées ou propriétaire des droits existants sur les souches et données associées y afférant.

Différents points essentiels sont appréhendés dans ces accords :

- le partenaire s'engage à n'utiliser les souches, les prélèvements biologiques et données associées que dans le cadre d'un programme de recherche défini spécifiquement.
- les résultats issus du programme de recherche devront systématiquement être communiqués par le partenaire au CNRR ; le CNRR sera également associé ou remercié dans les publications et/ou aux communications.
- le tiers partenaire s'engage à ne pas transférer les souches, les prélèvements biologiques et les données associées à des tiers et à retourner ou détruire le matériel biologique à la fin du programme de recherche.

En termes de valorisation, l'Institut Pasteur s'assure dans certaines circonstances de la copropriété des résultats issus des travaux effectués sur le matériel biologique et veille à ce que la valorisation du savoir-faire et de l'expertise du CNRR ayant conservé, traité, trié et analysé le matériel biologique soit garanti au titre de l'accord. Lorsque le matériel biologique et les données associées sont mis à disposition dans le cadre d'une collaboration scientifique par laquelle les partenaires s'associent de manière plus conséquente à la réalisation du programme de recherche, la valorisation des travaux menés conjointement devra tenir compte des apports respectifs de chacun des partenaires. Les accords excluent toute garantie relative (i) à la nature appropriée des souches, des prélèvements biologiques et données associées pour une utilisation spécifique et (ii) à la qualité non-infectieuse du matériel biologique.

L'interdiction de l'utilisation du matériel biologique sur l'homme et sur les animaux, le cas échéant, est également stipulée dans l'accord. Enfin, le CNRR n'assume aucune responsabilité quant à l'utilisation du matériel biologique par le partenaire.

4. Liste des techniques recommandées par le CNRR

L'établissement du diagnostic définitif de rage est réalisé au stade *post-mortem* sur des prélèvements cérébraux (humains et animaux) par trois techniques reconnues et référencées par l'OMS et l'OIE : (i) l'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 (FAT), (ii) l'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins (RTCIT), (iii) la détection d'antigènes rabiques par test immuno-enzymatique adapté du RREID (WELYSSA). Ces trois techniques sont réalisées et recommandées par le CNRR.

Le diagnostic *intra-vitam* de la rage chez l'homme est réalisé par RT-PCR et RT-qPCR à partir de la salive, du LCR et des biopsies de peau et éventuellement par la recherche d'anticorps antirabiques dans le sérum et le LCR par séroneutralisation et par test immunoenzymatique. Ces éléments sont rappelés sur le site web du CNRR (<http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-reference/les-cnr/rage>).

Annexe 3

Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2016.
(Tous ces animaux proviennent de France métropolitaine)

ESPECE	NOMBRE RECU	POSITIF	ANNULE
ANIMAUX DOMESTIQUES			
CHAT	657		
CHIEN	643		
EQUIN	2		
FURET	8		
COCHON D'INDE	1		
ANIMAUX SAUVAGES			
CHEVREUIL	1		
FOUINE	6		
LOIR	1		
CERF	1		
MARTRE	1		
RENARD	11		
SINGE	1		
INSECTIVORES			
CHAUVE-SOURIS	16	1	
RONGEURS et LAGOMORPHES			
ECUREUIL	3		
RAT	5		
RATON-LAVEUR	2		
RONGEUR DIVERS	1		1
TOTAL	1 360	1	1

Tableau AIII: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2016.

DEPARTEMENTS		ANIMAUX DOMESTIQUES			ANIMAUX SAUVAGES		
		NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS
01	AIN	33					
02	AISNE	18			1		
03	ALLIER	12					
04	ALPES DE HAUTE PROVENCE	7					
05	HAUTES-ALPES	3					
06	ALPES-MARITIMES	5			1		
07	ARDECHE*	5					
08	ARDENNES	12					
09	ARIEGE	2					
10	AUBE	15					
11	AUDE	9					
12	AVEYRON	7					
13	BOUCHES-DU-RHONE	24			1		
14	CALVADOS	15					
15	CANTAL	2					
16	CHARENTE	8			1		
17	CHARENTE MARITIME	10					
18	CHER	11			1		
19	CORREZE	2					
20	CORSE	3					
21	COTES D'OR	18			2		
22	COTES D'ARMOR	22			1		
23	CREUSE	2					
24	DORDOGNE	8					
25	DOUBS	5					
26	DROME	13					
27	EURE	16					
28	EURE & LOIR	3			3		
29	FINISTERE	36			2		
30	GARD	8			1		
31	HAUTE-GARONNE	33			1		
32	GERS	3					
33	GIROUDE	24					
34	HERAULT	41					
35	ILLE & VILAINE	21					
36	INDRE	3					
37	INDRE & LOIRE	15					
38	ISERE	16			1		
39	JURA	8			1		
40	LANDES	7					
41	LOIR & CHER*	6					
42	LOIRE	27					
43	HAUTE-LOIRE	9			1		
44	LOIRE ATLANTIQUE	20			4		

*

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	12			1		
46	LOT	9					
47	LOT & GARONNE*	8					
48	LOZERE	0					
49	MAINE & LOIRE	15			2		
50	MANCHE	7					
51	MARNE	10			1		
52	HAUTE-MARNE	4					
53	MAYENNE	5			1		
54	MEURTHE-ET-MOSELLE	20					
55	MEUSE	9					
56	MORBIHAN	24					
57	MOSELLE	14			1		
58	NIEVRE	5					
59	NORD	23					
60	OISE*	23			3		
61	ORNE	3					
62	PAS-DE-CALAIS	12			2		
63	PUY-DE-DOME	14			1		
64	PYRENEES ATLANTIQUES	24			4		
65	HAUTES PYRENNES*	2					
66	PYRENEES ORIENTALES	7					
67	BAS-RHIN	24					
68	HAUT-RHIN	42			2		
69	RHONE	27			1		
70	HAUTE-SAONE	7					
71	SAONE & LOIRE	20					
72	SARTHE	10			1		
73	SAVOIE	13					
74	HAUTE-SAVOIE	25					
76	SEINE-MARITIME	26			1		
79	DEUX-SEVRES	10					
80	SOMME	7					
81	TARN	19					
82	TARN & GARONNE	8					
83	VAR	10			2		
84	VAUCLUSE	10			1		1
85	VENDEE	22					
86	VIENNE*	6					
87	HAUTE-VIENNE	13			1		
88	VOSGES	14					
89	YONNE	6			1		
90	TERRITOIRE DE BELFORT	2					
REGION PARISIENNE :							
75	PARIS	17			1		
77	SEINE & MARNE	33				1	
78	YVELINES	11			1		
91	ESSONNES	16					
92	HAUTS DE SEINE	13					
93	SEINE ST-DENIS	36					
94	VAL DE MARNE	29					
95	VAL D'OISE	14					
TOTAL		1 308	0	0	51		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.