

Rapport d'activité Année 2008



Directeurs:

Y. Rotivel

H. Bourhy

Directeurs-adjoints:

M. Goudal

L. Dacheux

Secrétariat:

E. Martin

Unité Postulante de Recherche et d'Expertise "Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte"

Centre Médical

Institut Pasteur

Table des matières

1	Introdu	ction	4
1.1	Rappe	el des missions et objectifs majeurs du CNR pour la Rage (CNRR)	4
1 2		né des activités du CNRR pour l'année 2008	
	•	de la structure du CNRR	
2.1	Effect	if et Qualification du personnel du CNRR	
	2.1.1	Organigramme général	
	2.1.2	Effectif par catégorie de fonction	
	2.1.3	Personnel technique	
	2.1.4	Personnel cadre	7
2.2	Locau	x et équipements du CNRR	8
	2.2.1	Locaux	8
		2.2.1.1 Locaux de l'UPRE DyLAH (utilisés par le CNRR)	8
		2.2.1.2 Locaux spécifiquement affectés au CNRR (infrastructures au sein du Centre Médical	
	2.2.2	Matériel et équipement actuels de la structure	8
3	Miso on	place de la démarche Qualité au sein du CNRR	a
		d'expertise	
		ité technique du CNRR	
4.1	_		
	4.1.1	1	
		4.1.1.1 Techniques disponibles	و 9
		4.1.1.1.1 Techniques de diagnostic <i>post-mortem</i>	
		4.1.1.1.2 Techniques de diagnostic <i>intra-vitam</i>4.1.1.1.3 Typage des isolats	10
			10
	412	4.1.1.2 Techniques en développement Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles	
	4.1.2	4.1.2.1 Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine	
		4.1.2.1 Banque de données N°1 : Annhaux suspects de contamination numaine 4.1.2.2 Banque de données N°2 : Suspicions de rage humaine et suivi sérologique	
		4.1.2.2 Banque de données N°2 : Suspicions de rage numanie et survi serologique 4.1.2.3 Banque de données N°3 : Consultations et traitements antirabiques	
		4.1.2.4 Aspects réglementaires et légaux	
	4.1.3		
	4.1.3	4.1.3.1 Descriptions et conditions de stockage	
		4.1.3.1 Descriptions et conditions de stockage	
	<u> 1</u> 1 1	Liste des techniques recommandées par le CNRR	
	-⊤.1†	4.1.4.1 Liste existante	
		4.1.4.2 Travaux d'évaluation des techniques	
		1.1.1.2 Travaux a evaluation des techniques	_ ⊥⊣

4.2	Activit	és d'expertise de l'année 2008 : Diagnostic de la rage en France	14
	4.2.1	Chez les animaux suspects de contamination humaine	14
	4.2.2	Chez l'homme	
	4.2.3	Analyses sérologiques	
5 A	\ctivités	de surveillance	20
5.1		llance de l'évolution et des caractéristiques des infections	
0.1	5.1.1	Descriptions des circuits de surveillance et analyses épidémiologiques	
		5.1.1.1 Circuit humain	
		5.1.1.1.1 Suspicions de rage humaine	20
		5.1.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine	22
		5.1.1.2 Circuit animal	25
	5.1.2	Conclusions	
		5.1.2.1 Surveillance de la rage animale en France	26
		5.1.2.2 Prophylaxie de la rage humaine en France	27
5.2	Détecti	on et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux	27
5.3		bution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens	
5.4	Enquê	tes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	29
	5.4.1	Etude de la couverture vaccinale des chiroptérologues	
	5.4.2	Développement et standardisation des techniques de diagnostic <i>intra-vitam</i> de la rage	
	5.4.3	Risque de transmission de la rage des chiroptères aux mammifères domestiques	
6 A	lortos		30
		d'informations, de formation et de conseil	
		on des résultats - Impact national et international du CNRR	
7.2	Centra	lisation et diffusion des données sur la prophylaxie de la rage chez l'homme	31
7.3	Echan	ge de données au niveau international	31
7.4	Activit	és de conseil aux professionnels	31
, • •	7.4.1	Enseignement	
	7.4.2	Stagiaires	
	7.4.3	Elaboration de guide	
	7.4.4	Invitations à des réunions d'experts	
8 T	"ravaur	de recherche en lien direct avec l'activité du CNRR	
		sur l'évolution et l'adaptation des lyssavirus	
		ches sur l'épidémiologie et la physiopathogénie des lyssavirus de chauves-sour	
8.3		ele de la rage en Afrique du Nord	

8.4	Collabo	ration Plate-forme Santé publique et CNRR	35
8.5	Standar	disation des techniques de diagnostic de la rage	35
8.6	Dévelor	ppement de la surveillance, du traitement et de la prévention de la rage en Af	frique
0.0	-	est et du centre	•
8.7	Analyza	e de l'impact d'une alerte sur l'activité du CNRR et des CAR	26
	•	publications et communications	
9.1	Publica	tions nationales	36
9.2	Publica	tions internationales	36
9.3	Commu	mications nationales	38
9.4	Commu	ınications internationales	38
9.5	Confére	ences sur invitations	39
10	Program	nme d'activité 2009-2010	39
10.	1 Introdu	ction	39
10.	2 Diagnos	stic de la rage en France: Rapidité, Fiabilité et Qualité	39
	10.2.1	Maintien de la démarche Qualité au CNRR	40
	10.2.2	Amélioration des techniques de diagnostic de la rage	40
	10.2.3	Développement de la surveillance, du traitement et de la prévention de la rage en Afrique	
		l'ouest et du centre	40
10.	3 Contrib	oution à la surveillance et rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial	40
	10.3.1	Processus d'alerte en cas de diagnostic positif	
	10.3.2	Coordination entre le CNRR et les CAR	41
10.	4 Evaluat	ion des risques, des thérapeutiques, recommandations	
	10.4.1	Mesures générales	
	10.4.2	Cas particulier de la prévention de la rage chez les chiroptérologues	
	10.4.3	Contribution à la surveillance européenne et internationale	41
11		ion	
11.	1 Importa	ance de l'activité du CNRR en santé publique	42
11.	2 Importa	ance de l'activité du CNRR à l'échelle internationale	42
11.	3 Evolutio	on de l'épidémiologie de la rage	42
12	Faits me	arquants en 2008	43
13	Annexes	s (à diffuser)	45
Rési	umé du r	apport d'activité 2008	48

1 Introduction

1.1 Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR pour la Rage (CNRR)

Le Centre National de Référence pour la Rage (CNRR), situé dans l'Unité Postulante de Recherche et d'Expertise "Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte" (UPRE DyLAH) et au Centre Médical à l'Institut Pasteur à Paris, exerce depuis longtemps un rôle majeur dans la prophylaxie de la rage humaine en France. Depuis 1968 (date de la réintroduction de la rage en France), il 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), centralise et analyse les données concernant le nombre et la nature des consultations et traitements antirabiques 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.

L'arrêté du 16 mars 2006 relatif aux Centres Nationaux de Référence pour la lutte contre les maladies transmissibles, complété par celui du 22 janvier 2009, a renouvelé le mandat du CNRR situé à l'Institut Pasteur. Le cahier des charges spécifiques, défini par l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence, demande au Centre National de Référence pour la Rage de respecter les missions définies par l'arrêté du 29 novembre 2004 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, Afssa-Nancy, etc.),
- Contribuer à l'alerte en signalant à l'Institut de veille sanitaire 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 l'Institut de veille sanitaire 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 l'Institut de veille sanitaire 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.

1.2 Résumé des activités du CNRR pour l'année 2008

La prophylaxie de la rage humaine en France se complexifie du fait des nouveaux aspects de l'épidémiologie et de la possibilité de survenue d'un cas n'importe où sur le territoire français, ce qui nécessite une formation et une information de tous les acteurs.

Au cours de l'année 2008, le CNRR a reçu et analysé un total de 1928 prélèvements animaux liés à une suspicion de transmission de rage animale à l'homme. Parmi ces prélèvements, six se sont révélés positifs au laboratoire. Trois de ces cas concernaient des chauves-souris (sérotine commune ou *Eptesicus serotinus*) originaires, par ordre chronologique, de Vendée (85), de l'Isère (38) et de l'Yonne (89). Le typage de la souche isolée de la première chauve-souris diagnostiquée positive (dept. 85) en 2008 a mis en évidence un lyssavirus de génotype 5 (European Bat Lyssavirus type 1 ou EBLV-1) de sous-type a (EBLV-1a). Le séquençage puis l'analyse du génome complet de cette souche ont démontré qu'elle était génétiquement très proche du lyssavirus EBLV-1a isolé chez un chat domestique (*Felis silvetris catus*) diagnostiqué enragé en 2007 dans la même commune. Le typage viral des lyssavirus isolés chez les deux autres chauves-souris (dept. 38 et 89) a démontré qu'il s'agissait respectivement d'un virus EBLV-1a et EBLV-1b, proches des autres lyssavirus de même soustype précédemment isolés en France métropolitaine. Il est à noter que le sous-type viral EBLV-1b représente le sous-type majoritairement retrouvé chez les chauves-souris insectivores en France.

Les trois autres cas de rage animales ont concerné des cas de rage chez des chiens importés illégalement en France. Ainsi, un premier cas de rage canine a été mis en évidence en février 2008 chez un chien originaire de Seine-et-Marne (77). Cet épisode a conduit à l'identification rétrospective d'une chaîne de transmission de rage canine autochtone (deux cas successifs de transmission de rage sur le territoire français) suite à l'importation d'un chien enragé du Maroc, et entraîna la perte pour la France du statut de pays indemne de rage terrestre des animaux non-volants. En avril 2008, un nouveau cas de rage canine a été identifié chez un chien introduit illégalement en Belgique puis dans le Var (83) en France à partir de la République de Gambie. Enfin, en novembre 2008, un diagnostic positif de rage a été réalisé chez un chien vivant en Isère (38), et ayant été adopté sur un parking à Malaga en Espagne. Le typage du virus a démontré qu'il s'agissait d'une souche provenant du Maroc très proche de souches circulant dans la région Nord (dans les villes d'Al Hoceima, Taounate et Taza), et particulièrement proche d'isolats ayant infecté le territoire espagnol de Melilla.

Parallèlement à ces cas de rage animale, 11 cas de suspicions de rage humaine ont été reçus et analysés au CNRR en 2008 pour des patients présentant des signes d'encéphalites sans étiologie connue. Une d'entre elles s'est révélée positive en mai 2008 pour un résident guyanais décédé au Centre Hospitalier de Cayenne dans un tableau de méningo-encéphalite. Le typage de la souche virale a permis d'identifier chez ce patient une infection par un lyssavirus de type desmodin provenant d'une chauve-souris hématophage, un virus enzootique dans cette région du monde. Il s'agit du premier cas humain de ce type identifié dans le département de la Guyane.

Enfin, en dépit de ce contexte épidémiologique chargé, un audit de surveillance réalisé par le COFRAC le 18 février 2008 a permis de maintenir l'accréditation du CNRR (N° d'accréditation 1-1692, référentiel ISO 17025) pour la réalisation des techniques de détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de bulbe ou de cortex et d'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins.

D'après les données recueillies début mars 2009 par le CNRR, le nombre de consultants des CAR en France était de 7060 patients. Au total, 46 sur les 64 CAR existants ont adressé leurs données au CNRR, dont 36 en

utilisant le logiciel Voozanoo (société Epiconcept). Pour l'année 2007, le CNRR avait reçu et analysé les données transmises par 52 CAR, représentant au total 7692 patients. Selon les données partielles disponibles, le pourcentage des consultants ayant reçu un traitement antirabique post-exposition en 2008 (49%) est en légère augmentation par rapport à l'année 2007 (47%). Dans 90% des cas, le contact avec un animal considéré comme suspect de rage a eu lieu en France. Pour 17,5% des patients traités, une séro-vaccination a été mise en place et aucun patient n'a reçu de sérum seul. Le vaccin préparé sur cellules Vero (PVCV) a été utilisé dans 99,5% des traitements. Enfin, seuls 0,6% des patients ont reçu un traitement antirabique post-exposition après avoir été en contact avec un animal diagnostiqué positif au laboratoire. Concernant les données du CAR de Paris, ce dernier a reçu 20% des consultants des CAR français. Un total de 64% de ces consultants a reçu un traitement antirabique post-exposition. Ce taux élevé de traitements mis en place, comparé à la moyenne nationale, est lié à deux facteurs principaux. D'une part, le CAR de Paris a pris en charge les patients exposés au cas de rage canine importée du Maroc et identifiée en Seine-et-Marne (77) en février 2008. Suite à cet épisode, 168 patients (dont 147 enfants) ont reçu un traitement antirabique post-exposition (soit 91% des consultants liés à ce cas). D'autre part, plus de 50% des sujets mordus à l'étranger ont consulté le CAR de Paris et 89% d'entre eux ont reçu un traitement.

2 Moyens de la structure du CNRR

Les informations concernant le personnel et les moyens techniques mis à disposition pour la réalisation des activités du CNRR sont identiques à celles largement décrites dans l'appel à candidature pour son renouvellement pour la période 2006-2009 ainsi que dans la demande de subvention annuelle. Ces différents éléments seront donc rappelés dans ce rapport de façon synthétique.

2.1 Effectif et Qualification du personnel du CNRR

2.1.1 Organigramme général

Le CNRR est localisé à l'Institut Pasteur de Paris dans deux entités distinctes, rattachées toutes les deux au Département "Infection et Epidémiologie", et réalisant des activités spécifiques en étroite collaboration :

- l'UPRE DyLAH dirigée par le Dr. Vet Hervé Bourhy. Cette unité regroupe 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.
- le CAR situé dans le Centre Médical de l'Institut Pasteur. Ce CAR est placé sous la responsabilité du Dr. Yolande Rotivel. Il s'occupe essentiellement des consultations antirabiques ainsi que la coordination et la formation des médecins des CAR régionaux. Il coordonne, centralise et répond aux questions sur la rage humaine et sa prophylaxie et aux demandes, notamment de formation, concernant la prophylaxie de la rage humaine en France et dans le monde.

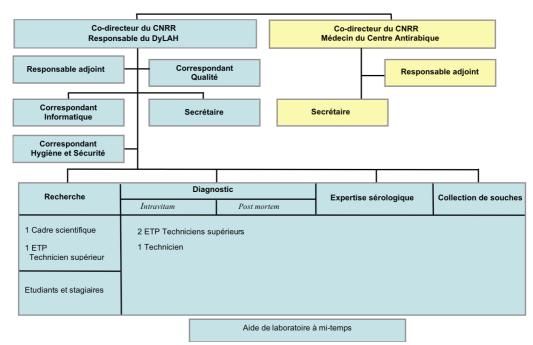


Figure 1 : Organigramme général du CNRR

2.1.2 Effectif par catégorie de fonction

Tableau I: Effectif par catégorie de fonctions

	Sci./biol.	Ing.	Tech	Ag. Tech.	Adm.
Effectif de la structure de Recherche (Nombre de postes)	3+2		4	1	1
Dont pour le CNR (en Equivalent Temps Plein ETP estimés)	1,3		1	0,2	0,7

2.1.3 <u>Personnel technique</u>

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

- Trois techniciens supérieurs titulaires d'un BTS
- Un technicien avec un diplôme d'opérateur de laboratoire
- Une aide de laboratoire
- Une secrétaire

2.1.4 Personnel cadre

Le personnel cadre est composé de deux co-directeurs: Yolande ROTIVEL (médecin) et Hervé BOURHY (vétérinaire et biologiste) et de deux directeurs adjoints: Maryvonne GOUDAL (médecin) et Laurent DACHEUX (pharmacien).

2.2 Locaux et équipements du CNRR

2.2.1 Locaux

2.2.1.1 Locaux de l'UPRE DyLAH (utilisés par le CNRR)

Locaux administratifs:

- Bureaux pour les 6 personnes (4 techniciens + 2 scientifiques)
- Secrétariat

Laboratoires:

- 1 Laboratoire P3 (laboratoires, animalerie, local technique en partage pour les congélateurs)
- 1 Laboratoire P2
- 2 Laboratoires P1
- 1 Laboratoire de microscopie
- 1 Laboratoire de préparation en partage

2.2.1.2 Locaux spécifiquement affectés au CNRR (infrastructures au sein du Centre Médical)

Locaux administratifs:

- Bureaux pour les 2 médecins (nécessaires pour assurer les conseils et les suivis médicaux, pour le stockage temporaire des archives et des dossiers médicaux dans un local avec un accès contrôlé)
- Secrétariat

2.2.2 <u>Matériel et équipement actuels de la structure</u>

Matériel et équipement utilisés en partage avec l'UPRE DyLAH

- Laboratoires réglementaires de confinement pour la manipulation des lyssavirus
- 5 congélateurs -80°C
- 5 postes de sécurité microbiologique
- 3 étuves à CO_2
- 3 containeurs à azote liquide
- 2 microscopes à immunofluorescence
- 1 lecteur de microplaques
- 2 microscopes inversés
- 5 centrifugeuses réfrigérées
- 5 thermocycleurs (dont 1 appareil de PCR en temps réel)
- Générateurs et cuves à électrophorèse

Moyens extérieurs à la structure / Structures transversales

- Animalerie des agents pathogènes
- Plate-forme Génomique (PF1)
- Plate-forme Puces à ADN (PF2)
- Plate-forme Santé Publique (PF8)

- CRBIP
- Infrastructures du Centre Médical en partage: bureau de consultation, salle de soin et salle d'attente, téléphone, accueil

3 Mise en place de la démarche Qualité au sein du CNRR

La mise en place de l'Assurance-Qualité dans les CNR est, depuis l'année 2000, un objectif prioritaire de la Direction de l'Institut Pasteur. La Direction déléguée à l'hygiène, la sécurité, la qualité, l'environnement (HSQE) et au développement durable de l'Institut Pasteur coordonne cette action. Le Service Formation assure des formations à la gestion de la Qualité adaptées aux besoins spécifiques, et de nombreux services support de l'Institut Pasteur (tel le service du Matériel Scientifique, le service de Logistique Externe, le service Exploitation-Maintenance, etc.) appuient le CNRR de leurs prestations.

Le fonctionnement du CNRR est conforme au GBUI (Guide de Bonne Utilisation de l'Informatique) depuis 2003. Un correspondant Qualité chargé d'animer la démarche Qualité au sein du laboratoire a été nommé parmi le personnel du CNRR. Les membres de l'équipe du CNRR ont suivi les formations à la norme ISO 17025 et, pour certains d'entre eux, à des domaines plus spécifiques: métrologie, audit, gestion documentaire, etc. Le laboratoire du CNRR s'est engagé dans une démarche d'accréditation (référentiel ISO 17025) des techniques de diagnostic de la rage auprès du COFRAC, lui permettant d'acquérir une reconnaissance nationale et internationale en matière de Qualité. En 2005, le COFRAC a réalisé un audit initial d'accréditation les 7 et 8 novembre pour les techniques de détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de bulbe ou de cortex et d'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins. Le résultat de cet audit initial a conduit à l'accréditation du CNRR pour ces deux techniques le 1^{er} février 2006 (N° d'accréditation 1-1692). Un audit de surveillance réalisé par le COFRAC a été effectué le 18 février 2008 et a conclu au maintien de cette accréditation. Parallèlement, les locaux de soins du Centre Médical de l'Institut Pasteur bénéficient de l'agrément des autorités de Santé et sont visités régulièrement par celles-ci conformément à la législation.

4 Activité d'expertise

4.1 Capacité technique du CNRR

4.1.1 <u>Liste des techniques de référence</u>

4.1.1.1 Techniques disponibles

4.1.1.1.1 Techniques de diagnostic post-mortem

Les prélèvements cérébraux humains et animaux reçus pour suspicion de rage *post-mortem* sont examinés systématiquement suivant trois techniques référencées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Office International des Epizooties (OIE):

- 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 (technique Fluorescent Antibody Test ou FAT),

- l'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins (technique Rabies Tissue Culture Infection Test ou RTCIT),
- la 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 toutefois être réalisées en utilisant des méthodes alternatives (techniques immunohistochimiques ou de biologie moléculaire).

4.1.1.1.2 Techniques de diagnostic intra-vitam

Le diagnostic *intra-vitam* de la rage chez l'homme est réalisé par 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 PlateliaTM Rabies II Kit, Bio-Rad) ainsi que par la mise en évidence de l'ARN viral par RT-PCR à partir de la salive, des urines, du LCR et des biopsies de peau. Le CNRR dispose d'amorces oligonucléotidiques permettant de détecter l'ensemble des génotypes des lyssavirus (y compris les virus des chauves-souris européennes).

4.1.1.1.3 Typage des isolats

Tous les isolats de lyssavirus identifiés par le CNRR font l'objet d'un séquençage partiel ou total des gènes de la nucléoprotéine, de la glycoprotéine et de la polymérase, voire du génome viral complet. La détermination de ces séquences conduit à l'analyse phylogénétique et à la caractérisation de l'isolat du point de vue de son génotype, de son origine géographique probable dans le cas d'une importation et parfois de son biotype d'origine (espèce animale responsable du maintien du cycle épidémiologique).

4.1.1.2 Techniques en développement

Le CNRR a poursuivi au cours de l'année 2008 le développement d'une technique d'amplification et de détection en temps réel (qPCR) des ARN viraux dans les prélèvements biologiques. La détermination de la sensibilité et la spécificité des couples d'amorces nucléotidiques sélectionnées, permettant la détection des lyssavirus appartenant au génotype 1 (à l'origine de la quasi-totalité des cas de rage humaine et animale au niveau mondial) et ceux issus des autres génotypes (génotypes 2 à 7), a été finalisée ainsi que les conditions techniques optimales d'utilisation de ces couples d'amorces. Au cours de l'année 2008, une sélection de différents prélèvements biologiques "de terrain" a été initiée afin de procéder à une validation des conditions expérimentales de réalisation de cette technique de détection d'ARN viraux rabiques par qPCR.

4.1.2 <u>Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles</u>

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),

et enfin les informations concernant les consultations et les traitements antirabiques effectués dans les CAR en France (banque de données N°3). L'ensemble de ces données peuvent ensuite être analysé par le CNRR et l'UPRE DyLAH à l'aide de logiciels spécialisés de type Stata. Le CNRR dispose aussi d'une base de données de séquences nucléotidiques sur de nombreux gènes de lyssavirus obtenues dans le cadre d'activités de recherche et très fortement approvisionnée par sa large collection d'isolats ainsi que par ses nombreuses collaborations avec des collègues du monde entier. Le CNRR dispose, en plus des données de séquences, de l'ensemble des données spatio-temporelles ainsi que de l'espèce 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.

4.1.2.1 Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine

Les Directions Départementales des Services Vétérinaires (DDSV) 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 DGAl/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, abattage, euthanasie), 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.

4.1.2.2 Banque de données N°2 : Suspicions 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, ou transmises via les CAR locaux. Les informations recueillies par le CNRR 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, age, signes cliniques, 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).

4.1.2.3 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 (64) et les antennes antirabiques (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 : age, sexe, date d'exposition, commune, département et pays où ont 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, compliance au traitement, tolérance au traitement. Les données cidessous sont saisies et analysées à l'aide du logiciel Voozanoo (société Epiconcept).

4.1.2.4 Aspects réglementaires et légaux

La surveillance de la rage animale et humaine est inscrite dans les missions du CNRR depuis 1982. Le mandat du CNRR a été renouvelé pour la période 2006-2009. Les banques de données N°1 et N°3 ont été décrites et déclarées par le CNRR à la CNIL en 1996 et ont fait l'objet d'une autorisation. L'exploitation de ces banques de données à des fins épidémiologiques est inscrite dans ces dossiers. Les déclarations comportent la description des locaux, logiciels et ordinateurs utilisés ainsi que leur protection et restriction d'accès. Une demande d'avis pour le traitement automatisé des données nominatives a été déposée en 2006 pour les trois banques auprès du CCTIRDS. Un avis négatif a été obtenu au cours de l'année 2007. Un dossier de soumission globale des banques de données des CNR en tenant compte de leur spécificité est toujours en cours de constitution avec l'InVS et sera à terme soumis à la CNIL. Egalement, en terme d'anonymat, il convient de préciser qu'il n'existe pas d'identifiant concernant la banque de données N°3 pour les consultations et traitements antirabiques. En ce qui concerne la banque de données N°1 pour les animaux suspects de contamination humaine, les données sont recueillies au travers du formulaire de commémoratif type. Enfin, 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 2008 le recensement de sa collection d'échantillons biologiques humains (banque de données N°2) au cours de la campagne de recensement lancée par l'Institut Pasteur depuis avril 2007. Le dossier initial de déclaration des activités de préparation et/ou conservation à des fins scientifiques de cette collection est en cours de soumission auprès du Comité de Protection des Personnes (CPP) et du Ministère de la Recherche. Il est important de noter également que les analyses plus poussées faite par le CNRR et faisant appel à l'utilisation de ses bases de données font l'objet au préalable d'un dépôt de protocole de recherche biomédicale sur données personnelles et d'une demande d'acceptation selon une procédure interne à l'Institut Pasteur.

4.1.3 Collections de souches, prélèvements et sérums de référence

4.1.3.1 Descriptions et conditions de stockage

La collection de virus rabiques du CNRR comporte environ 2050 isolats (dont 344 collectés en 2008) provenant de plus de 80 pays étrangers différents. Cette collection s'accroît d'année en année. Environ 75% 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 sont intégralement conservés comme précédemment décrits. 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 240 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 2700 sérums) provenant de demande de titrage d'anticorps antirabiques ou d'expertises, ainsi qu'une collection de près de 1150 sérums de chauves-souris collectés sur le terrain au travers de diverses études épidémiologiques. Ces échantillons sont conservés à -20°C.

4.1.3.2 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 dans le Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP) a été réalisée en 2006. Cette collection de virus est actuellement gérée sous assurance Qualité (certification ISO 9001 version 2000) puis sera soumise à l'accréditation COFRAC (norme ISO 17025). Une caractérisation complète des souches est proposée au travers de leur identification précise par séquençage des gènes 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 : http://www.crbip.pasteur.fr/. Aucune distribution de souches n'a été effectuée au cours de l'année 2008.

Concernant la cession et l'utilisation des échantillons biologiques humains du CNRR (banque de données N°2), un dossier de demande d'autorisation de préparation et de conservation d'échantillons issus du corps humain à but de cession devra être déposé par le CNRR auprès du CPP et du Ministère de la Recherche. De plus, l'utilisation de ces échantillons devra 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.

4.1.4 <u>Liste des techniques recommandées par le CNRR</u>

4.1.4.1 Liste existante

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 (WELYSSA). Ces trois techniques sont réalisées et recommandées par le CNRR. L'isolement du virus sur souriceaux nouveau-nés (Mouse Inoculation Test ou MIT) est également pratiqué dans de nombreux centres de diagnostic internationaux. Suivant les indications de l'OMS et de l'OIE, le CNRR a cherché à promouvoir le remplacement de cette technique (longue en termes d'obtention de résultat et utilisant des animaux de laboratoire) par la technique d'isolement viral sur culture cellulaire (plus rapide et utilisant des lignées cellulaires), notamment en facilitant la mise en place de cette technique localement dans plusieurs Instituts du Réseau International des Instituts Pasteur (au travers d'un projet d'Action Concertée InterPasteurienne ou ACIP qui a débuté en 2006).

Le diagnostic *intra-vitam* de la rage chez l'homme est réalisé par RT-PCR à partir de la salive, des urines, 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.

.....

4.1.4.2 Travaux d'évaluation des techniques

Les résultats issus de la collaboration initiée en 2004 avec les Centres Nationaux de Référence pour la rage situés au Cambodge, à Madagascar et au Sénégal afin de développer et de standardiser dans ces pays les techniques de diagnostic *intra-vitam* de la rage chez l'homme, ont été finalisés et publiés au cours de l'année 2008 (Dacheux *et al.*, 2008). Un total de 51 patients ont été inclus, dont 32 patients pour lesquels le diagnostic de rage *post-mortem* a pu être établi. Au cours de cette étude, 425 prélèvements biologiques ont été collectés (de type salive, urine, sérum, biopsie de peau et de cerveau). Après analyses finales des résultats obtenus, cette étude a permis de définir un protocole biologique simple basé sur des prélèvements peu ou pas invasifs (notamment par l'analyse de biopsies de peau prélevées au niveau de la nuque et de salives collectées séquentiellement chez les patients) et présentant une sensibilité de plus de 98%.

Egalement, une étude comparative randomisée afin de déterminer l'efficacité d'un nouveau schéma de vaccination antirabique par voie intradermique a été finalisée et publiée au cours de cette période, en collaboration avec le Churchill Hospital d'Oxford, Royaume-Uni, et l'OMS à Genève, Suisse (Warrel *et al.*, 2008).

4.2 Activités d'expertise de l'année 2008 : Diagnostic de la rage en France

4.2.1 <u>Chez les animaux suspects de contamination humaine</u>

Tous les prélèvements animaux sont adressés par les Directions Départementales des Services Vétérinaires (DDSV), 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 2008, le CNRR a reçu un total de 1928 prélèvements animaux, ce qui correspond au nombre de diagnostics le plus important réalisé depuis sept ans (Fig. 2).

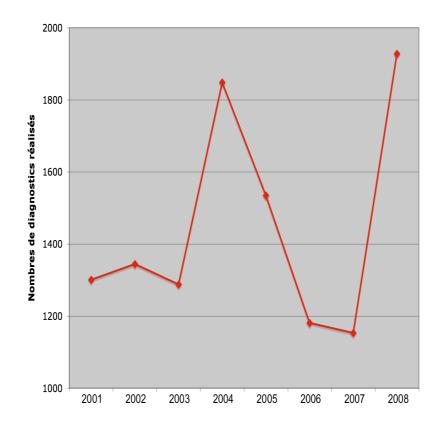


Figure 2: Nombre de diagnostic animaux réalisés par an au CNRR depuis 2001.

Parmi les 1928 prélèvements animaux analysés au CNRR en 2008, 1859 échantillons sont originaires de France métropolitaine (Tableau II), 29 prélèvements proviennent de l'étranger et ont été reçus par l'intermédiaire d'une Direction Départementale ou d'un Laboratoire des Services Vétérinaires français (Tableau III) et 37 prélèvements sont originaires des DOM (Tableau IV).

Tableau II: Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2008.

	NEGATIFS	POSITIFS	IMPOSSIBLES	TOTAL
Animaux domestiques	1705	1	3	1709
Animaux sauvages	143	3	4	150
TOTAL	1848	4*	7**	1859

^{*} Positifs: ces animaux correspondent à 1 chien domestique (Canis lupus familiaris) et à 3 chauves-souris (sérotine commune ou Eptesicus serotinus).

^{**} Impossibles: absence de matière cérébrale pour 6 animaux (3 chauves-souris, 1 chien, 1 chat domestique et 1 rat sauvage), prélèvement putréfié pour 1 animal (1 chat domestique) et prélèvement formolé pour 1 animal (chien). L'état des prélèvements issus des 3 chauves-souris a cependant permis une recherche d'ARN viraux par RT-PCR qui s'est révélée négative. Des examens histopathologiques et immunohistochimiques ont été réalisés sur le prélèvement cérébrable formolé de chien et ont été retrouvés négatifs.

Tableau III: Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2008 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale ou d'un Laboratoire des Services Vétérinaires.

PAYS	Type d'animal	RESU	RESULTATS				
PATS	rype u ammai	Organisme intermédiaire	NEGATIFS	POSITIFS			
ALGERIE	Chat	DDSV Bouches-du-Rhône (13)	1				
AUTRICHE	Chien	LVD Loire (42)	1				
BELGIQUE	Chat	LDA Vaucluse (84)	1				
BRESIL	Chienª	DDSV Guyane (973)	1				
EGYPTE	Chat ^a Chien ^a	DDSV Hauts-de-Seine (92) DDSV Hauts-de-Seine (92)	1 1				
ESPAGNE	Chien ^a	DDSV Isère (38)		1			
HONGRIE	Chien	DDSV Val-de-Marne (94)	1				
LUXEMBOURG	Chat	LCAM Moselle (57)	1				
MAROC	Chat ^a Chien ^a Chien ^a Chien ^a	LAGOR Pyrénées-Atlantiques (64) LIDAL Haute-Savoie (74) DDSV Yvelines (78) LVD Rhône (69)	1 1 1				
PAYS-BAS	Chien	LDA Corse-du-Sud (20)	1				
REPUBLIQUE DE GAMBIE	Chien ^{a,*}	LDA Var (83)		1			
REPUBLIQUE TCHEQUE	Chien ^a Chien ^{a,**}	DDSV Yvelines (78) LDA Corse-du-Sud (20)	1 10				
SERBIE	Chien***	DDSV Essonne (91)	1				
SUISSE	Chien	LDA Gard (30)	1				
TUNISIE	Chat ^a	DDSV Val-de-Marne (94)	1				
	TOTAL						

Tableau IV: Résultats des prélèvements en provenance des départements d'outre-mer reçus en 2008.

	DOM	RESULTATS					
	DOM	NEGATIFS	POSITIF	IMPOSSIBLE	TOTAL		
GUADELOUPE	Chiens	3	0	0	3		
GUYANE	Bovins Chats Chiens Chauves-souris Souris	3 7 15* 3 1	0 0 0 0	0 0 1 0	3 7 16 3 1		
LA REUNION	Chiens	2	0	0	2		
MARTINIQUE	Chiens	2	0	0	2		
TOTAL		36	0	1	37		

^{*} dont 1 chien importé illégalemet du Brésil (déjà comptabilisé dans le tableau III).

^{*} Transit par la Belgique.

** Transit par le Luxembourg.

*** Transit par la Hongrie.

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

Les répartitions par espèce domestique ou sauvage et par résultat ainsi que celles par département et par résultat sont données dans les Tableaux V et VI (en annexe). Six prélèvements ont été trouvés positifs (Tableaux II et III). Trois d'entre eux concernaient des chauves-souris (sérotine commune ou Eptesicus serotinus) originaires, par ordre chronologique, de Vendée (85), de l'Isère (38) et de l'Yonne (89). Le typage de la souche isolée de la première chauve-souris diagnostiquée positive (dept. 85) en 2008 a mis en évidence un lyssavirus de génotype 5 (European Bat Lyssavirus type 1 ou EBLV-1) de sous-type a (EBLV-1a). Le séquençage puis l'analyse du génome complet de cette souche ont démontré qu'elle était génétiquement très proche du lyssavirus EBLV-1a isolé chez un chat domestique (Felis silvetris catus) diagnostiqué enragé en 2007 dans la même commune. Le typage viral des lyssavirus isolés chez les deux autres chauves-souris (dept. 38 et 89) a démontré qu'il s'agissait respectivement d'un virus EBLV-1a et EBLV-1b, proches des autres lyssavirus de même soustype précédemment isolés en France métropolitaine. Les trois autres cas de rage animales ont concerné des cas de rage canine liées à des importations illégales. Le premier a été mis en évidence en février 2008 chez un chien originaire de Seine-et-Marne (77). Cet épisode a conduit à l'identification rétrospective d'une chaîne de transmission de rage canine autochtone (deux cas successifs de transmission de rage sur le territoire français) suite à l'importation d'un chien enragé du Maroc. En avril 2008, un nouveau cas de rage canine a été identifié chez un chien introduit illégalement en Belgique puis dans le Var (83) en France à partir de la République de Gambie. Enfin, en novembre 2008, un diagnostic positif de rage a été réalisé chez un chien vivant en Isère (38), et ayant été adopté sur un parking à Malaga en Espagne. Le typage du virus a démontré qu'il s'agissait d'une souche provenant du Maroc, et particulièrement proche d'isolats ayant infecté le territoire espagnol de Melilla.

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 2008, le CNRR a reçu 4 prélèvements animaux de ce type, qui se sont révélés négatifs (Tableau VII).

Tableau VII: Résultats des prélèvements en provenance directe de l'étranger reçus en 2008.

PAYS	Type d'animal	RESULTAT NEGATIF	RESULTAT POSITIF
AFGHANISTAN	Chien	1	0
EGYPTE	Chauves-souris*	2	0
PORTUGAL	Chien	1	0
TOTAL		1	0

^{*} Chauves-souris reçues dans le cadre d'un programme de recherche.

4.2.2 Chez l'homme

Les prélèvements humains sont recueillis et envoyés par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers. Il est demandé aux services hospitaliers d'envoyer divers prélèvements selon la nature de la demande de diagnostic : LCR, sérum, salives, urines 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 11 suspicions d'encéphalite rabique a été étudiée en 2008. A ce titre, 13 prélèvements de salive, 8 prélèvements d'urines, 12 sérums, 6 LCR, 4 biopsies de peau et 4 biopsies cérébrales ont été analysés (Tableau VIII). Une seule de ces suspicions s'est révélée positive (patient H080004). Elle concernait un résident guyanais décédé au Centre Hospitalier de Cayenne dans un tableau de méningo-encéphalite. La confirmation du diagnostic de rage a été réalisée le 28 mai 2008 par le CNRR, qui a identifié chez ce patient une infection par un lyssavirus de type desmodin circulant chezs les chauves-souris hématophages, un virus enzootique dans cette région du monde. Il s'agit du premier cas humain de ce type identifié dans le département de la Guyane. Parmi les 10 autres suspicions analysées en 2008, il est à noter également que l'une d'entre elles concernait un patient algérien (cas H080009) dont un prélèvement de sérum a été envoyé directement au CNRR par le Centre Hospitalier de Sétif en Algérie.

Comme les années précédentes, le nombre et la nature des prélèvements reçus par patient sont restés très irréguliers en 2008, notamment avec la réception d'un seul type de prélèvements biologiques (sérum, peu sensible pour le diagnostic de rage) pour 5 des 11 patients suspectés de rage. Le CNRR rappelle systématiquement aux services des Centres Hospitaliers confrontés à une suspicion de rage humaine de réaliser les différents types de prélèvements biologiques nécessaires au diagnostic (en particulier des prélèvements de salive et de peau), ceci au travers de la télétransmission d'une fiche récapitulative (remise à jour en 2008 afin de souligner l'importance des prélèvements de salive et de biopsie de peau) ou directement par téléphone.

<u>Tableau VIII: Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2008 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques.</u>

	_		PRELEVEMENTS BIOLOGIQUES					PRELEVEMENTS BIOL		RESULTATS
CODE PATIENT	HÔPITAL DEMANDEUR	Salive	Urines	Sérum	LCR	Biopsie de peau	Biopsie cérébrale	BIOLOGIQUES		
H080001	CHU Saint-Louis Paris (75)	4	4					Négatif		
H080002	GH Lariboisière-Fernand-Widal (75)	3	2	2		2	1	Négatif		
H080003	CHU Nice (06)						3	Négatif		
H080004	CH Cayenne (75)	3	2	3	4	1		Positif		
H080005	CHU Nice (06)	3		1		1		Négatif		
H080006	CHU Nancy (54)			3				Négatif		
H080007	CH Garches (92)			1				Négatif		
H080008	GH Lariboisière-Fernand-Widal (75)			1				Négatif		
H080009	CHU Setif (Algérie)			1*				Négatif		
H0800010	CHU Mont-de-Marsant (40)				1			Négatif		
H0800011	CH Garches (92)				1			Négatif		
	TOTAL	13	8	12	6	4	4			

^{*} Prélèvement (sang total, analyses faites par sérologie et RT-PCR) reçu directement du Centre Hospitalier de Sétif en Algérie.

4.2.3 <u>Analyses sérologiques</u>

Les anticorps antirabiques présents dans le sérum ou dans le LCR sont dosés par une technique immunoenzymatique (PlateliaTM Rabies II Kit, Bio-Rad) ou par séroneutralisation sur culture cellulaire (RFFIT). Le titrage des anticorps antirabiques sériques est effectué à titre gratuit pour les agents de l'Etat (personnel des Directions des Services Vétérinaires, etc.). Le CNRR assure également 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 BEH N°39 2001 des chauves-souris" publié dans le de disponible l'adresse http://www.invs.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 www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/cshpf/a mt 140105 rage.pdf). métropolitaine" l'adresse Cependant, il est à souligner qu'aucun sérum de ce type n'a été reçu en 2008 au CNRR. En 2008, les anticorps antirabiques ont été dosés dans 251 sérums ou LCR humains.

5 Activités de surveillance

5.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

5.1.1 <u>Descriptions des circuits de surveillance et analyses épidémiologiques</u>

Le CNRR est impliqué dans un important réseau national de partenaires impliqués dans la surveillance, et le cas échéant, dans le 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 deux types de circuits : l'un lié aux suspicions de rage humaine et à la prophylaxie de la rage humaine (circuit humain), le deuxième relié aux cas animaux susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme (circuit animal) (Fig. 3).

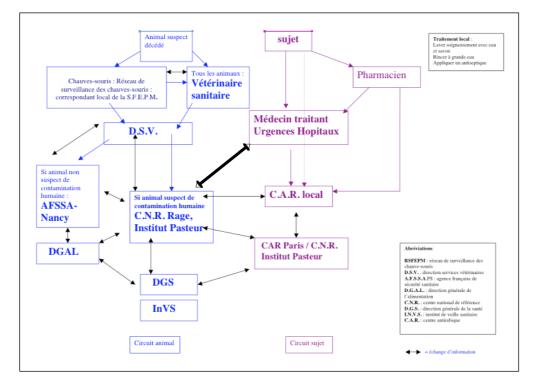


Figure 3: Description des circuits de surveillance de la Rage en France.

D'après Bourhy, H., Bruyère-Masson, V., Mailles A., Moutou, F. (2004). La lutte concertée contre la rage. Epidemiol. et santé anim., 46 : 45-55.

5.1.1.1 Circuit humain

5.1.1.1.1 Suspicions de rage humaine

Le CNRR 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, ou transmises via les CAR locaux. 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. En 2008, le nombre de suspicions de rage humaine traitées au CNRR est revenu à un niveau identique à celui enregistré avant 2007 (en 2007 un pic a été observé suite à l'enquête encéphalite menée par la SPILF et l'InVS) avec une dizaine de cas par an. Le type et le nombre de prélèvements (salive, urines, sérum, LCR et biopsie de peau) pour le diagnostic *intra-vitam* ou biopsie cérébrale et biopsie de peau pour le diagnostic *post-mortem*) reçus par patient pour analyse au CNRR restent très variables, dépendant de l'évolution clinique de ce patient mais également de l'intérêt des cliniciens à réaliser un diagnostic de rage. Néanmoins une fiche de renseignement est à leur disposition leur indiquant les prélèvements de choix.

Les délais de réponse du diagnostic *intra-vitam* sont variables suivant le type d'analyse entrepris. Il faut actuellement environ trois jours pour rendre un résultat de diagnostic complet (détection d'ARN viraux dans les prélèvements biologiques type urine, salive, LCR et biopsie de peau; et détection des anticorps anti-rabiques par séroneutralisation ou test ELISA). Le typage des virus est réalisé dans un délai maximum de 5 jours après réception des prélèvement. Les résultats sont communiqués aux responsables des services hospitaliers concernés par téléphone dès leur obtention puis par courrier. En cas de diagnostic positif, l'InVS et la DGS sont immédiatement informés par courriel, télécopie et par téléphone suivant la procédure d'alerte mise en place au CNRR.

Le dernier cas de rage humaine contractée en France métropolitaine remonte à 1924. Cependant, le risque de rage humaine reste présent en France, au travers notamment des cas d'importation : 20 cas ont été recensés de 1970 à 2008 (Tableau IX). La très grande majorité (90%) de ces cas provenait d'Afrique. Le dernier a été diagnostiqué en 2003 à Lyon chez un enfant revenant du Gabon. Une proportion importante (50%) d'enfants de moins de 15 ans est notée. Ceci est une caractéristique générale de l'épidémiologie de la rage dans le monde. Enfin en 2008, le premier cas autochtone a été enregistré en Guyane chez un patient infecté par un virus rabique d'origine desmodine (virus de rage des chauves-souris hématophages d'Amérique latine).

Tableau IX: Cas humains de rage recensés en France depuis 1970.

Année	Sexe	Age (an)	Pays Animal	
1970	М	3	Niger	Chat
1973	М	10	Gabon	Chien
1976	М	5	Gabon	Chien
1976	М	18	Algérie	Chien
1976	М	28	Maroc	?
1976	М	10	Algérie	Chien
1977	М	2	Gabon	Chien
1977	М	4	Maroc	Chien
1979	F	57	Egypte	Chien
1979	М	36	Egypte	Greffe de cornée
1980	М	4	Tunisie	Chien
1982	М	40	Sénégal	Chien
1990	М	28	Mexique	Chien
1992	М	3	Algérie	Chien
1994	М	46	Mali	Chien
1996	М	3	Madagascar	Chien
1996	М	60	Algérie	Chien
1996	М	71	Algérie	Chien
1997	F	50	Inde	Chien
2003	М	3	Gabon Chien	
2008	М	42	Guyane	?

.....

5.1.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des expositions

Un cas de rage humaine contractée en France a été confirmé par le CNRR en mai 2008. Elle concernait un patient guyanais décédé dans un tableau de méningo-encéphalite. C'est le premier cas de rage humaine contractée sur le territoire français depuis 1924. La prophylaxie de la rage humaine est pratiquée en France dans les CAR et dans les antennes. Les antennes ne sont pas habilitées à débuter un traitement antirabique. Elles prennent en charge la poursuite des traitements commencés dans les CAR. Actuellement, 64 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). Les CAR et les antennes sont répartis en majorité dans les services d'urgences des Centres Hospitaliers (45%), dans les services de pathologie infectieuse (30%), dans les services de médecine interne (15%) 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. Depuis l'été 2007, le CAR de Melun (77) ne reçoit plus de patients, ceux-ci sont dirigés vers le CAR de Paris bien que la notification officielle de sa fermeture ne soit toujours pas parvenue au CNRR. Actuellement, et pour une durée non précisée, les patients qui consultent le CAR de Moulins (03) sont orientés vers le CAR de Clermont-Ferrand (63).

Contribution à la surveillance nationale : analyse des données

La surveillance de la rage humaine et de la prophylaxie de la rage humaine est effective en France depuis 1982. La collaboration des CAR avec le CNRR permet l'édition annuelle d'un Bulletin sur l'Epidémiologie et la Prophylaxie de la Rage humaine en France, à la demande des Autorités de tutelle, InVS et DGS. Ces données sont dorénavant 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, InVS et DGS. Les données sont saisies :

- directement par les CAR (50% des CAR saisissent leurs données via le logiciel Voozanoo),
- 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 (société Epiconcept) 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'Epidémiologie et la Prophylaxie de la Rage Humaine en France. Ce Bulletin paraît au cours du premier semestre de l'année en cours pour l'année précédente. Les tableaux sont directement accessibles sur Internet. Des analyses complémentaires peuvent être créées par chaque utilisateur au moyen du module statistique. L'analyse des données de l'année précédente est effectuée par le CNRR et envoyée par courrier électronique, mise sur le site Internet de l'Institut Pasteur (http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/rage/rage-actualites.html), et sur l'espace

partagé dédié aux CAR (vaccilabcar@pasteur.fr). Cette analyse peut être également envoyée sous format papier sur demande.

Analyse des données de 2008

Les données complètes pour l'année 2008 ne seront disponibles que courant juin-juillet 2009. Elles seront complétées et validées dans le Bulletin sur l'Epidémiologie et la Prophylaxie de la Rage en France qui sera disponible courant 2009.

A ce jour, les dossiers de 7060 patients ont été analysés. Les chiens représentent 66% des expositions et 65% des traitements. Les chauves-souris sont responsables de 3,3% des consultations et de 5% des traitements, les singes de 1,2% des consultations et de 3% des traitements. Les patients qui ont été traités après avoir été en contact avec un animal diagnostiqué positif au laboratoire représentent 0,6% des traitements. Pour 99,5% des traitements mis en place, le vaccin utilisé est le vaccin antirabique Pasteur Vero. Seul un patient a commencé un traitement avec un vaccin noté SMB, et six patients ont reçu le vaccin Rabipur. Pour 17,5% des patients traités, une sérothérapie a été mise en place, avec des immunoglobulines d'origine équine (28%) ou avec des immunoglobulines d'origine humaine (72%). L'origine de la contamination a eu lieu à l'étranger pour 10% des consultants et 85% de ces patients ont reçu un traitement antirabique. Les patients traités ont été 85% à terminer leur traitement. Dans 8% des cas, les traitements ont été arrêtés sur décision médicale (animal diagnostiqué négatif au laboratoire, animal vivant lors de la surveillance vétérinaire, etc.) et dans 6% des cas, les traitements ont été abandonnés par les patients. Aucun échec de traitement n'a été rapporté. Dans 88% des cas, aucun effet indésirable n'a été signalé. Une réaction locale a été observée dans 1,5% des traitements et une réaction générale dans 2% des cas.

En ce qui concerne le CAR de Paris, les données sont complètes pour l'année 2008. Le nombre de consultants est de 1396, soit une augmentation de 14% par rapport à l'année 2007. Un total de 895 personnes ont reçu un traitement antirabique (64% des consultants), ce qui est supérieur à la moyenne nationale (49% selon les données partielles). L'analyse des traitements en fonction du lieu d'exposition montre que le CAR de Paris prend en charge plus de 50% des sujets contaminés à l'étranger et que 93% d'entre eux ont reçu un traitement antirabique, contre 49% des sujets contaminés et traités en France. De plus, en 2008 le CAR de Paris a pris en charge 168 patients qui ont été en contact avec un chien enragé vivant dans le département de la Seine et Marne. L'identification de ce cas de rage canine autochtone a mis en évidence 2 autres cas de rage canine faisant suite à l'importation d'un chien enragé contaminé au Maroc. Suite à cet épisode, un total de 147 patients, essentiellement des enfants, ont reçu un traitement antirabique (91% des consultants suite à cet épisode) et 8% d'entre eux ont eu une séro-vaccination.

Figure 4: Nombre de traitements après exposition à des singes ou des chauves-souris (France).

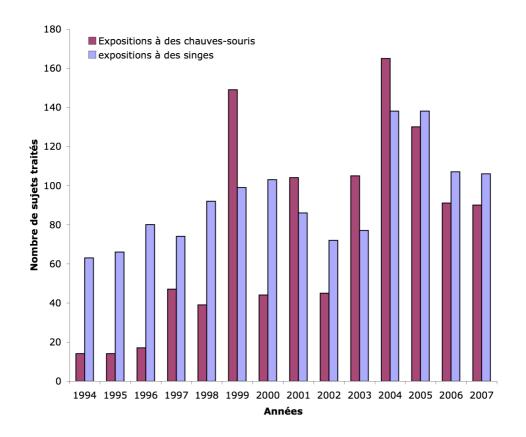
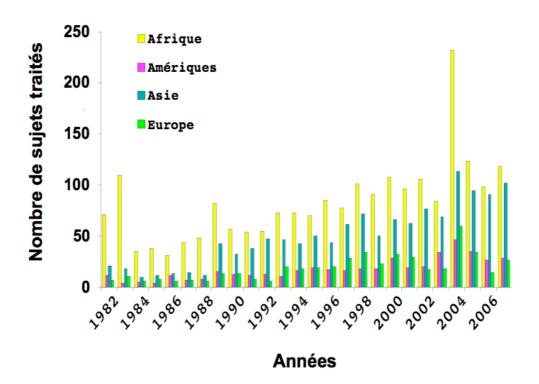


Figure 5: Nombre de traitements chez les personnes exposées hors de France (CAR Paris).



5.1.1.2 Circuit animal

Les Directions Départementales des Services Vétérinaires (DDSV), les Laboratoires Vétérinaires Départementaux (LVD) et les Ecoles Nationales Vétérinaires constituent les partenaires de ce réseau. 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. L'ensemble de ces partenaires permet d'obtenir un maillage très serré sur le terrain, offrant ainsi une surveillance nationale (métropolitaine et DOM-TOM) permanente et la plus exhaustive possible de tous les cas animaux suspects, y compris les chauves-souris. Parallèlement, le CNRR est également en relation avec l'Afssa-Nancy, qui traite plus spécifiquement des cas animaux non susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme. Il contribue ainsi au Bulletin Epidémiologique Mensuel édité par l'Afssa-Nancy dans lequel sont regroupées toutes les analyses pour recherche de rage animale faites en France.

Les techniques actuelles de diagnostic 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 DDSV 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. Le CNRR a maintenu l'objectif défini lors de l'appel à candidature 2006-2009 pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence en termes de délais d'envoi de résultats, ceci en dépit de l'augmentation importante du nombre de demandes d'analyse : 64,6% des résultats ont été validés et envoyés dans un délai de 2 jours après réception des échantillons par le CNRR (contre 64% en 2007 et 67,3% en 2006) et 94,5% dans un délai de 5 jours (contre 98,5% en 2007 et 100% en 2006).

En cas de diagnostic positif, l'InVS et la DGS sont immédiatement informés par courriel, télécopie et par téléphone suivant la procédure d'alerte mise en place au CNRR. Le typage des virus est réalisé dans un délai maximum de 5 jours après réception du prélèvement. Au cours de l'année 2008, ce typage a été réalisé par le CNRR en moins de 2,5 jours en moyenne pour les 6 cas positifs identifiés.

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 (5,5 +/- 3 jours) a été observé entre la mort de l'animal et son arrivée au CNRR, avec un délai maximal de plus de 45 jours et un délai minimal de 1 jour. En parallèle, une meilleure information des conditions réglementaires de transport routier des prélèvements animaux suspects de rage a été apportée aux expéditeurs (site Internet de l'Institut Pasteur réactualisé, conseils téléphoniques, enquêtes 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 leurs expéditions par les laboratoires demandeurs à l'édition et à la transmission du rapport d'essai par le CNRR. Ces informations permettent également au CNRR d'inciter certains expéditeurs à améliorer leurs conditions de transport (délai d'envoi, respect des conditions réglementaires de transport routier).

5.1.2 Conclusions

5.1.2.1 Surveillance de la rage animale en France

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 pour plusieurs raisons:

Des cas récents d'importation incitent à la plus grande prudence. Ainsi, 3 cas de rage canine liés à des importations illégales ont été identifiés par le CNRR en 2008 : (1) le 26/02/08 : diagnostic de rage chez un chien vivant en Seine-et-Marne et qui a conduit à l'identification rétrospective d'une chaîne de transmission de rage canine autochtone (2 cas successifs de transmission de rage sur le territoire français suite à l'importation d'un chien enragé du Maroc, entraînant la perte du statut de pays indemne de rage terrestre des animaux non-volants ; (2) le 24/04/08 : diagnostic de rage chez un chien provenant de la République de Gambie et introduit illégalement en Belgique puis dans le Var en France ; et (3) le 14/11/08 : diagnostic de rage chez un chien vivant en Isère, et ayant été adopté sur un parking à Malaga en Espagne. Il est à noter qu'en dehors de ces deux derniers cas, 20 autres animaux importés illégalement ont été reçus et analysés au CNRR au cours de l'année 2008, dont 8 originaires d'Afrique du Nord (1 en provenance d'Algérie, 2 d'Egypte, 4 du Maroc et 1 de Tunisie), 11 d'Europe centrale (République Tchèque) et 1 du Brésil (retrouvé dans le département de la Guyane) (Tableau III). Tous ces animaux se sont révélés négatifs.

La surveillance est basée sur la vigilance de nombreux acteurs: vétérinaires sanitaires, médecins généralistes, CAR, DDSV. Le CNRR intervient au bout de cette chaîne par l'analyse des échantillons reçus et le conseil aux autorités de Santé. Les derniers épisodes d'importation d'animaux enragés ont démontré l'efficacité et la rapidité de ce système.

La rage des chiroptères est toujours présente. En France métropolitaine, le CNRR a identifié trois chauves-souris (sérotine commune ou *Eptesicus serotinus*) positives originaires : (1) du département de la Vendée (85) et retrouvée infectée par un lyssavirus EBLV-1a génétiquement très proche de celui isolé en novembre 2007 chez un chat domestique vivant dans la même commune ; (2) du département de l'Yonne (89) chez laquelle un lyssavirus EBLV-1b a été isolé, correspondant au sous-type majoritairement identifié dans les cas français de rage des chauves-souris insectivores ; et (3) du département de l'Isère (38) retrouvée infectée par un lyssavirus de type EBLV-1a, très proche des virus EBLV-1a précédemment isolés en France métropolitaine. Parallèlement, l'Afssa-Nancy a diagnostiqué 1 autre chauve-souris *Eptesicus serotinus* positive provenant du département de la Gironde (33), infectée par le lyssavirus EBLV-1a. La répartition des cas obtenus depuis de nombreuses années laisse supposer une large distribution de l'enzootie sur le territoire français.

Les mouvements d'animaux exotiques augmentent les risques. 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. Un exemple antérieur nous oblige néanmoins à rester prudents (cf. introduction d'un virus Lagos bat, correspondant au génotype 2 des lyssavirus, au travers d'une chauve-souris frugivore vendue dans une animalerie en 1999).

En Guyane, les chiroptères hématophages infectent des bovins (le dernier cas positif a été diagnostiqué par le CNRR en 1999) mais aussi parfois des carnivores terrestres. C'est le cas d'un diagnostic de rage positif effectué sur un chien en 2003 pour lequel le typage de l'isolat a identifié un lyssavirus de génotype 1. En 2008, la

surveillance dans ce DOM a été maintenue car 30 prélèvements ont été reçus et analysés au CNRR. Tous se sont révélés négatifs, y compris ceux en lien direct ou indirect avec le patient guyanais retrouvé infecté par un lyssavirus de type desmodin.

5.1.2.2 Prophylaxie de la rage humaine en France

Aucun cas de rage humaine autochtone n'a été déploré sur le territoire métropolitain en dépit des animaux importés illégalement en 2008 et ayant développé la rage sur le territoire national. L'efficacité du diagnostic de laboratoire effectué par le CNRR permet d'instaurer rapidement un traitement anti-rabique quand il est justifié ou au contraire de l'interrompre si le prélèvement s'avère négatif.

Le 28 mai 2008, le CNRR confirma le diagnostic de rage chez un résident guyanais décédé au Centre Hospitalier de Cayenne dans un tableau de méningo-encéphalite. Le virus identifié est un lyssavirus de type desmodin circulant chez les chauves-souris hématophages, un virus enzootique dans cette région du monde. Il s'agit du premier cas humain de ce type identifié dans le département de la Guyane. L'enquête épidémiologique qui s'en suivit a abouti à 112 consultations de patients dans un CAR et à l'instauration de 88 traitements antirabiques post-exposition. L'épisode, d'une manière plus générale, eut pour corollaire une forte augmentation de l'activité du CAR local (plus de 450 traitements débutés en Guyane en 2008) en raison de la sensibilisation du public et des médecins au risque rabique.

La prophylaxie de la rage humaine se complexifie. Elle nécessite la présence de personnel compétent pour cette activité dans toutes les régions ainsi qu'un accès facile à des sources d'informations fiables et à jour sur l'épidémiologie et les modes de prophylaxie (protocoles de traitement, etc.). En 2008, le nombre de consultants et de traitements a légèrement baissé. Le nombre de patients traités à la suite d'une exposition dans une région d'enzootie, ou par des chiroptères, reste stable. Parallèlement, les lyssavirus qui infectent les chiroptères posent le problème de l'efficacité des vaccins et des immunoglobulines actuellement disponibles.

5.2 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Au cours de l'année 2008, le CNRR a reçu et analysé un total de 1928 prélèvements animaux liés à une suspicion de transmission de rage animale à l'homme. Parmi ces prélèvements, six se sont révélés positifs au laboratoire. Trois concernaient des chauves-souris insectivores (sérotine commune ou *Eptesicus serotinus*) originaires des départements de la Vendée (85), de l'Yonne (89) et de l'Isère (38). La souche virale isolée chez la chauve-souris provenant de Vendée a été retrouvée très proche génétiquement de celle isolée en novembre 2007 chez un chat domestique vivant dans la même commune. Les trois autres cas étaient liés à des cas de rage canine d'importation : (1) diagnostic de rage le 26/02/08 chez un chien vivant en Seine-et-Marne (77) et conduisant à l'identification rétrospective d'une chaîne de transmission de rage canine autochtone (2 cas successifs de transmission de rage sur le territoire français suite à l'importation d'un chien enragé du Maroc, entraînant la perte du statut de pays indemne de rage terrestre des animaux non-volants); (2) diagnostic de rage le 24/04/08 chez un chien introduit illégalement en Belgique puis dans le Var (83) en France à partir de la République de Gambie ; et (3) diagnostic de rage le 14/11/08 chez un chien vivant en Isère (38), et ayant été adopté sur un parking à Malaga en Espagne.

Parmi les 11 suspicions de rage humaine analysées au CNRR en 2008, un diagnostic de rage a été confirmé le 28 mai 2008 chez un résident guyanais décédé au Centre Hospitalier de Cayenne dans un tableau de méningo-

encéphalite. Le virus identifié est un lyssavirus de type desmodin circulant chez les chauves-souris hématophages, un virus enzootique dans cette région du monde. Il s'agit du premier cas humain de ce type identifié dans le département de la Guyane.

Pour ces 7 cas positifs identifiés (6 cas animaux et 1 cas humain), le typage des virus a été réalisé et envoyé dans un délai de moins de 2,5 jours en moyenne à l'InVS et à la DGS.

5.3 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens

Le CNRR travaille en étroite collaboration avec de nombreux laboratoires travaillant dans le domaine de la rage en Europe. Le CNRR participe au Bulletin Epidémiologique Trimestriel de la Rage en Europe (Rabies Bulletin Europe) édité par le Centre Collaborateur de l'OMS de Surveillance et de Recherche sur la Rage de Wüsterhausen en Allemagne (http://www.who-rabies-bulletin.org). Il collabore également avec l'OMS à la rédaction du rapport annuel sur la rage dans le monde, disponible en ligne sur Internet à l'adresse http://www.who.int/rabies/rabnet/en. Les responsables du CNRR travaillent avec l'OMS en tant qu'experts dans leur domaine respectif: prophylaxie et traitement après exposition contre la rage, diagnostic biologique, projets de développement, épidémiologie de la rage.

L'UPRE DyLAH est le coordinateur administratif d'un projet européen FP6/2AP/INCO-MPC2 (acronyme RABMEDCONTROL), qui a débuté en 2006 pour une durée de 3 ans et demi. Ce projet vise à contrôler la rage en Afrique du Nord.

Le CNRR est également le coordinateur d'un projet de standardisation biologique des techniques utilisées de diagnostic de la rage (acronyme RAGESTANDBIO) dans les Instituts du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP), sous la forme d'une Action Concertée InterPasteurienne (ACIP). Il a pour but de transférer dans les laboratoires de référence pour la rage situés dans ces Instituts, certaines techniques utilisées pour le diagnostic de laboratoire de la rage et le suivi sérologique des patients traités ou vaccinés, puis de réaliser un essai interlaboratoire de ces techniques. Ce projet implique 14 Instituts du RIIP (Belgique, Cameroun, Côte d'Ivoire, République Centrafricaine, Madagascar, Sénégal, Algérie, Maroc, Tunisie, Iran, Cambodge et Viêt-Nam) situés dans 13 pays différents. A terme, cet essai interlaboratoire sera étendu aux autres pays européens qui le souhaitent, ainsi qu'aux différents partenaires du projet européen RABMEDCONTROL (en particulier l'Italie, l'Espagne et l'Egypte). Ce projet a débuté au cours de l'année 2007 pour une durée de 2 ans.

Le CNRR participe également depuis 2008 à un programme de surveillance, de traitement et d'organisation de la prévention de la rage en Afrique centrale et de l'ouest (acronyme STOPRAGE) également sous forme d'ACIP. Ce projet se propose de mettre en place un réseau de surveillance de la rage humaine et animale en Afrique de l'ouest et du centre, en collaboration avec les Instituts Pasteur de Dakar au Sénégal, de Côte d'Ivoire, de République Centrafricaine et de Paris. Quatre axes majeurs sont développés : i) la mise en place et le renforcement d'un circuit de surveillance locale des cas de rage humaine et animale mobilisant les ressources locales, ii) la normalisation et la standardisation de la prise en charge médicale des patients, iii) le développement des techniques de diagnostic biologique et des outils d'études moléculaires, et iv) l'implémentation des données épidémiologiques de la rage disponible au niveau des pays concernés. Enfin, le CNRR contribue à la surveillance et à la formation en matière de prophylaxie de la rage humaine au sein des Instituts du RIIP qui pratiquent ce type d'activité.

5.4 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

5.4.1 Etude de la couverture vaccinale des chiroptérologues

En 2008, le CNRR a maintenu sa mission visant à assurer un suivi des 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 CSHPF. Cette surveillance sérologique annuelle (avant la saison de capture des chauves-souris) doit être réalisée par une technique de neutralisation (technique RFFIT). Son résultat détermine, en fonction du taux d'anticorps, la fréquence des rappels, voir même la recommandation de cesser toute exposition aux chiroptères si le taux d'anticorps est inférieur à 1 UI/mL. Les sérologies de contrôle doivent être réalisées au minimum 15 jours après la 3ème injection de la primo-vaccination ou 15 jours après le rappel. Cependant, aucun sérum n'a été reçu en 2008 dans le cadre de cette surveillance.

5.4.2 <u>Développement et standardisation des techniques de diagnostic intra-vitam de la rage</u>

La collaboration internationale initiée en 2004 avec les Centres Nationaux de Référence pour la rage situés au Cambodge, à Madagascar, au Maroc et au Sénégal afin de développer et de standardiser dans ces pays les techniques de diagnostic *intra-vitam* de la rage chez l'homme s'est finalisée fin 2006. Les résultats finaux ont été analysés et publiés au cours de l'année 2008 (Dacheux *et al.*, 2008). Brièvement, au total 51 patients ont été inclus, dont 32 patients pour lesquels le diagnostic de rage *post-mortem* a pu être établi. Au cours de cette étude, 425 prélèvements biologiques ont été collectés (de type salive, urine, sérum, biopsie de peau et de cerveau). Après analyses finales des résultats obtenus, cette étude a permis de définir un protocole biologique simple basé sur des prélèvements peu ou pas invasifs (notamment par l'analyse de biopsies de peau prélevées au niveau de la nuque et de salives collectées séquentiellement chez les patients) et présentant une sensibilité de plus de 98%. Ce protocole apportera un outil pour toute étude visant à évaluer l'incidence réelle de la rage en Afrique et en Asie, que ce soit en diagnostic *intra-vitam* ou en diagnostic *post-mortem* de type rétrospectif. L'apport d'une technique rapide et fiable de diagnostic contribuera aussi à une meilleure prise en charge des malades atteints de rage.

5.4.3 Risque de transmission de la rage des chiroptères aux mammifères domestiques

Fin 2007, le CNRR a mis en évidence le premier cas décrit de rage des chauve-souris (European bat lyssavirus ou EBLV) chez un carnivore terrestre domestique en France. Il s'agissait d'un chat domestique (Felis silvestris catus) identifié en Vendée et chez lequel un lyssavirus EBLV-1a a été isolé. Une transmission directe par une chauve-souris semble la plus probable, les chats étant prédateurs de chiroptères. Cette hypothèse est renforcée par l'isolement d'un virus EBLV-1a très proche de ce cas chez une chauve-souris retrouvée enragée début 2008 dans la même commune. Ce cas vient s'ajouter à un deuxième cas d'infection par un lyssavirus de chiroptère (EBLV-1b) identifié en 2003 dans le Morbihan chez un chat errant. Une analyse rétrospective portant sur plus de 1500 chats analysés en France de 2004 à 2007 par immunofluorescence directe, isolement viral sur culture cellulaire et détection d'antigènes rabiques par test ELISA (WELYSSA), n'a pas permis d'identifier d'autres cas. L'analyse comparative de 3 génomes complets d'EBLV-1 d'origines géographiques différentes et provenant de différents hôtes n'a pas révélée de variabilité liée au franchissement de la barrière d'espèce. Ces deux cas de transmission par des lyssavirus EBLV, décrits pour la première fois chez des carnivores domestiques, rappellent le risque d'infection des mammifères terrestres non-volants par les lyssavirus des

chiroptères. Cependant, cette transmission semble aboutir à un cul-de-sac épidémiologique, avec des risques limités de transmissions secondaires. Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'une publication scientifique en 2009 (Dacheux *et al.*, 2009).

6 Alertes

Chaque cas de rage diagnostiqué chez l'homme ou l'animal est signifié directement à la DGS, à l'InVS, à la DGAl et à l'Afssa selon une procédure applicable depuis 2002 dans le système Qualité du CNRR (procédure RR00055). La transmission des résultats est réalisée par téléphone, courriel et télécopie. Une adresse courriel unique pour le CNRR (cnrrage@pasteur.fr) permet de joindre de manière certaine un des responsables du CNRR. Enfin deux téléphones portables assurent la possibilité de joindre un responsable du CNRR de manière quasi-continue.

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 l'InVS, 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 l'Afssa, la DGAl et l'Afssaps 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. Ainsi, au cours de l'année 2008, le CNRR a participé en urgence à quatre groupes de travail spécialisés de ce type.

7 Activités d'informations, de formation et de conseil

7.1 Diffusion des résultats - Impact national et international du CNRR

Les techniques actuelles de diagnostic 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 DDSV qui se charge 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. Au cours de l'année 2008, nous avons atteint l'objectif défini lors de l'appel à candidature 2006-2009 pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence en termes de délais d'envoi de résultats : 64% des résultats ont été validés et envoyés dans un délai de 2 jours après réception des échantillons par le CNRR et 98,5% dans un délai de 5 jours. En 2008, le CNRR a finalisé une enquête "satisfactions-clients" destinée à l'ensemble des LDV et des DDSV. Cette enquête a rencontré un succès important avec un taux de réponse de l'ordre de 83% (% de départements ayant répondu à cette enquête). L'analyse des données de cette enquête a permis de noter que la très forte majorité de ces structures était satisfaite de nos prestations. En particulier, 89% d'entre eux ont été satisfaits des délais de rendu de résultats et 86% ont trouvé l'accueil et la

disponibilité du CNRR satisfaisant. Seuls 5% des LVD et DDSV ont émis des réclamations (correspondant à deux laboratoires), qui ont été résolues rapidement. Les résultats de cette enquête ont également permis d'identifier clairement à quel correspondant départemental (LVD ou DDSV) le rapport d'essai du diagnostic de rage devait être transmis. Ces résultats ont été communiqués en retour à tous les participants.

Le CNRR contribue au Bulletin Epidémiologique Mensuel édité par l'Afssa-Nancy dans lequel sont regroupées toutes les analyses pour recherche de rage faites en France ainsi qu'au Bulletin Epidémiologique Trimestriel de la Rage en Europe (Rabies Bulletin Europe) édité par le Centre Collaborateur OMS de Surveillance et de Recherche sur la Rage de Wüsterhausen en Allemagne (www.who-rabies-bulletin.org). Il collabore également aux rapports sur la surveillance de la rage dans le monde édités par l'OMS et disponible sur le site Internet (http://www.who.int/rabies/rabnet/en).

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

Le Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France, édité par le CNRR depuis 1982, rassemble des 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 données de 2007, de même que celles des années précédentes depuis 1994, sont disponibles directement sur Internet. Les personnes autorisées des CAR et des organismes de tutelle (InVS, DGS) se connectent sur le site https://epidemio.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 peuvent rentrer directement leurs données sur Internet, les analyser, utiliser les modules statistiques, etc. Ils peuvent aussi accéder aux données générales du CNRR jusqu'à l'année n-1. L'analyse des données du Bulletin par le CNRR est accessible sur Internet depuis 2000 à l'adresse suivant : http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/rage/rage-actualites.html). Elle est également disponible sur l'espace partagé (serveur de l'Institut Pasteur) de la liste de discussion des médecins des CAR (vaccilabcar@pasteur.fr). Les données de ce Bulletin sont également disponibles sous la forme d'un fichier au format .pdf pour tous les organismes (DDASS, DDSV, écoles vétérinaires, etc.) qui en font la demande. Enfin, ce Bulletin est envoyé par courrier électronique aux membres des CAR. 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 2008, il a été utilisé par plus de 50% des CAR pour saisir leurs données.

7.3 Echange de données au niveau international

Un des directeurs du CNRR est aussi le directeur du Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche sur la Rage. L'UPRE DyLAH de l'Institut Pasteur a permis un suivi épidémiologique et fondamental de la rage à la fois au niveau national et international. Les directeurs du CNRR participent chacun dans leur domaine de compétence aux réunions des Comités d'Experts OMS de la rage.

7.4 Activités de conseil aux professionnels

Le CNRR répond quotidiennement aux nombreuses demandes de renseignements et conseils émanant de personnes mordues, de médecins, de vétérinaires, de CAR ainsi que des responsables sanitaires départementaux

(réponses téléphoniques: en moyenne 15/jour ouvrable soit 3150/an, réponses par courriel: environ 2000/an; courriers et télécopies: environ 4000/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 également disponible à l'adresse consrage@pasteur.fr.

Le CNRR est régulièrement consulté par la DGS, l'InVS, la DGAl, l'Afssaps et l'Afssa. Le médecin codirecteur du CNRR est inscrit sur la liste des experts auprès de la Haute Autorité de Santé. Les ONG et les Ambassades de France font 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 site 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/sante). Le site Internet sur la rage au sein du site de l'Institut Pasteur (http://www.pasteur.fr/recherche/rage/) est animé par le CNRR et l'UPRE DyLAH. Ces sites permettent aussi d'obtenir des informations scientifiques et d'accéder aux principaux sites sur la rage. Des articles ont régulièrement été publiés dans la presse médicale. Les médias trouvent auprès du CNRR une source d'informations fiables et régulièrement mises à jour.

7.4.1 Enseignement

Cours et formations:

- Cours sur la rage, Institut de formation des techniciens en analyse biologique, Paris, le 6 avril 2008 (H. Bourhy).
- Cours sur la rage, cours de virologie systématique de l'Institut Pasteur, Paris, le 14 mai 2008 (H. Bourhy).
- Cours donné à Chatenay: Master 2 Ecologie microbienne, pathogénies des microorganismes et anti-infectieux, le 20 octobre 2008 (H. Bourhy).
- Cours donné à Maisons-Alfort: Master 2 Surveillance épidémiologique des maladies humaines et animales, le 23 octobre 2008 (H. Bourhy).
- Cours donné au CIRAD à Montpellier : Méthodologie de l'épidémiosurveillance : "Le réseau d'épidémiosurveillance de la rage", le 12 novembre 2008 (H. Bourhy).
- Présentation à une conférence organisée par le Conseil Général de la Seine-et-Marne sur le site du Laboratoire Vétérinaire Départemental : « Questions pratiques relatives à l'épisode de la rage survenue à Grandpuits (77) en février 2008, le 12 septembre 2008 (M. Goudal).
- Atelier sur la surveillance, le traitement et l'organisation de la prévention de la rage en Côte d'Ivoire, Abidjan, 19-23 octobre 2008 (M. Goudal, L. Dacheux).
- Collaboration scientifique et formation ACIP STOPRAGE, Dakar, Sénégal, du 25-27 novembre 2008 (M. Goudal, L. Dacheux, H. Bourhy).
- Collaboration scientifique et formation ACIP STOPRAGE, Bangui, République Centrafricaine, 3-11 décembre 2008 (M. Goudal, H. Bourhy).
- Formation à l'Université de Pennsylvanie sur « Analyses phylogénétiques utilisant des outils bioinformatiques », Bozlsburg, USA, du 17 juin au 17 juillet 2008 (C. Talbi).

Encadrement d'étudiants en thèse de doctorat :

- M. Alireza Gholami. Thèse de Doctorat en Biologie (Paris VII) : "Caractérisation des domaines peptidiques de la protéine M des lyssavirus impliquée dans le ciblage mitochondrial et dans l'induction de l'apoptose". Soutenance faite le 20 novembre 2008 (Directeur de thèse : H. Bourhy).

- Melle Chiraz TALBI, Préparation de thèse de Doctorat en Biologie : "Biologie et écologie des relations hôtelyssavirus", Université de Monastir, Tunisie (Directeur de thèse : H. Bourhy).

Membre de jury de thèse :

- M. Xavier Pourrut, Université de la Méditerranée, Aix Marseille II, 10 juin 2008 (H. Bourhy).
- M. Meriadeg Le Gouil, Muséum d'Histoire Naturelle UMR 5202 / IRD UR178 / CIBU-Institut Pasteur (H. Bourhy).

7.4.2 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). 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 François Dumontier, CH Chaumont (52), 31/05/08.
- Dr. Franck Berger, IP Cayenne (Guyane), 23/07/08.
- Dr. Marie Boisvert, IP Cayenne (Guyane), 22/09/08.
- Dr. Marie Pillot-Debelleix, CH Bordeaux (33), 22/09/08.

Encadrement d'étudiants et de stagiaires scientifiques:

- Dr. Olivier Delmas, stagiaire post-doctoral, IP Paris, France.
- François RAZER, Ecole de Biologie Industrielle, 30/06 au 15/08/2008).
- Dr Xinjun LU, Center for Viral Disease Control and Prevention, Beijing, China, (30/09 au 31/12/2008).
- Sophie LUCO, Elève de l'ENS en Master 2 IMVI, Université Paris 7, 17/11/2008 au 3/07/2009.

7.4.3 Elaboration de guide

- Dacheux L, Peigue-Lafeuille, H., Bourhy H. Virus de la rage. Traité de Biologie Clinique, Biologie Clinique (sous presse).

7.4.4 <u>Invitations à des réunions d'experts</u>

- Saisine de la DGS du 04/03/08 concernant "le risque de transmission de la rage par la transfusion ou la greffe dans le contexte de la survenue de cas canins autochtones en février 2008" (L. Dacheux, H. Bourhy).
- Saisine de la DGAl du 05/03/08 concernant "les mesures à mettre en œuvre à la suite de la découverte d'un cas de rage canine, dans le département de Seine-et-Marne" (M. Goudal, L. Dacheux, H. Bourhy).
- Saisine de la DGAl du 06/03/08 concernant "l'évaluation du statut sanitaire d'une chienne dénommée Iris" (M. Goudal, L. Dacheux, H. Bourhy).
- Saisine de la DGAl du 07/11/08 concernant "l'estimation du risque pour la santé publique et la santé animale constitué par la présence de chauves-souris présentant des tests salivaires PCR positifs vis-à-vis d'une souche de virus rabique EBLV1/EBLV2" (M. Goudal, H. Bourhy).
- Réunion du 27/06/08 organisée de l'Afssaps concernant les risques de transmission de la rage par les greffons (L. Dacheux, H. Bourhy).
- Best practices in diagnosis and surveillance, WHO-Intercountry expert workshop on protecting humans from domestic and wildlife rabies in Jordan and the middle east, Amman, Jordanie, 23 juin 2008 (H. Bourhy).
- 9th Meeting of Southern and Eastern African rabies group (SEARG), Gaborone, Bostwana, 25-29 août 2008 (H. Bourhy).

- Rencontre internationale dans le cadre de la mise en place du réseau AfroREB (experts de la rage humaine), du 9-14 mars 2008 (H. Bourhy).
- Meeting of the Alliance for Rabies control (ARC), Turin, Italie, 6-8 mai 2008 (H. Bourhy).
- Participation au groupe de travail GT5 de l'AFNOR: PCR en Santé Animale, le 11 mars 2008 (L. Dacheux).

8 Travaux de recherche en lien direct avec l'activité du CNRR

8.1 Etudes sur l'évolution et l'adaptation des lyssavirus

Le CNRR possède une expérience importante dans le domaine du séquençage et de l'analyse phylogénique des lyssavirus. Cependant, les données de séquences génomiques actuellement disponibles pour ces virus sont limitées ou incomplètes. Le CNRR a donc finalisé en 2008 le séquençage des génomes complets de différents virus représentatifs de l'ensemble de génotypes du genre *Lyssavirus* (Delmas *et al.*, 2008). Au cours de l'année 2008, le CNRR a également réalisé différentes études phylogéniques afin de déterminer les conditions de diffusion de la rage canine dans le monde (Bourhy *et al.*, 2008) et en Afrique centrale et de l'ouest (Talbi *et al.*, 2009).

8.2 Recherches sur l'épidémiologie et la physiopathogénie des lyssavirus de chauvessouris

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.

Trente-trois espèces différentes de chauves-souris insectivores sont présentes en Europe. L'UPRE 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 (EBLV). En 2008, ces études ont été poursuivies sur la dynamique de la rage dans diverses colonies d'une zone géographique donnée. Ce type d'étude utilise 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. Ces études sont réalisées en Espagne en collaboration avec le service d'Ecopathologie de l'Université de Barcelone (Amengual *et al.*, 2008).

Enfin la virulence des virus des chauves-souris pour les espèces non-volantes de mammifères, y compris l'homme, reste peu connue. Nous avons pour la première fois en Europe montré le passage du virus EBLV-1 au chat dans des conditions naturelles (Dacheux *et al.*, 2009).

Dans le cadre d'un grand projet de recherche menée dans l'UPRE DyLAH, deux types d'études se sont poursuivis en 2008 : une analyse transcriptionnelle de l'infection par différents génotypes de virus rabiques (notamment ceux de chauves-souris) dans un modèle murin en utilisant la technologie des puces à ADN, et une analyse par protéomique inverse afin d'identifier les interactions entre les protéines virales (en particulier avec la protéine de matrice virale) des différents génotypes de lyssavirus et les protéines des cellules de l'hôte. Ce type d'études, réalisées en collaboration avec différents laboratoires de l'Institut Pasteur de Paris, permettra de mieux

comprendre l'origine des désordres neuronaux constatés dans la rage et d'appréhender la base de la pathogénie différentielle des lyssavirus au travers d'interactions spécifiques constatées entre les différents génotypes.

8.3 Contrôle de la rage en Afrique du Nord

L'UPRE DyLAH est coordinateur administratif d'un projet européen FP6/2AP/INCO-MPC2 : (acronyme RABMEDCONTROL) d'une durée de 3 ans et demi qui a débuté en 2006. Il vise à contrôler la rage dans les pays d'Afrique du Nord : Egypte, Tunisie, Algérie et Maroc afin de limiter le risque d'introduction de la rage en Europe. Ce projet est donc particulièrement d'actualité dans le contexte épidémiologique actuel. Il est basé entre autre sur une standardisation des structures et modalités nationales de surveillance, sur le recueil de données épidémiologiques, écologiques, virologiques, et socio-culturelles en lien avec la rage. L'objectif final est d'obtenir une image de la dynamique spatio-temporelle de la rage dans ces pays et de proposer des mesures rationnelles d'intervention.

8.4 Collaboration Plate-forme Santé publique et CNRR

Afin d'offrir aux Centres Nationaux de Référence l'accès à toutes les technologies de la génomique, l'Institut Pasteur a créé, en janvier 2005, une plate-forme de Santé Publique qui sert d'interface entre les CNR et la Génopole. Cette plate-forme intègre un projet visant à l'identification rapide de différents pathogènes bactériens et viraux ainsi que leurs profils génétiques par l'utilisation d'une puce à ADN haute densité. Ce projet a été développé en collaboration avec la société Affymetrix dans le cadre d'un financement du NIH de trois ans. Le CNRR a été sollicité dans le cadre de ce projet en qualité d'expert dans son domaine de compétence. Après avoir participé à la validation de la première génération de cette puce à ADN, le CNRR a poursuivi cette collaboration en 2008, notamment en fournissant différentes souches de lyssavirus en contribuant à la mise en place et à la validation de la deuxième génération de cet outil (Berthet *et al.*, 2008a et b).

8.5 Standardisation des techniques de diagnostic de la rage

En 2008, le projet de standardisation biologique des techniques utilisées de diagnostic de la rage (acronyme RAGESTANDBIO) a été initié. Il a pour but de transférer certaines techniques utilisées pour le diagnostic de laboratoire de la rage et le suivi sérologique des patients traités ou vaccinés dans les laboratoires de référence pour la rage situés dans les Instituts du RIIP, puis de réaliser un essai interlaboratoire de ces techniques. Ce projet implique 14 Instituts du RIIP (Belgique, Cameroun, Côte d'Ivoire, République Centrafricaine, Madagascar, Sénégal, Algérie, Maroc, Tunisie, Iran, Cambodge, VietNam) situés dans 13 pays différents. A terme, cet essai interlaboratoire sera étendu aux autres pays européens qui le souhaitent, ainsi qu'aux différents partenaires du projet européen RABMEDCONTROL (en particulier Italie, Espagne et Egypte).

Ce projet correspond à une nécessité de standardisation biologique de ces techniques au niveau international. Il représente une étape préalable incontournable et essentielle à toute étude multicentrique ou programme collaboratif de recherche entre les laboratoires dans le domaine de la rage. Quatre techniques reconnues internationalement par l'OIE et par l'OMS sont en cours d'évaluation: la détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence (FAT), l'isolement du virus rabique sur culture cellulaire (RTCIT), le titrage des anticorps antirabiques par la technique de réduction des foyers de fluorescence (RFFIT) et le dosage des IgG antirabiques

par une technique ELISA utilisant un kit commercial (PlateliaTM Rabies II Kit, Bio-Rad). Ce projet profitera de l'accréditation du CNRR par le COFRAC (01/02/06) pour sa compétence à réaliser les analyses concernant l'isolement du virus de la rage sur culture cellulaire et la détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence sur frottis de cerveau. Initié en 2007, ce projet se déroule sur une période de 2 ans.

8.6 Développement de la surveillance, du traitement et de la prévention de la rage en Afrique de l'ouest et du centre

Un projet de surveillance, de traitement et d'organisation de la prévention de la rage en Afrique centrale et de l'ouest (acronyme STOPRAGE) a été soumis sous forme d'ACIP et accepté au cours de l'année 2007. Ce projet, d'une durée de 2 ans, vise à mettre en place un réseau de surveillance de la rage humaine et animale en Afrique de l'ouest et du centre, en collaboration avec les Instituts Pasteur de Dakar au Sénégal, de Côte d'Ivoire, de République Centrafricaine et de Paris. Quatre axes majeurs sont développés : i) la mise en place et le renforcement d'un circuit de surveillance locale des cas de rage humaine et animale mobilisant les ressources locales, ii) la normalisation et la standardisation de la prise en charge médicale des patients, iii) le développement des techniques de diagnostic biologique et des outils d'études moléculaires, et iv) l'implémentation des données épidémiologiques de la rage disponible au niveau des pays concernés.

8.7 Analyse de l'impact d'une alerte sur l'activité du CNRR et des CAR

Au cours de l'année 2007, une analyse épidémiologique rétrospective des conséquences des cas d'importation de rage canine de 2000 à 2005 a été initiée, en collaboration avec le Pr. D. Guillemot (Cerbep, Institut Pasteur). Les objectifs de cette étude sont d'une part de réaliser une analyse descriptive de l'influence d'un cas de rage canine en France, et d'autre part de faire une analyse critique du rôle de l'impact médiatique et de l'organisation de la surveillance de la rage en France. Un article scientifique est en cours de rédaction.

9 Liste des publications et communications

9.1 Publications nationales

- Laurent Dacheux, Maryvonne Goudal, Hervé Bourhy. Commentaires et propos accompagnant la publication d'un article "Vaincre la rage?" de Rodney Willoughby repris et publié dans "Pour la Science", mai 2008, 367, 44-50
- Laurent Dacheux, Florence Larrous, Didier Boisseleau, Alexandra Mailles, Michel Muller, Charlotte Biron, Olivier Delmas, François Raffi, Maryvonne Goudal, Hervé Bourhy. Premier cas de rage des chiroptères identifié chez un chat domestique en France et en Europe. Bulletin épidémiologique mensuel de la rage animale en France.
- Dacheux L, Peigue-Lafeuille, H., Bourhy H. Virus de la rage. Traité de Biologie Clinique, Biologie Clinique (sous presse).

9.2 Publications internationales

- Talbi C, Holmes EC, de Benedictis P, Faye O, Nakouné E, Gamatié D, Diarra A, Ould Elmamy B, Sow A, Adjogoua EV, Sangare O, Dundon WG, Capua I, Sall AA, Bourhy H. The evolutionary history and dynamics of dog rabies virus in west and central Africa. J Gen Virol. 2009 Mar 4. [Epub ahead of print].

- Dacheux L, Larrous F, Mailles A, Boisseleau D, Delmas O, Biron C, Bouchier C, Capek I, Muller M, Ilari F, Lefranc T, Raffi F, Goudal M, Bourhy H. European bat Lyssavirus transmission among cats, Europe. Emerg Infect Dis. 2009;15:280-4.

- Bourhy H, Reynes JM, Dunham EJ, Dacheux L, Larrous F, Huong VT, Xu G, Yan J, Miranda ME, Holmes EC. The origin and phylogeography of dog rabies virus. J Gen Virol. 2008;89:2673-81.
- Dacheux L, Reynes JM, Buchy P, Sivuth O, Diop BM, Rousset D, Rathat C, Jolly N, Dufourcq JB, Nareth C, Diop S, Iehlé C, Rajerison R, Sadorge C, Bourhy H. A reliable diagnosis of human rabies based on analysis of skin biopsy specimens. Clin Infect Dis. 2008;47:1410-7.
- Graham SC, Assenberg R, Delmas O, Verma A, Gholami A, Talbi C, Owens RJ, Stuart DI, Grimes JM, Bourhy H. Rhabdovirus matrix protein structures reveal a novel mode of self-association. PLoS Pathog. 2008;4:e1000251.
- Delmas O, Holmes EC, Talbi C, Larrous F, Dacheux L, Bouchier C, Bourhy H. Genomic diversity and evolution of the lyssaviruses. PLoS ONE. 2008;3:e2057.
- Berthet N, Dickinson P, Filliol I, Reinhardt AK, Batejat C, Vallaeys T, Kong KA, Davies C, Lee W, Zhang S, Turpaz Y, Heym B, Coralie G, Dacheux L, Burguière AM, Bourhy H, Old IG, Manuguerra JC, Cole ST, and Kennedy GC. Massively Parallel Pathogen Identification Using High-Density Microarrays. Microbial Biotechnology, 2008;1, 79-86.
- Iehlé C, Dacheux L, Ralandison S, Rakoto Andrianarivelo M, Rousset D, Bourhy H. Delivery and follow-up of a healthy newborn from a mother with clinical rabies. J Clin Virol, 2008;42, 82-5.
- Berthet N, Reinhardt AK, Leclercq I, van Ooyen S, Batéjat C, Dickinson P, Stamboliyska R, Old IG, Kong KA, Dacheux L, Bourhy H, Kennedy GC, Korfhage C, Cole ST, Manuguerra JC. Phi29 polymerase based random amplification of viral RNA as an alternative to random RT-PCR. BMC Mol Biol. 2008;9:77.
- French multidisciplinary investigation team. Identification of a rabid dog in France illegally introduced from Morocco. Euro Surveill. 2008;13. pii: 8066.
- Xu G, Weber P, Hu Q, Xue H, Audry L, Li C, Wu J, Bourhy H. WELYSSA: a simple tool using mouse monoclonal antibodies for the detection of lyssavirus nucleocapsid in rabies suspected specimens. Dev Biol (Basel). 2008;131:555-61.
- Amengual B, Bourhy H, López-Roig M, Serra-Cobo J. Active monitoring of EBLV infection in natural colonies of the mouse-eared Bat (Myotis myotis). Dev Biol (Basel). 2008;131:547-53.
- Dodet B; Africa Rabies Expert Bureau (AfroREB), Adjogoua EV, Aguemon AR, Amadou OH, Atipo AL, Baba BA, Ada SB, Boumandouki P, Bourhy H, Diallo MK, Diarra L, Diop BM, Diop SA, Fesriry B, Gosseye S, Hassar M, Kingé T, Kombila Nzamba TE, Yandoko EN, Nzengué E, Ramahefalalao EF 2nd, Ratsitorahina M, Simpore L, Soufi A, Tejiokem M, Thiombano R, Tiembré I, Traoré AK, Wateba MI. Fighting rabies in Africa: the Africa Rabies Expert Bureau (AfroREB). Vaccine. 2008;26:6295-8.
- Warrell MJ, Riddell A, Yu LM, Phipps J, Diggle L, Bourhy H, Deeks JJ, Fooks AR, Audry L, Brookes SM, Meslin FX, Moxon R, Pollard AJ, Warrell DA. A simplified 4-site economical intradermal post-exposure rabies vaccine regimen: a randomised controlled comparison with standard methods. PLoS Negl Trop Dis. 2008;2(4):e224.
- Assenberg R, Delmas O, Graham SC, Verma A, Berrow N, Stuart DI, Owens RJ, Bourhy H, Grimes JM. Expression, purification and crystallization of a lyssavirus matrix (M) protein. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2008;64:258-62.
- Gholami A, Kassis R, Real E, Delmas O, Guadagnini S, Larrous F, Obach D, Prevost MC, Jacob Y, Bourhy H. Mitochondrial dysfunction in lyssavirus-induced apoptosis. J Virol. 2008;82:4774-84.
- Coutard B, Gorbalenya AE, Snijder EJ, Leontovich AM, Poupon A, De Lamballerie X, Charrel R, Gould EA, Gunther S, Norder H, Klempa B, Bourhy H, Rohayem J, L'hermite E, Nordlund P, Stuart DI, Owens RJ, Grimes JM, Tucker PA, Bolognesi M, Mattevi A, Coll M, Jones TA, Aqvist J, Unge T, Hilgenfeld R, Bricogne G, Neyts J, La Colla P, Puerstinger G, Gonzalez JP, Leroy E, Cambillau C, Romette JL, Canard B. The VIZIER project: preparedness against pathogenic RNA viruses. Antiviral Res. 2008;78:37-46.
- Bourhy H, Gubala AJ, Weir RP, Boyle DB. Animal rhabdoviruses. In Encyclopedia of Virology, Ed by Mahy BWJ, Van Regenmortel MHV, Third Edition, 2008; Vol. 1, pp 111-121.

- Serra-Cobo J, Bourhy H, López-Roig M, Sánchez LP, Abellán C, Borràs M, Amengual B. Rabia en quirópteros: Circulación de EBLV-1 (Lyssavirus de murciélagos europeos tipo 1) en murciélagos de España. Boletín Epidemiológico Semanal. 2008 vol. 16 nº 15/169-180.
- Rotivel Y, Goudal M, De Fanti AS, Van Der Vliet D; French Rabies Traetment Centres. Epidemiology and prophylaxis of rabies in humans in France: evaluation and perspectives of a twenty-five year surveillance programme. Dev Biol (Basel). 2008;131:403-10.
- Gautret P, Soula G, Adamou H, Soavi MJ, Delmont J, Rotivel Y, Parola P, Brouqui P. Rabies postexposure prophylaxis, Marseille, France, 1994-2005. Emerg Infect Dis. 2008 Sep;14:1452-4.

9.3 Communications nationales

Présentations orales :

- Diversité et évpolution des lyssavirus. Xèmes Journées Francophones de Virologie, 27-28 mars 2008. Institut Pasteur, Paris (O. Delmas).
- La structure de la protéine de Matrice des Lyssavirus révèle un nouveau domaine de liaison aux motifs riches en Proline. Xèmes Journées Francophones de Virologie, 27-28 mars 2008. Institut Pasteur, Paris (O. Delmas).
- La rage, les médias et la communication: entre indifférence, panique et cacophonie. 28ème réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, 4-5 Décembre 2008, Palais des Congrès, Paris, France (Z. Lardon).
- Du diagnostic *intra-vitam* de la rage humaine à l'analyse du transcriptome cérébral chez les patients infectés: exemple de la collaboration du CNR/CCOMS Rage avec le réseau des Instituts Pasteur. Colloque organisé par la Commission des Laboratoires de Référence et d'Expertise (CLRE) de l'Institut Pasteur : "Des Pathogènes et des Hommes Chapitre II : De la recherche fondamentale à la recherche en Santé Publique", 31 mars 2008, Institut Pasteur, Paris (L. Dacheux).

Posters:

- Premiers cas de transmission de rage des chiroptères chez les carnivores domestiques. Xèmes Journées Francophones de Virologie, 27-28 mars 2008. Institut Pasteur, Paris (L. Dacheux).
- Naissance et suivi clinique et biologique d'un enfant né d'une mère en état de rage clinique. Xèmes Journées Francophones de Virologie, 27-28 mars 2008. Institut Pasteur, Paris. prochains à l'Institut Pasteur (L. Dacheux).
- Premier cas de rage des chiroptères identifié chez un chat domestique en Europe. 9ème Journées Nationales d'Infectiologie, 4-6 juin 2008, Marseille (L. Dacheux).
- La protéine de matrice du virus Mokola induit l'apoptose par la voie mitochondriale. Xèmes Journées Francophones de Virologie, 27-28 mars 2008. Institut Pasteur, Paris (A. Gholami).

Divers:

- The origin and phylogeography of dog rabies virus. Journées du département Infection et Epidémiologie, 1er décembre 2008, Institut Pasteur, Paris, France (C. Talbi).
- Impact de cas d'importation de rage sur l'activité des centres-anti-rabique en France (2000-2005). Journées du département Infection et Epidémiologie, 1er décembre 2008, Institut Pasteur, Paris, France (Z. Lardon).
- The evolutionary history and dynamics of dog rabies virus in west and central Africa, poster présenté lors des 15èmes rencontres doctorales, B2M Paris, 16 octobre 2008 (C. Talbi).

9.4 Communications internationales

Présentations orales :

- Best practices in diagnosis and surveillance, WHO-Intercountry expert workshop on protecting humans from domestic and wildlife rabies in Jordan and the middle east, Amman, Jordanie, 23 juin 2008 (H. Bourhy).

- From *intra-vitam* diagnosis of human rabies to gene expression profil analysis in brain of infected patients. Colloque scientifique du Réseau International des Instituts Pasteur: "La recherche sur les maladies infectieuses: un défi planétaire / Research on infectious diseases: a global challenge", 26-27 juin 2008, Institut Pasteur, Paris (L. Dacheux).

- A reliable diagnosis of human rabies based on skin biopsies. Rabies in the Americas (RITA) XIX , 28 septembre-3 octobre 2008, Atlanta, USA (L. Dacheux).
- Temporal dynamics of European bat lyssaviruses in natural colonies. Rabies in the Americas (RITA) XIX , 28 septembre-3 octobre 2008, Atlanta, USA (B. Amengual).

Posters:

- First description of European bat lyssavirus transmission in cats in Europe. Rabies in the Americas (RITA) XIX, 28 septembre-3 octobre 2008, Atlanta, USA (L. Dacheux).

9.5 Conférences sur invitations

- Meeting VIZIER, FP6 Project: 2004-511960, 42 mois, Bratislava, 23-25 avril 2008 (O. Delmas).
- Meeting VIZIER, 48 mois, Leiden, Pays-Bas, 9-10 octobre 2008 (H. Bourhy, O. Delmas).
- 2ème Meeting annuel de RABMEDCONTROL, Egypte, 18-22 avril 2008. (H Bourhy).
- Colloque « Santé et environnement dans le bassin méditerranéen », Carthage, Tunisie, 13-11 novembre 2008 (H. Bourhy).
- Symposium commémoratif DU 120ème anniversaire de l'Institut Pasteur et du 150ème anniversaire des relations diplomatiques franco-japonaises, organisé par l'Association PASTEUR JAPON, 23-29 octobre 2008 (H. Bourhy).
- Première journée d'études et de recherches à la mémoire du Dr. Charles Mérieux à l'Institut de recherche stratégique international pour la défense civile + Visite du P4 Lyon et à Sanofi Pasteur : Pharmacovigilance et étude RAB 33, du 9 au 11 janvier 2008 (Y. Rotivel).
- Participation à la 8ème Biennale de la Société de Médecine des Voyages, le 15 octobre 2008 (M. Goudal).

10 Programme d'activité 2009-2010

10.1 Introduction

De par son expérience acquise dans le domaine du diagnostic et de la lutte contre la rage, le CNRR possède une organisation structurale, une méthodologie et une compétence technique adaptées lui permettant de répondre à chacune des demandes spécifiques formulées dans le cahier des charges tout en assurant la traçabilité et la qualité des réponses données.

10.2 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. Les objectifs majeurs dans ce domaine du CNRR au cours de la période 2008-2009 sont le maintien du niveau d'Assurance-Qualité des résultats donnés ainsi que le perfectionnement des techniques diagnostiques utilisées.

10.2.1 Maintien de la démarche Qualité au CNRR

L'objectif du CNRR est de maintenir voire d'améliorer le niveau de Qualité atteint, notamment au travers la réalisation d'audits Qualité internes et externes (l'audit de surveillance n°2 du COFRAC a été réalisé le 18 février 2008 et a renouvelé le maintien de cette accréditation). Un nouvel audit de surveillance réalisé par le COFRAC (audit de surveillance n°3) est programmé en mai 2009. Il est à souligner que l'ensemble des techniques utilisées ou en développement pour le diagnostic *post-mortem* (technique immuno-enzymatique), pour le diagnostic *intra-vitam* (techniques de biologie moléculaire) ou pour le dosage des anticorps antirabiques (séroneutralisation et test ELISA) continueront d'être effectuées dans le même contexte d'Assurance-Qualité (norme ISO 17025) que celui suivi par les techniques accréditées par le COFRAC.

10.2.2 Amélioration des techniques de diagnostic de la rage

Le projet de standardisation biologique des techniques utilisées de diagnostic de la rage (acronyme RAGESTANDBIO) sera poursuivi au cours de l'année 2009, en collaboration avec les 14 Instituts du RIIP participants (Belgique, Cameroun, Côte d'Ivoire, République Centrafricaine, Madagascar, Sénégal, Algérie, Maroc, Tunisie, Iran, Cambodge, VietNam). L'analyse de l'essai interlaboratoire est en cours.

10.2.3 <u>Développement de la surveillance, du traitement et de la prévention de la rage en Afrique de l'ouest et du centre</u>

Le projet de surveillance, de traitement et d'organisation de la prévention de la rage en Afrique centrale et de l'ouest (acronyme STOPRAGE) en collaboration avec les Instituts Pasteur de Dakar au Sénégal, de Côte d'Ivoire, de République Centrafricaine et de Paris sera poursuivi au cours de l'année 2009.

10.3 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. L'année 2008 a de ce point de vue confirmé l'efficacité de ce processus d'alerte. Sept alertes ont été déclenchées par le CNRR en 2008 et à ce jour aucun cas secondaire n'est à déplorer.

10.3.1 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 en 2009 les mesures d'urgence mises en place, 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 l'InVS,
- la communication d'informations adaptées au grand public et à la presse.

Une adresse courriel unique pour le CNRR (<u>cnrrage@pasteur.fr</u>) permet de joindre de manière certaine un des responsables du CNRR. Enfin deux téléphones portables assurent la possibilité de joindre un responsable du CNRR de manière quasi-continue.

10.3.2 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). De fait, cette journée continue d'être proposée par le CNRR à l'ensemble des médecins de CAR.

Il est proposé de continuer l'organisation de rencontres des CAR. Cinq réunions des CAR ont déjà été organisées (1989, 1994, 2003, 2005 et la dernière en novembre 2007). La prochaine journée est prévue en 2009.

10.4 Evaluation des risques, des thérapeutiques, recommandations

10.4.1 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 corrects de prise en charge et des indications de vaccination ou de traitement 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'amélioration, la mise au point, l'évaluation des produits biologiques (vaccins et immunoglobulines) et des protocoles d'utilisation de ces produits. En particulier, des études sur l'immunité à long terme induite par la vaccination antirabique ainsi que sur l'analyse qualitative de l'immunité induite par la vaccination sont en cours. L'information du corps médical plus particulièrement en direction des infectiologues, des pédiatres, des urgentistes et aussi des généralistes est une priorité pour l'année 2009. Cette information est prévue par le biais de présentations dans les journées et réunions nationales ou régionales des spécialistes et par le biais de publications dans des revues spécialisées telles que l'Encyclopédie médico-chirurgicale ou la revue francophone des laboratoires.

10.4.2 <u>Cas particulier de la prévention de la rage chez les chiroptérologues</u>

De par leur activité, et de façon bénévole, les chiroptérologues ont une implication forte dans la surveillance de cette zoonose. Au cours de l'année 2009, 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.

10.4.3 Contribution à la surveillance européenne et internationale

L'UPRE DyLAH est coordinateur administratif d'un projet européen FP6/2AP/INCO-MPC2 (acronyme RABMEDCONTROL) pour une durée de 3 ans et demi à partir de 2006. Ce projet vise à contrôler la rage en Afrique du Nord. Le CNRR est également coordinateur d'un projet de standardisation biologique des techniques

utilisées dans le diagnostic de la rage (acronyme RAGESTANDBIO) au sein des laboratoires de référence pour la rage situés dans les Instituts du RIIP. Ce projet, débuté en 2007 pour une période de 2 ans, implique initialement 14 Instituts du RIIP (Belgique, Cameroun, Côte d'Ivoire, République Centrafricaine, Madagascar, Sénégal, Algérie, Maroc, Tunisie, Iran, Cambodge, VietNam) et sera étendu à terme aux autres pays européens qui le souhaitent. Le CNRR participe également au projet de surveillance, de traitement et d'organisation de la prévention de la rage en Afrique centrale et de l'ouest (acronyme STOPRAGE) en collaboration avec les Instituts Pasteur de Dakar au Sénégal, de Côte d'Ivoire et de République Centrafricaine. Initié fin 2007, ce projet se déroule sur une période de 2 ans.

11 Conclusion

11.1 Importance de l'activité du CNRR en santé publique

Le CNRR analyse les prélèvements d'animaux suspects de contamination humaine et organise la formation et l'information des différents partenaires impliqués dans la prophylaxie de la rage chez l'homme. Le CNRR est le coordinateur au niveau national de la surveillance de la rage humaine en France. Il participe au développement de nouvelles techniques de diagnostic ainsi qu'à la caractérisation de nouveaux isolats de rage.

11.2 Importance de l'activité du CNRR à l'échelle internationale

Les techniques développées au CNRR sont maintenant appliquées dans plusieurs pays et de nombreux stagiaires étrangers viennent les apprendre. Le CNRR est aussi très souvent sollicité par des organismes internationaux telle l'OMS pour des expertises de réactifs ou de vaccins de référence dans le cadre d'études collaboratives internationales et pour des missions d'aide à des structures de surveillance de la rage à l'étranger.

11.3 Evolution de l'épidémiologie de la rage

L'épidémiologie de la rage en France a profondément changé au cours des quinze dernières années. L'éradication de la rage des animaux terrestres non-volants a été obtenue en 1998. Cependant, l'importation illicite d'animaux en provenance de zones d'enzootie fait courir un risque non seulement aux propriétaires d'animaux, mais aussi à toutes les personnes et aux animaux en contact.

Le risque de rage chez le voyageur et l'expatrié est particulièrement présent, qu'il soit lié à des animaux rencontrés dans le pays d'accueil ou bien aux animaux domestiques du voyageur ou de l'expatrié lui-même. A la suite du dernier cas de rage humaine survenu en 2003 chez un enfant infecté au Gabon, un rapport du groupe de travail du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France a été publié en 2004 « Recommandations relatives à la conduite à tenir dans l'entourage d'un cas de rage humaine en France ». C'est dans ces cas d'exposition particulière et prévisible que la vaccination antirabique avant exposition peut être proposée.

La rage des chiroptères présente sur tout le territoire français constitue un risque qui doit être présent à l'esprit de tous ceux qui sont impliqués dans la prophylaxie de la rage humaine. Le rapport du groupe de travail du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France est disponible sur le site du Ministère de la Santé. Les CAR doivent être particulièrement au fait de ce risque, surtout dans les populations de chiroptérologues amateurs réunies en associations actives pour la sauvegarde des chauves-souris et particulièrement exposées au risque de

morsure. De plus, le cas récent de rage des chiroptères identifié chez un chat domestique en Vendée met au premier plan le risque de transmission de cette rage aux carnivores domestiques, voire à l'homme. Enfin, il convient de souligner la situation épidémiologique particulière de la Guyane pour laquelle le risque de transmission de la rage des chauves-souris hématophages à l'homme ou l'animal persiste, comme le démontre le cas du patient guyanais décédé en 2008 de rage desmodine.

Les personnes sont actuellement exposées à de nombreux génotypes et variants des lyssavirus que ce soit sur le territoire français ou lors de voyages. La plupart de ces nouveaux génotypes sont des virus des chiroptères et beaucoup ont été isolés chez l'homme, à l'autopsie (virus Duvenhage en Afrique du Sud, virus EBLV en Europe central, etc).

12 Faits marquants en 2008

Au cours de l'année 2008, le Centre National de Référence pour la Rage (CNRR) a dû faire face à un nombre inhabituel d'alertes, qui ont eu un impact sur l'activité du laboratoire du CNRR (près de 70% d'activité supplémentaire en 2008 par rapport à 2007).

Ainsi, 3 cas de rage canine liés à des importations illégales ont été identifiés par le CNRR:

- le 26/02/08 : diagnostic de rage chez un chien vivant en Seine-et-Marne. Cet épisode conduisit à l'identification rétrospective d'une chaîne de transmission de rage canine autochtone (2 cas successifs de transmission de rage sur le territoire français) suite à l'importation d'un chien enragé du Maroc, et entraîna la perte du statut de pays indemne de rage terrestre des animaux non-volants.
- le 24/04/08, diagnostic de rage chez un chien introduit illégalement en Belgique puis dans le Var en France à partir de la République de Gambie.
- le 14/11/08, diagnostic de rage chez un chien vivant en Isère, et ayant été adopté sur un parking à Malaga en Espagne.

Le typage du virus fut réalisé très rapidement par le CNRR (au maximum 3 jours après l'établissement du diagnostic) et permis de conforter les résultats de l'enquête épidémiologique préliminaire (deuxième cas) voir de l'orienter (dans le premier et le troisième cas). Le CNRR participa activement à la campagne médiatique d'informations. Enfin, au travers d'une antenne mobile du CAR de l'Institut Pasteur, le CNRR contribua en Seine-et-Marne à l'information des patients et réalisa le premier tri de ceux nécessitant un traitement antirabique. Cette série de cas de rage canine ainsi que les 2 cas isolés qui ont suivi sont sans précédent depuis 1924 en France. Deux d'entre eux sont dus à des importations illégales de chiens en provenance du Maroc et soulignent l'importance de maintenir un niveau de vigilance élevé vis-à-vis de la rage en France et notamment vis-à-vis du risque lié aux importations illégales d'animaux domestiques en provenance en particulier d'Afrique du nord.

Le 28 mai 2008, le CNRR confirma le diagnostic de **rage chez un résident guyanais** décédé au Centre Hospitalier de Cayenne dans un tableau de méningo-encéphalite. Le virus identifié est un lyssavirus de type desmodin circulant chez les chauves-souris hématophages, un virus enzootique dans cette région du monde. Il s'agit du premier cas humain de ce type identifié dans le département de la Guyane. L'enquête épidémiologique qui s'en suivit aboutit à 112 consultations de patients dans un CAR et à l'instauration de 88 traitements antirabiques post-exposition. L'épisode, d'une manière plus générale, eut pour corollaire une forte augmentation

de l'activité du CAR (plus de 450 traitements débutés en Guyane en 2008) en raison de la sensibilisation du public et des médecins au risque rabique.

Cette même année, **3 autres cas** de rage furent aussi déterminés par le CNRR **chez des chauves-souris** de l'espèce sérotine commune provenant du territoire métropolitain. Le typage des isolats confirma que ces 3 cas correspondent au cycle de rage des chauves-souris, enzootique sur le territoire métropolitain et plus généralement européen.

A l'occasion de chaque cas, le CNRR participa activement aux actions de conseils et d'expertise scientifique, médicale et épidémiologique à destination de l'InVS, de la DGS (Ministère de la santé), des CAR français mais aussi de l'Afssa et de la DGAI (Ministère de l'agriculture). Toutes ces répercutions purent être suivies et analysées en temps réel par le CNRR grâce aux bases de données qu'il administre et/ou constitue. Ces événements survenus en 2008 démontrent la capacité de réactivité du CNRR et l'importance de son action afin de limiter la propagation d'une nouvelle épizootie de rage canine en France ainsi que les conséquences en santé publique des cycles existants en France métropolitaine et dans les départements d'outre-mer.

En dépit du contexte épidémiologique chargé et de l'augmentation importante du nombre de demandes d'analyses enregistrées au cours de l'année 2008, l'audit de surveillance effectué par le COFRAC le 18 février 2008 a conduit au maintien de l'accréditation du CNRR (N° d'accréditation 1-1692, référentiel ISO 17025) pour la réalisation des techniques de détection d'antigène rabique par immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de bulbe ou de cortex et d'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins.

13 Annexes (à diffuser)

Tableau V: Nombre de prélèvements par espèce reçu au CNRR en 2008.

(Tous ces animaux proviennent de France métropolitaine)

ESPECE	NOMBRE RECU	POSITIF
ANIMAUX DOMESTIQUES BOVIN CHAT CHIEN EQUIN FURET	11 774 895 9 14	1
ANIMAUX SAUVAGES BLAIREAU CHAT SAUVAGE FOUINE MARTRE PUTOIS RENARD SANGLIER SINGE	3 1 8 1 1 57 1 3	
INSECTIVORES CHAUVE-SOURIS	54	3
RONGEURS et LAGOMORPHES ECUREUIL HAMSTER LAPIN LOIR RAGONDIN RAT RONGEURS DIVERS	4 2 1 1 1 13 1	
TOTAL	1 855	4

.....

Tableau VI: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2008.

DEPARTEMENTS		ANIMAUX DOMESTIQUES			ANIMAUX SAUVAGES		
		NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS
01	AIN	26			2		
02	AISNE	35			3	1	
03	ALLIER	12			2		
	ALPES DE HAUTE PROVENCE	6		******************************	1		*************
	HAUTES-ALPES	7			11		
	ALPES-MARITIMES	15			3		
07	ARDECHE*	15			0		
8	ARDENNES	11			1		
09	ARIEGE AUBE	<u>3</u> 22			2		
11	AUDE	8			0	-	
12	AVEYRON	3			0		
13	BOUCHES-DU-RHONE	37	************************************		3		*****
	CALVADOS	29			0		
	CANTAL	2			0		
16	CHARENTE	9			1		
17	CHARENTE MARITIME	23			2		
18	CHER	13			1		***************
19	CORREZE	7		***************************************	1		******************************
20	CORSE	4			0		
	COTES D'OR	30			0		
22	COTES D'ARMOR	18			0		
23	CREUSE	3			2		
24	DORDOGNE	9			2		
25	DOUBS	13			1		
26	DROME	13			1		
27	EURE	15		*************************	2		***********************
28	EURE & LOIR	15			1	1	
29	FINISTERE	38			6		
30	GARD	15			2		
	HAUTE-GARONNE	33			11		
	GERS	9		***************************************	11	1	
33	GIRONDE	25			44		1
34	HERAULT	25			11		
35	ILLE & VILAINE	26			2		
36	INDRE	9			2		
37	INDRE & LOIRE	15			3		
38	JURA	19 10			1		
39 40	LANDES	10 15			0		
41	LOIR & CHER*	15 14			2		
41	LOIR & CHER	31			0	1	
43	HAUTE-LOIRE	4			0	<u> </u>	
***************************************	LOIRE ATLANTIQUE	21	1	*******************************	2		****************************

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

Tableau VI (suite).

46 LL 47 LL 48 LL 49 N 50 N 51 N 52 H 53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	DEPARTEMENTS LOIRET LOT LOT & GARONNE* LOZERE MAINE & LOIRE MANCHE MANCHE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	NEGATIFS 17 9 19 0 19 10 9 7 7 52 7 34 30 15	IMPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS 2 0 1 1 0 1 3 0 0 0	IMPOSSIBLES	POSITIFS
46 LL 47 LL 48 LL 49 N 50 N 51 N 52 H 53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	LOT LOT & GARONNE* LOZERE MAINE & LOIRE MANCHE MARNE HAUTE-MARNE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	9 19 0 19 10 9 7 7 52 7 34 30			0 1 1 0 1 3 0		
47 LL 48 LL 49 N 50 N 51 N 52 H 53 N 55 N 56 N 57 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	LOT & GARONNE* LOZERE MAINE & LOIRE MANCHE MARNE HAUTE-MARNE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	19 0 19 10 9 7 7 52 7 34 30			1 1 0 1 3 0		
48 LL 49 N 50 N 51 N 52 H 53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	LOZERE MAINE & LOIRE MANCHE MARNE HAUTE-MARNE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	0 19 10 9 7 7 52 7 34 30			1 0 1 3 0		
49 N 50 N 51 N 52 H 53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F	MAINE & LOIRE MANCHE MARNE HAUTE-MARNE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	19 10 9 7 7 52 7 34 30			0 1 3 0		
50 N 51 N 52 H 53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 59 N 60 G 61 G 62 F 63 F 64 F 65 H	MANCHE MARNE HAUTE-MARNE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	10 9 7 7 52 7 34 30			1 3 0 0		
51 N 52 H 53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F	MARNE HAUTE-MARNE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	9 7 7 52 7 34 30			3 0 0		
52 H 53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	HAUTE-MARNE MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	7 7 52 7 34 30 15			0 0		
53 N 54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	MAYENNE MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	7 52 7 34 30 15			0		
54 N 55 N 56 N 57 N 58 N 59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	MEURTHE-ET-MOSELLE MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD OISE ORNE	52 7 34 30 15					
55 N 56 N 57 N 58 N 59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H 66 F	MEUSE MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD DISE ORNE	7 34 30 15					
56 N 57 N 58 N 59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	MORBIHAN MOSELLE NIEVRE NORD DISE ORNE	34 30 15			0		
57 N 58 N 59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	MOSELLE NIEVRE NORD DISE ORNE	30 15			1		
58 N 59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	NIEVRE NORD OISE ORNE	15	ii		2		
59 N 60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	NORD OISE ORNE				2		
60 C 61 C 62 F 63 F 64 F 65 H	OISE ORNE				0		
61 C 62 F 63 F 64 F 65 H 66 F	ORNE	27			0		
61 C 62 F 63 F 64 F 65 H 66 F	ORNE	23			3		
62 F 63 F 64 F 65 H 66 F		29	****		1		
63 F 64 F 65 H 66 F	PAS-DE-CALAIS	13			3		
64 F 65 F	PUY-DE-DOME	5			0	†	
65 H 66 F	PYRENEES ATLANTIQUES	19	1		1	†	
66 F	HAUTES PYRENNES	11			0		
	PYRENEES ORIENTALES	16			2	†	
	BAS-RHIN	17	***************************************		<u></u>	-	
	HAUT-RHIN	40			7	† 	
	RHONE	37			3	†	
	HAUTE-SAONE	5			0	 	
	SAONE & LOIRE	22			4	 	
	SACINE & LOIRE SARTHE	7			1	+	
	SAVOIE	29			3	-	
	HAUTE-SAVOIE	32			5	-	
	SEINE-MARITIME	17			2		
		8			1	 	
	DEUX-SEVRES		****				
	SOMME	14 14			2	-	
	TARN				2	 	
	TARN & GARONNE	10			0	ļ	
	VAR	24			1	+	
	VAUCLUSE	21	***************************************		1	-	
	VENDEE	17			6	ļ	1
	VIENNE	19			1	+	
	HAUTE-VIENNE	23			3	+	
	VOSGES	8			1	-	
	YONNE	13			0	+	1
90 T	TERRITOIRE DE BELFORT	5			2		
	REGION PARISIENNE :				***************************************		
	PARIS	18			0	ļ	
	SEINE & MARNE	54		11	3	ļ	
	YVELINES	23			2	ļļ	
*************	ESSONNES	19			2	ļ	
	HAUTS DE SEINE	28			2	<u> </u>	
	SEINE ST-DENIS	27	1		1	<u> </u>	
	VAL DE MARNE	30			3		
95 V	VAL D'OISE	34			1		
		1 705	3	1	143	4	3

^{*} Les prélèvements du Lot & Garonne sont acheminés par l'intermédiaire du LVD de la Gironde (parfois du LVD du Tarn & Garonne).

RESUME DU RAPPORT D'ACTIVITE 2008 DU CENTRE NATIONAL DE REFERENCE POUR LA RAGE

Activités de diagnostic du CNRR

- Analyse de 1928 prélèvements animaux suspects de contamination humaine.
- Analyse de 11 suspicions d'encéphalite rabique chez l'homme.
- Réalisation de 251 contrôles d'anticorps (sérums et LCR) chez des individus exposés professionnellement,
 des patients en cours de traitement et des malades.
- Typage de 344 isolats de rage.
- Recherche sérologique sur 746 sérums de chauves-souris.

Mission de surveillance épidémiologique et de conseil

- Analyse des données concernant les consultations des CAR en France. Les données intégrales seront disponibles courant juin 2009 et regroupées dans un Bulletin envoyé aux organismes de tutelle et à tous les partenaires du CNRR.
- Selon les analyses préliminaires, 7060 patients ont consulté un CAR en France et 49% d'entre eux ont reçu un traitement antirabique post-exposition. Le CAR de Paris a enregistré 1396 consultants (augmentation de 14% par rapport à 2007) parmi lesquels 895 patients (64%) ont été traités.
- Réponses aux demandes de renseignements, conseils et résultats biologiques émanant de personnes mordues, de médecins, de vétérinaires praticiens, de biologistes, de CAR ainsi que des DDSV.

Conséquences en santé publique

- Identification d'un cas de rage desmodine humaine chez un résident guyanais décédé au centre hospitalier de Cayenne dans un tableau de méningo-encéphalite. Il s'agit du premier cas humain lié à un lyssavirus circulant chez les chauves-souris hématophages identifié dans le département de la Guyane.
- Identification de **3 cas de rage canine** liés à des importations illégales, dont l'un d'entre eux a conduit à l'identification rétrospective d'une chaîne de transmission de rage canine autochtone (2 cas successifs de transmission de rage sur le territoire français) suite à l'importation d'un chien enragé du Maroc, entraînant la perte du statut de pays indemne de rage terrestre des animaux non-volants.
- Identification de 3 cas de rage des chauves-souris de l'espèce sérotine commune provenant du territoire métropolitain.

Aboutissement de la démarche Qualité du CNRR

- Accréditation par le COFRAC maintenue pour le CNRR (pour deux techniques de diagnostic de la rage) après un audit de surveillance réalisé le 18 février 2008.

Apports des activités de recherche

- Validation d'un nouveau protocole de diagnostic intra-vitam de la rage humaine.
- Détermination des conditions de diffusion de la rage canine dans le monde et en Afrique centrale et de l'ouest par analyses phylogéniques.