

Centre National de Référence de la Rage

Rapport d'activité

Année 2013



Directeur:

H. Bourhy

Directeurs-adjoints:

L. Dacheux

F. Ribadeau-Dumas

Secrétariat:

E. Martin

Unité "Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte"

Institut Pasteur

Table des matières

Résumé analytique de l'activité du Centre National de Référence de la Rage (CNRR)	5
1 Missions et organisation du CNR de la Rage (CNRR)	7
2 Activité d'expertise	7
2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2013	7
2.2 Activités d'expertise de l'année 2013 : Diagnostic de la rage en France.....	7
2.2.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine	7
2.2.2 Chez l'homme.....	10
2.2.3 Analyses sérologiques.....	11
2.2.4 Distribution de souches, prélèvements et sérums de référence.....	11
3 Activités de surveillance	11
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	11
3.1.1 Description des circuits de surveillance et analyses épidémiologiques	11
3.1.1.1 Circuit humain	13
3.1.1.1.1 Suspensions de rage humaine	13
3.1.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine	14
3.1.1.2 Circuit animal.....	17
3.1.2 Conclusions.....	18
3.1.2.1 Surveillance de la rage animale en France	18
3.1.2.2 Prophylaxie de la rage humaine en France.....	18
3.2 Participation aux réseaux de surveillance.....	19
3.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	20
4 Alertes	20
4.1 Procédure d'alerte de l'InVS et de la DGS	20
4.2 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux	21
5 Activités d'informations, de formation et de conseil.....	21
5.1 Diffusion des résultats animaux	21
5.2 Centralisation et diffusion des données sur la prophylaxie de la rage chez l'homme.....	22
5.3 Activités de conseil aux professionnels	22
5.4 Activités d'expertise auprès du ministère chargé de la santé, de l'Institut de Veille Sanitaire, des agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité en Santé, de structures européennes (ECDC, etc.) ou internationale (OMS, etc.)	23
5.4.1 Analyse chronologique des actions au niveau national	23

5.4.2	Actions au niveau international	24
5.5	Enseignements	25
5.5.1	Cours et formations	25
5.5.2	Stagiaires	26
5.6	Conférences et participation à des réunions d'experts	27
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNRR	28
6.1	Activités de recherche en cours	28
6.1.1	Etudes sur la dynamique spatio-temporelle de la rage canine	28
6.1.2	Recherches sur l'épidémiologie et la physiopathogénie des lyssavirus de chauves-souris	29
6.1.3	Etude des mécanismes de franchissement de la barrière d'espèce par le virus de la rage	30
6.1.4	Aspects médico-économiques en contexte d'éradication de la rage	30
6.1.5	Collaboration CNRR, CIBU, PATHOQUEST, Plate-forme Santé publique, SPILF, InVS et Fondation Mérieux sur le thème des encéphalites en France	31
6.1.6	Développement de la surveillance et caractérisation des agents responsables des encéphalites en Afrique de l'Ouest et du centre	31
6.1.7	Développement de molécules inhibitrices des complexes de multiplication et de transcription des virus à ARN et du virus de la rage en particulier	31
6.1.8	Echappement des lyssavirus aux mécanismes d'immunité innée de l'hôte	31
6.2	Liste des publications et communications	32
6.2.1	Publications internationales	32
6.2.2	Communications nationales	32
6.2.3	Communications internationales	33
6.2.4	Conférences sur invitations	33
7	Coopération avec l'Anses-Nancy	34
8	Programme d'activité pour la période 2014-2015	34
8.1	Introduction	34
8.2	Diagnostic de la rage en France: Rapidité, Fiabilité et Qualité	34
8.3	Contribution à la surveillance et rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial	35
8.4	Conseil	35
8.4.1	Mesures générales	35
8.4.2	Surveillance épidémiologique des pratiques de prophylaxie post-exposition en France	35
8.4.3	Cas particulier de la prévention de la rage chez les chiroptérologues	36
8.4.4	Coordination entre le CNRR et les CAR	36
8.5	Activités de recherche en lien avec le CNRR	36
Annexe 1:	Missions et organisation du CNR	37

1. Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR	37
2. Effectif et qualification du personnel du CNRR	38
2.1. Organigramme général	38
2.2. Effectif par catégorie de fonction	38
2.3. Personnel technique	39
2.4. Personnel cadre	39
3. Locaux et équipements du CNRR	39
3.1. Locaux	39
3.1.1. Locaux de l'unité DyLAH utilisés par le CNRR	39
3.1.2. Locaux du Centre Médical affectés au CNRR (jusqu'en septembre 2013)	41
3.2. Matériel et équipement actuels de la structure	41
4. Démarche Qualité au sein du CNRR	41
Annexe 2: Capacités techniques du CNR	43
1. Liste des techniques de référence	43
1.1. Techniques de diagnostic post-mortem	43
1.2. Techniques de diagnostic intra-vitam	43
1.3. Typage des isolats	43
2. Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles	44
2.1. Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine	44
2.2. Banque de données N°2 : Suspensions de rage humaine et suivi sérologique	44
2.3. Banque de données N°3 : Consultations et traitements antirabiques	45
2.4. Aspects réglementaires et légaux	45
3. Collections de souches, prélèvements et sérums de référence	45
3.1. Descriptions et conditions de stockage	45
3.2. Conditions de mise à disposition de ces collections	46
4. Liste des techniques recommandées par le CNRR	47
Annexe 3	49

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau I: Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2013.....	Page 8
Tableau II: Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2013.....	Page 8
Tableau III: Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2013 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental	Page 9
Tableau IV: Résultats des prélèvements en provenance directe de l'étranger reçus en 2013.....	Page 9
Tableau V: Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2013 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques.....	Page 10
Tableau VI: Cas humains de rage recensés en France depuis 1970	Page 14
Tableau AI: Effectif par catégorie de fonctions	Page 38
Tableau AII: Nombre de prélèvements par espèce reçu au CNRR en 2013.....	Page 48
Tableau AIII: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2013	Page 49

Liste des figures

Figure 1: Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2001	Page 8
Figure 2: Description des circuits de surveillance de la rage en France.....	Page 12
Figure 3 : Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France.....	Page 12
Figure 4 : Evolution du nombre de traitements et de consultants en post-exposition de 2003 à 2012.....	Page 16
Figure 5 : Evolution du nombre de traitements antirabiques chez les patients exposés à l'étranger (1982-2012).....	Page 16
Figure A1 : Organigramme général du CNRR.....	Page 38
Figure A2 : Plans des locaux de l'unité DyLAH (utilisés par le CNRR).....	Page 39

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

Enjeux de santé publique

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

Missions de surveillance épidémiologique et d'alerte

Le CNRR est en charge des **analyses de laboratoire** concernant toutes les **suspensions de rage humaine** ainsi que toutes les **suspensions de rage animale susceptibles d'avoir contaminé l'homme**. Le CNRR collabore avec le LNR de la Rage (Anses-Nancy) en ce qui concerne la surveillance de la rage animale. En 2013, 1260 suspicions chez l'animal et 8 suspicions chez l'homme ont été investiguées par le CNRR. **Aucun cas humain** n'a été identifié. Cependant **deux cas animaux** ont été mis en évidence et les virus ont été génotypés.

- Le 5 août 2013, un **nouveau lyssavirus** a été identifié **chez une chauve-souris** de l'espèce *Myotis nattereri* (ou murin de Natterer) provenant de Savoie. Il s'agit du 4^{ème} isolement du virus Bokeloh bat lyssavirus en Europe et du 2^{ème} en France. Plusieurs personnes de la même famille ont été exposées et ont reçu une prophylaxie post-exposition.
- Le 31 octobre 2013, un **chaton** en provenance d'Argenteuil dans le Val d'Oise a été diagnostiqué enragé par le CNRR. Ce chaton a été découvert dans la rue le 25 octobre et est mort le 28 octobre sans qu'on connaisse sa provenance. La caractérisation du virus a montré qu'il s'agissait d'un **cas d'importation du Maroc**, ce qui a été ultérieurement confirmé au travers de l'enquête épidémiologique datant l'importation à la fin septembre. Suite à l'enquête des services sanitaires du Val d'Oise, **quarante-quatre personnes exposées** ont été identifiées dont 20 ont bénéficié d'une prophylaxie post exposition.

Afin de maintenir la qualité des analyses effectuées, le **CNRR est accrédité par le Cofrac** pour les **analyses vétérinaires** (ISO 17025, section Laboratoire, accréditation N°1-1692) ainsi que pour les **analyses humaines** dans le cadre du laboratoire de référence et d'expertise multi-site de l'Institut Pasteur dont fait partie le CNRR (ISO 15189, accréditation N° 8-2588).

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

Le récent cas d'importation d'un chat enragé et l'identification d'un nouveau lyssavirus de chauve-souris démontrent la nécessité de **poursuivre la surveillance** de la rage chez l'homme et chez l'animal afin **d'identifier rapidement les risques** et de **protéger la population** française par des mesures appropriées. Dans ce contexte, les actions du CNRR en 2013 ont visé :

-
- la révision des recommandations en matière de vaccination préventive émises par le Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP, disponible à l'adresse <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=316>).
 - l'analyse bénéfice-risque et coût-efficacité de la prophylaxie post-exposition en France métropolitaine afin de contribuer activement à l'élaboration de recommandations françaises en matière de prophylaxie post-exposition.
 - la compréhension du rôle de l'écologie des chiroptères en Europe dans la dissémination des lyssavirus de chauves-souris. A ce titre, le CNRR a effectué 544 séroneutralisations sur des sérums de chauves-souris en 2013.
 - l'analyse des difficultés de prise en charge des populations amérindiennes en Guyane exposées à la rage des chauves-souris hématophages et la recommandation d'une communication ciblée auprès de ces populations.

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

- Le CNRR **répond quotidiennement aux demandes** de renseignements, conseils et résultats biologiques émanant de médecins, de vétérinaires praticiens, de biologistes, de CAR ainsi que des services vétérinaires.
- Les données concernant **l'analyse épidémiologique de la prophylaxie de la rage humaine en France** sont disponibles pour l'année 2012 (8038 dossiers provenant des CAR en France) et ont fait l'objet d'une analyse dans le dernier Bulletin Epidémiologie et Prophylaxie de la rage humaine en France paru en 2014 (et disponible à l'adresse <http://www.pasteur.fr/ip/resource/filecenter/document/01s-00004h-07f/bulletin-2012.pdf>). Le nombre de patients exposés et celui des traités (49% du total) est en très faible baisse sans rapport avec la situation épidémiologique favorable.
- Le CNRR plaide depuis des années pour une **révision des pratiques en matière de prophylaxie anti-rabique**. Il a participé au sein du HCSP à la révision des recommandations nationales en matière de vaccination préventive et a donné son avis à la DGS en matière de prophylaxie post-exposition. Le CNRR travaille aussi à la production de données médico-économiques afin d'étayer la position française dans ce domaine.

Contribution aux réseaux internationaux de surveillance

Le CNRR contribue, en liaison avec le CCOMS Rage hébergé dans la même unité de recherche à l'Institut Pasteur, à la surveillance de la rage en Europe et plus généralement dans le monde:

- **En liaison avec l'ECDC:** exclusion d'un diagnostic de rage chez un patient sur demande des autorités grecques et de l'ECDC, animation de la réunion sur le contrôle de la rage dans le bassin méditerranéen organisée par le Technical Assistance Information Exchange Instrument (TAIEX) de la Direction générale de l'élargissement de la Commission Européenne.
- **Aide aux pays en développement,** en particulier africains, pour le contrôle de la rage par des actions de formations (cours et conférences sur la rage) et de lobbying en collaboration avec des organisations internationales (OMS, Alliance mondiale pour la rage, réseau AfroREB, réseau international des Instituts Pasteur, etc.). Ces actions contribuent à la diminution du fardeau de la rage dans ces pays et par voie de conséquence à la réduction du risque d'importation d'animaux enrégés en Europe et plus particulièrement en France.

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

Le Centre National de Référence de la Rage (CNRR) exerce depuis longtemps un rôle majeur dans la prophylaxie de la rage humaine en France. Situé dans l'unité "Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte" (DyLAH) au sein de l'Institut Pasteur, il est placé sous la responsabilité du Dr. Vét. Hervé Bourhy, qui est secondé par le Dr. Pharm. Laurent Dacheux et, jusqu'en septembre 2013, par le Dr. Méd. Florence Ribadeau-Dumas. Durant sa période d'activité, ce second adjoint assurait également la responsabilité du Centre Antirabique (CAR) situé au sein de ce Centre Médical.

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

2 Activité d'expertise

2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2013

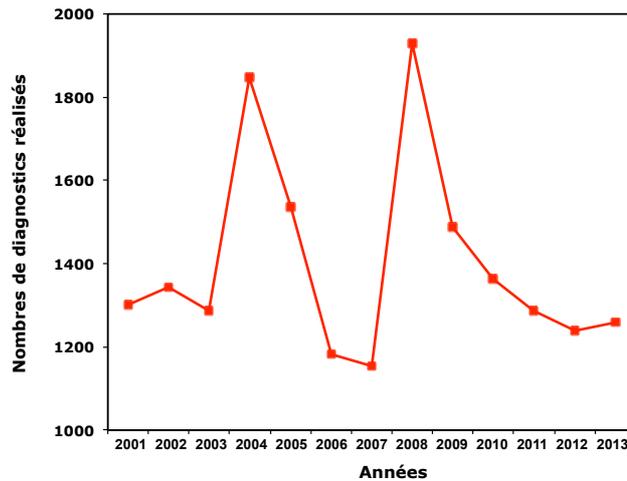
Aucune évolution notable des techniques mises en œuvre au CNRR n'a été réalisée en 2013 (Annexe 2).

2.2 Activités d'expertise de l'année 2013 : Diagnostic de la rage en France

2.2.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine

Tous les prélèvements animaux sont adressés par les Directions Départementales de la Protection des Populations (DDPP ou DDCSPP), par les Laboratoires Vétérinaires Départementaux (LVD) ou par les Ecoles Nationales Vétérinaires. Quelle que soit l'origine géographique des prélèvements, les analyses du CNRR portent exclusivement sur des animaux suspects de rage ayant pu entraîner une contamination humaine par léchage, griffure ou morsure, voire par simple manipulation. Ce sont des animaux sauvages ou domestiques, abattus ou décédés pendant la période de mise sous surveillance vétérinaire. Les prélèvements sont constitués de la tête de l'animal, voire de l'animal entier ou de l'encéphale s'il s'agit respectivement de petits ou de très gros animaux. En 2013, le CNRR a reçu un total de 1260 prélèvements animaux, correspondant à un volume d'activité stable comparé à celui des deux années précédentes (diminution de 2% versus 2011 et augmentation de 2% versus 2012).

Figure 1: Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2001.



Parmi les 1260 prélèvements animaux réceptionnés au CNRR en 2013, 1219 échantillons étaient originaires de France métropolitaine (Tableau I), 19 prélèvements étaient originaires des départements d'outre-mer (Tableau II) et 19 prélèvements provenaient de l'étranger et ont été reçus par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de la Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental français (Tableau III).

Tableau I: Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2013.

	RESULTATS				TOTAL
	NEGATIFS	POSITIFS	IMPOSSIBLES	DEMANDES ANNULEES	
Animaux domestiques	1137	0	1*	2**	1140
Animaux sauvages	77	1	1*	0	79
TOTAL	1214	1	2*	2**	1219

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

** Demandes de diagnostic annulées après la réception des échantillons pour 2 animaux (chats).

Tableau II: Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2013.

FRANCE D'OUTRE-MER		RESULTATS		
		NEGATIFS	POSITIFS	TOTAL
GUADELOUPE	Chat	1	0	1
	Chauve-souris	1	0	1
GUYANE	Chats	7	0	7
	Chiens	4	0	4
	Singe	1	0	1
LA REUNION	Chiens	4	0	4
	Furet	1	0	1
TOTAL		19	0	19

Tableau III: Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2013 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental.

PAYS	Type d'animal	RESULTATS		
		Organisme intermédiaire	NEGATIFS	POSITIFS
Espagne	Chat	DDPP Isère (38)	1	
	Chien*	DDPP Gironde (33)	1	
Hongrie	Chien	DDPP Nord (59)	1	
Maroc	Chat*	DDPP Drôme (26)	1	
	Chat*	DDPP Val d'Oise (95)		1
	Chien*	DDPP Nord (59)	1	
	Chat	DDPP Haute-Savoie (74)	1	
Pologne	Chien	DDPP Hauts-de-Seine (92)	1	
Portugal	Chien*	DDPP Ain (01)	1	
	Chien *	DDPP Hauts-de-Seine (92)	1	
Russie	Chat	DDPP Haute-Savoie (74)	1	
Serbie	Chien*	DDPP Seine-Saint-Denis (93)	1	
Tunisie	Chat*	DDCSPP Alpes-de-Haute-Provence (04)	1	
	Chat*	DDPP Hauts-de-Seine (92)	1	
	Chat	DDPP Loire-Atlantique (44)	1	
	Chat	DDPP Isère (38)	1	
	Chat*	DDPP Hauts-de-Seine (92)	1	
	Chat*	DDPP Val de Marne (94)	1	
Turquie	Chien*	DDPP Loiret (45)	1	
TOTAL			18	1

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

Les répartitions par espèce domestique ou sauvage et par résultat ainsi que celles par département et par résultat sont données dans les Tableaux A1 et A2 (Annexe 3).

Le CNRR effectue aussi le diagnostic de la rage sur des prélèvements animaux expédiés directement par des laboratoires étrangers (suite à un risque de contamination humaine ou dans le cadre d'un programme de recherche) et par les services de l'Armée Française en opération à l'étranger. Il s'agit pour certains d'entre eux d'animaux à l'origine de contaminations de ressortissants français séjournant dans des pays où les structures de diagnostic sont inexistantes. En 2013, le CNRR a reçu trois prélèvements animaux de ce type, un chat et deux chiens expédiés respectivement par l'Armée Française en poste à Djibouti et au Liban. Après analyse, aucun ne s'est révélé positif (Tableau IV).

Tableau IV: Résultats des prélèvements en provenance directe de l'étranger reçus en 2013.

PAYS	Type d'animal	RESULTAT NEGATIF	RESULTAT POSITIF
DJIBOUTI	Chat	1	0
LIBAN	Chiens	2	0
TOTAL		3	0

2.2.2 Chez l'homme

Les prélèvements humains sont recueillis et envoyés par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers français, et éventuellement étrangers. Il est demandé aux services hospitaliers d'envoyer divers prélèvements selon la nature de la demande de diagnostic : LCR, sérum, salives et biopsies de peau (au niveau de la nuque) pour le diagnostic *intra-vitam* ou biopsie cérébrale et biopsie de peau pour le diagnostic *post-mortem*. Un total de 9 demandes de diagnostic d'encéphalite rabique, dont 3 du CHU de Cayenne, a été soumis au CNRR en 2013, représentant une réduction de près de 47% par rapport à l'année précédente. A ce titre, 14 prélèvements de salive, 6 sérums ou plasmas (en plus d'un tube de sang total), 7 LCR, 6 biopsies de peau et 2 biopsies cérébrales ont été reçus, dont la plupart a pu être analysée (Tableau V). Aucun de ces diagnostics biologiques ne s'est révélé positif. Parmi ces suspicions, l'une d'entre-elles originaire du CHU de Cayenne a été annulée. De plus, un diagnostic *intra-vitam* de rage a été effectué dans le cadre des missions du CCOMS de Référence et de Recherche pour la Rage (CCOMS Rage) hébergé par l'unité DyLAH. Ce diagnostic fait suite à la demande de l'ECDC et du CDC Hellénique pour une patiente hospitalisée devant un tableau d'encéphalite non étiquetée dans un service de soins intensifs d'un hôpital à Athènes. Cette suspicion est survenue dans un contexte d'une exposition à la rage survenue en Ethiopie suivie de l'administration d'une prophylaxie de post-exposition incomplète (absence d'immunoglobulines).

Contrairement à l'année précédente, le nombre et la nature des prélèvements reçus par patient se sont révélés peu conformes aux recommandations du CNRR (au minimum 1 biopsie de peau et 3 salives séquentielles), ceci en dépit des efforts d'information du CNRR à destination des services des Centres Hospitaliers confrontés à une suspicion de rage humaine. Cette transmission d'informations est effectuée directement par téléphone auprès des services concernés, puis est systématiquement complétée par la télétransmission d'une fiche récapitulative rappelant les différents types de prélèvements biologiques nécessaires au diagnostic (telles la salive et la peau) ainsi que les modalités de prélèvement, de stockage et d'expédition qui y sont associées (<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-reference-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-de-la-rage/informations-pratiques>). Comme observé l'année passée, il faut noter en 2013 une proportion importante (n=3 ; 33,3%) de suspicion de rage chez des patients guyanais, et la part importante des prélèvements correspondants (n=16 ; 41%) dans le volume d'activité du CNRR. Pour mémoire, 4 suspicions de rage humaine en provenance de Guyane avaient été analysées au CNRR en 2012.

Tableau V: Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2013 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques.

CODE PATIENT	HÔPITAL DEMANDEUR	PRELEVEMENTS BIOLOGIQUES						RESULTATS BIOLOGIQUES
		Salive	Urines	Sérum/Plasma	LCR	Biopsie de peau	Biopsie cérébrale	
H130001	CHU Cayenne (973)	3	1*	1	1	1		Négatif
H130002	CHU Athènes (Grèce)	1	1*	2 (dont 1 sang total*)	2	1		Négatif
H130003	CHU Nancy (54)	1		1	1			Négatif
H130004	CHU St Louis (75)	5 (dont 2**)				1		Négatif
H130005	CHU Cayenne (973)	1**	1*	1		1**		Négatif
H130006	CHU Cayenne (973)			1				Demande annulée
H130007	CHU Poitiers (86)			1***	1***	1***	2	Négatif
H130008	GH La Pitié-Salpêtrière (75)				1			Négatif
H130009	CHU Cayenne (973)	3			1	1		Négatif
TOTAL		14	3	7	7	6	2	

* Prélèvements non analysés car peu pertinents en terme de sensibilité diagnostique
 ** Prélèvements non exploités car réceptionnés décongelés
 *** Prélèvements non analysés car diagnostic réalisé sur biopsies cérébrales post-mortem

2.2.3 Analyses sérologiques

Les anticorps antirabiques présents dans le sérum ou le LCR sont dosés par une technique immuno-enzymatique (ELISA) (Platelia™ Rabies II Kit, Bio-Rad) ou par séroneutralisation sur culture cellulaire (RFFIT). Le titrage des anticorps antirabiques sériques est effectué à titre gratuit pour les agents de l'Etat (personnel des Directions des Services Vétérinaires, etc.) et dans le cadre du suivi sérologique nécessaire suite à une prophylaxie de pré et/ou de post-exposition pour certaines catégories de patients, tel que rappelé dans l'avis du Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) du 22 février 2013, relatif à la vaccination antirabique préventive, au traitement post-exposition et au suivi sérologique des personnes régulièrement exposées au virus de la rage (voyageurs, professionnels, chiroptérologues) (disponible à l'adresse <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=316>). Le CNRR assure ainsi les contrôles sérologiques des chiroptérologues conformément aux recommandations du Groupe de Travail sur la prévention de la rage des chiroptères chez l'homme et à celles du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHHPF) (avis du CSHHPF du 8 juin 2001 concernant les "Recommandations pour limiter l'exposition du public aux virus de la rage des chauves-souris" publié dans le BEH N°39 de 2001 disponible à l'adresse <http://www.invs.sante.fr/beh/2001/39/index.htm> et avis du CSHHPF du 14 janvier 2005 concernant les "Recommandations relatives à la vaccination antirabique préventive, au traitement post-exposition et au suivi sérologique des personnes régulièrement exposées aux virus de la rage des chauves-souris en France métropolitaine" disponible à l'adresse www.hcsp.fr/explore.cgi/r_mt_140105_rage.pdf). Les sérums sont envoyés par des laboratoires de biologie médicale. Des titrages sont aussi effectués pour les besoins d'enquêtes menées sur les patients du CAR de l'Institut Pasteur. Enfin, le CNRR reçoit et analyse également des sérums dans le cadre de sa participation à des essais inter-laboratoires internationaux pour les techniques ELISA et RFFIT (un essai réalisé en 2013 avec l'Institut Suédois pour le Contrôle des Maladies Transmissibles).

Au total, les anticorps antirabiques ont été dosés dans 66 sérums ou LCR humains au cours de l'année 2013. Par ailleurs le CNRR participe à des travaux collaboratifs sur la circulation des lyssavirus de chauve-souris en Guyane, en Europe (travaux menés en Espagne) et en Afrique du Nord. Dans ce cadre, 544 titrages d'anticorps ont été effectués chez les chauves-souris pour les besoins d'enquêtes épidémiologiques sur la circulation du virus rabique dans les colonies de chiroptères en 2013. Ces travaux sont menés sur des budgets autres que celui du CNRR.

2.2.4 Distribution de souches, prélèvements et sérums de référence

Au cours de l'année 2013, aucune demande de cession de souches ou d'échantillons de matériel biologique issus des collections du CNRR n'a été reçue.

3 Activités de surveillance

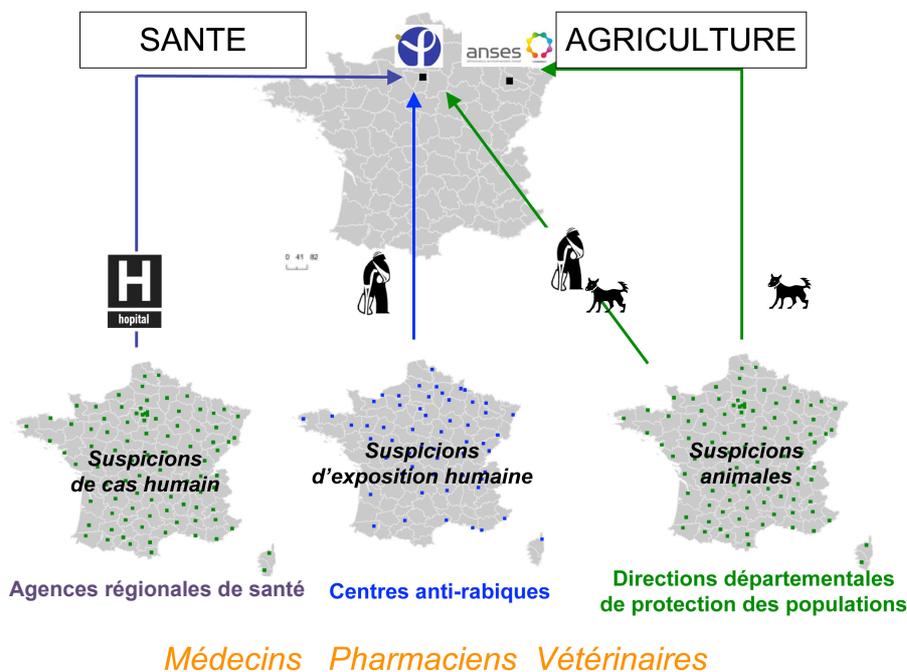
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.1.1 Description des circuits de surveillance et analyses épidémiologiques

Le CNRR est impliqué dans un important réseau national de partenaires participant à la surveillance, et le cas échéant, au contrôle de la rage en France. En effet, de nombreux acteurs des secteurs humains et vétérinaires, au niveau local ou central, participent au contrôle de la rage en France. Le CNRR se présente comme un maillon initial et essentiel au sein de ce réseau de surveillance ainsi que dans le processus d'alerte.

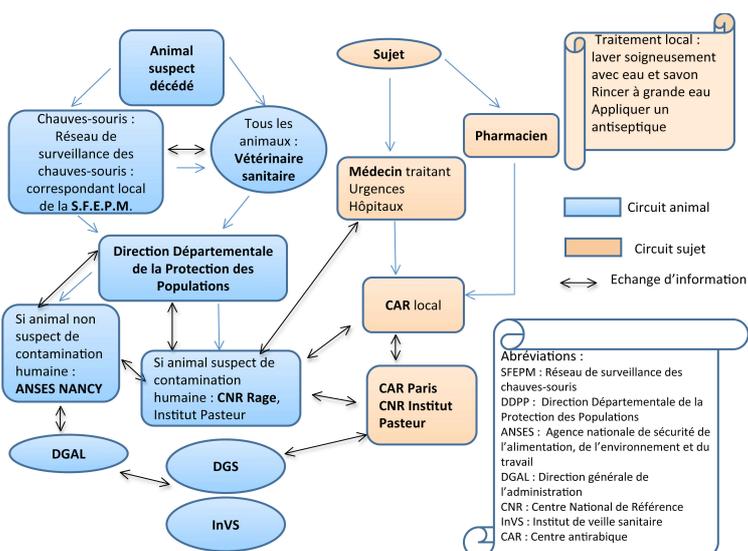
Plus particulièrement, le CNRR se situe à l'interface de deux types de circuits : l'un lié aux suspicions de rage humaine et à la prophylaxie de la rage humaine (circuit humain), le deuxième relié aux cas animaux susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme (circuit animal) (Fig. 2 et 3).

Figure 2: Description des circuits de surveillance de la rage en France.



(d'après Z. Lardon)

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



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

3.1.1.1 Circuit humain

3.1.1.1.1 Suspensions de rage humaine

Le CNRR centralise toutes les analyses concernant les suspicions de rage humaine (Fig. 3 et 4). 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. Ces suspicions concernent des patients présentant des troubles neurologiques d'étiologies indéterminées, associées ou non à un antécédent de voyage à l'étranger ou à une morsure animale. Le CNRR intervient habituellement pour établir un diagnostic de deuxième voire de troisième intention. Comme précédemment décrit, un total de 8 suspicions de rage humaine a été reçu en 2013 (à l'exclusion d'une demande annulée) et analysé par les techniques moléculaires et/ou sérologiques, et par les techniques FAT/RTCIT sur biopsie cérébrale *post-mortem* pour l'une d'entre-elles. Tous ces diagnostics se sont révélés négatifs.

Le diagnostic *post-mortem* de rage humaine peut être établi dans un délai de 24 à 48 heures après réception des prélèvements. Cependant, les délais de réponse du diagnostic *intra-vitam* sont variables suivant le type d'analyse entrepris, et sont retrouvés sur la fiche récapitulative décrite précédemment reprenant le descriptif technique du diagnostic de la rage humaine (et qui est communiquée directement aux demandeurs ou accessible via le site du CNRR). Il faut actuellement environ 5 jours pour rendre un résultat de diagnostic complet (détection d'ARN viraux dans les prélèvements biologiques type salive, LCR et biopsie de peau et détection des anticorps antirabiques par test ELISA). La mise en œuvre de la technique de titrage des anticorps antirabiques par séroneutralisation (test RFFIT) impose un délai légèrement plus important. Le typage des virus est réalisé dans un délai maximum de 2 jours après l'établissement d'un diagnostic positif. Les résultats sont communiqués aux responsables des services hospitaliers concernés par téléphone (et éventuellement courriel) dès leur obtention puis par courrier. En cas de diagnostic positif, 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 de cas d'importation : 20 cas ont été recensés en France métropolitaine de 1970 à 2013 (Tableau VI). 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 hémato-phages d'Amérique latine). Aucun cas de rage humaine n'a été diagnostiqué en 2013.

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

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

3.1.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des expositions

La prophylaxie de la rage humaine est pratiquée en France dans les CAR et les Antennes Antirabiques (AAR) (Fig. 3 et 4). A l'inverse des CAR, ces AAR ne sont pas habilitées à débiter un traitement antirabique. Elles prennent en charge la poursuite des traitements commencés dans les CAR. Actuellement, 65 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.

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 (disponible à l'adresse <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-de-la-rage/actualites-rapports>). Ces données sont aussi directement disponibles sur Internet, de façon sécurisée (identifiant nominatif et mot de passe) pour les membres des CAR autorisés et les personnes habilitées des organismes de tutelle, InVS et DGS. Les données sont saisies :

- directement par les CAR ou les AAR (56 CAR ou AAR ont saisi leurs données en 2012 via le logiciel Voozаноо, Société Epiconcept),
- par le CNRR à partir des données envoyées sous format papier par les CAR,
- par la société Epiconcept à partir des données reçues sous format électronique.

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

L'analyse globale des données est effectuée annuellement lors de la parution du Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France. Les tableaux sont directement accessibles sur Internet. Des analyses intermédiaires et/ou complémentaires peuvent être effectuées par chaque utilisateur au moyen du module statistique. L'analyse des données de l'année 2012 a été effectuée par le CNRR. Elle a été envoyée par courrier électronique, mise sur le site Internet de l'Institut Pasteur (<http://www.pasteur.fr/ip/resource/filecenter/document/01s-00004h-07f/bulletin-2012.pdf>) 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 2012

Au total, 56 (sur un total de 65) des CAR ou AAR ont directement transmis leurs données au CNRR pour l'année 2012. Les données de 9 AAR (sur 14) ont été transmises indirectement par l'intermédiaire de leur CAR de référence.

Ainsi, 8038 personnes ont été enregistrées pour l'année 2012 avec :

- 3939 patients traités après exposition (49%)
- 3944 patients non traités (49,1%)
- 155 patients « de passage » (1,9%) ce qui correspond à des patients qui, après avoir commencé leur traitement dans un CAR, l'ont poursuivi dans un autre centre ou antenne.

Il n'est pas observé de baisse sensible du nombre de prophylaxies post-exposition (Figure 4), en particulier après exposition sur le territoire français malgré la situation épidémiologique favorable en 2012. Les prophylaxies post-exposition après contact sur le sol français avec un animal dont le statut est inconnu restent élevés. En l'absence de recommandations nationales, on observe aussi des différences de pratiques sur notre territoire non justifiées par l'épidémiologie (certains patients étant vaccinés après morsure de rongeur, de renard ou de sanglier par exemple).

L'augmentation du nombre de consultants recevant une prophylaxie après exposition aux chiroptères se poursuit en 2012, soulignant l'importance de l'information et de la prévention chez les personnes à risque et notamment chez les chiroptérologues amateurs. Malheureusement, malgré les recommandations du rapport du groupe d'expert mis en place en 2005 à ce sujet (consultable à l'adresse www.hcsp.fr/explore.cgi/r_mt_140105_rage.pdf), le suivi des chiroptérologues reste très insuffisant.

Avec l'essor des voyages, le nombre des expositions à l'étranger est en augmentation (Figure 5). Le travail d'information des voyageurs (en particulier vers l'Afrique du Nord ou pour ce qui concerne l'exposition aux singes vers l'Asie du Sud Est) doit donc être renforcé.

Figure 4 : Evolution du nombre de traitements et de consultants en post-exposition de 2003 à 2012.

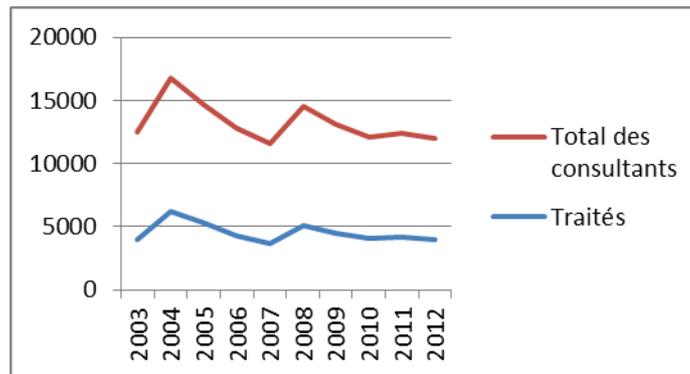
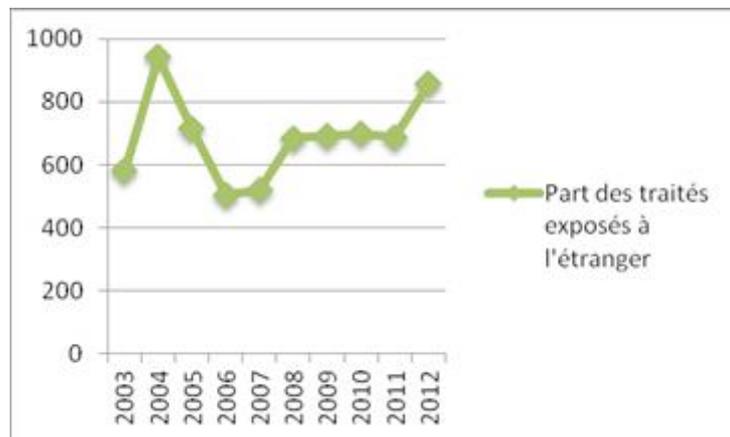


Figure 5 : Evolution du nombre de traitements antirabiques chez les patients exposés à l'étranger (2003-2012).



Analyse des données de 2013

Les données complètes pour l'année 2013 ne seront disponibles qu'au deuxième trimestre 2014. Elles seront complétées et validées dans le Bulletin sur l'Epidémiologie et la Prophylaxie de la Rage en France qui sera disponible courant 2014. Selon l'état de la base de données Voozano au 1^{er} mars 2014, 6607 patients ont consulté les CAR français en 2013 suite à un risque d'exposition à la rage, parmi lesquels 3239 (49%) patients ont été traités, 3206 non traités et 123 ont été considérés de passage. Aucun échec de prophylaxie post-exposition n'a été rapporté.

Analyse des données de 2013 de Paris et sa région

Concernant le CAR de l'Institut Pasteur (données exhaustives pour 2013): 1748 patients ont été reçus en post-exposition dont 1282 (73,3%) ont été traités et 466 non traités.

Ce CAR a alerté en 2013 l'ANSM sur le risque de défaut d'approvisionnement en immunoglobulines antirabiques d'origine humaine (HRIG). Le CNRR et le CAR de l'Institut Pasteur souhaitent une position claire de cet organisme concernant l'usage des immunoglobulines antirabiques d'origine équine (ERIG) à titre de remplacement en cas de pénurie des HRIG.

3.1.1.2 *Circuit animal*

Les Directions Départementales de la Protection des Populations (DDPP ou DDCSPP), les Laboratoires Vétérinaires Départementaux (LVD) et les Ecoles Nationales Vétérinaires constituent les partenaires de ce réseau (Fig. 3 et 4). Ils adressent au CNRR tous les prélèvements animaux suspects de rage ayant pu entraîner une contamination humaine par léchage, griffure ou morsure, voire par simple manipulation, et ceci quelle que soit l'origine géographique de ces animaux. L'ensemble de ces partenaires permet d'obtenir un maillage très serré sur le terrain, offrant ainsi une surveillance nationale (France métropolitaine et d'Outre-mer) permanente et la plus exhaustive possible de tous les cas animaux suspects, y compris les chauves-souris. Parallèlement, le CNRR est en relation avec l'Anses-Nancy, qui traite spécifiquement des cas animaux non susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme. Il contribue ainsi à l'analyse épidémiologique effectuée par l'Anses-Nancy dans laquelle sont regroupées toutes les analyses pour recherche de rage animale faites en France.

Les techniques actuelles de diagnostic *post-mortem* de la rage au CNRR permettent de porter un diagnostic de certitude dans un délai de 24 à 48 heures suivant la réception du prélèvement. Les résultats sont alors télécopiés et envoyés par courrier aux LVD ou directement aux directeurs des DDPP qui se chargent d'en informer les personnes exposées. Le logiciel de saisie des données et d'édition des formulaires de réponse permet l'exportation des données épidémiologiques vers des logiciels d'exploitation type EpiInfo et Stata. La traçabilité assurée dans le cadre de notre système qualité nous permet de vérifier la vitesse de réponse en matière de résultats d'analyse. En 2013, le CNRR a maintenu l'objectif défini lors de l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence en termes de délais d'envoi de résultats : 65,4% des résultats ont été validés et envoyés dans un délai de 2 jours après réception des échantillons par le CNRR et 96,7% dans un délai de 5 jours

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 habituellement effectué dans un délai maximum de 5 jours après réception du prélèvement, incluant le temps de réalisation du diagnostic. En 2013, ce typage a été mis en œuvre à deux reprises, chez une chauve-souris et un chat diagnostiqués positifs, respectivement en 5 et 2 jours. Parallèlement, en vue d'améliorer les conditions générales d'acheminement des prélèvements animaux envoyés au CNRR pour analyse, les délais observés entre la mort de l'animal suspecté de rage et sa réception au CNRR ont été collectés mensuellement pour chaque département et analysés. En moyenne, un délai de plus de 5 jours a été observé entre la mort de l'animal et son arrivée au CNRR. Seuls 2 échantillons (une chauve-souris et un chien) parmi les 1260 prélèvements reçus au CNRR en 2013 n'ont pu être analysés, de par leur état à réception au laboratoire (absence de matière cérébrale) (Tableau I). Dans ce cas de figure, les DDPP correspondantes sont immédiatement contactées afin qu'elles puissent informer rapidement les personnes exposées. Une information des conditions réglementaires de transport routier des prélèvements animaux suspects de rage est régulièrement apportée aux expéditeurs (site Internet de l'Institut Pasteur réactualisé, conseils téléphoniques, enquête satisfaction-client réalisée par le CNRR, etc.). Ces actions permettent au CNRR d'obtenir un état des lieux actualisé et de maîtriser les éléments critiques relatifs au parcours des prélèvements biologiques, de leurs expéditions par les laboratoires demandeurs à l'édition et à la transmission du rapport d'essai par le CNRR. Ces informations permettent au CNRR d'inciter certains expéditeurs à améliorer leurs conditions de transport (délai d'envoi, respect des conditions réglementaires de transport routier).

3.1.2 Conclusions

3.1.2.1 *Surveillance de la rage animale en France*

Le dernier cas de rage vulpine en France a été diagnostiqué à l'Institut Pasteur sur un chat en provenance de Moselle en décembre 1998. Cependant, le suivi épidémiologique de la rage animale doit être maintenu. En effet, l'existence du risque d'exposition à la rage en France suite à l'importation illégale d'animaux non protégés originaires de zones d'enzootie persiste. Cette situation a ainsi été une nouvelle fois observée en 2013 avec le diagnostic positif porté par le CNRR sur un chaton retrouvé à Argenteuil dans le Val d'Oise, mais introduit de façon illicite à partir du Maroc. La surveillance est basée sur la vigilance de nombreux acteurs: vétérinaires sanitaires, médecins généralistes, CAR, DDPP. Le CNRR intervient au bout de cette chaîne par l'analyse des échantillons reçus et le conseil aux autorités de Santé. Il est à noter qu'en 2013, 11 autres animaux importés illégalement (selon les indications mentionnées sur les commémoratifs associés aux prélèvements) ont été reçus et analysés au CNRR (Tableau III).

La rage des chiroptères est toujours présente en France métropolitaine. Un cas de chauve-souris positive a été identifié au CNRR en 2013. Il s'agit du second cas d'infection par le nouveau virus Bokeloh bat lyssavirus (BBLV) observé en France chez des chiroptères. Il correspond également au seul cas de rage des chauves-souris diagnostiqué en France pour cette année, aucun autre cas n'ayant été signalé par l'Anses-Nancy au travers du réseau de surveillance passive.

Enfin, des mouvements d'animaux exotiques augmentent les risques d'introduction de la rage en France. Ils permettent l'introduction en France de lyssavirus n'existant pas en Europe. Ce type de problème n'a pas été à l'origine de cas durant la période examinée dans ce rapport. Un exemple antérieur nous oblige néanmoins à rester prudents (cf. introduction d'un lyssavirus Lagos bat, correspondant à l'espèce LBV, par une chauve-souris frugivore vendue dans une animalerie en 1999).

3.1.2.2 *Prophylaxie de la rage humaine en France*

Aucun cas de rage humaine autochtone n'a été déploré sur le territoire métropolitain en 2013 en dépit du nombre important de personnes potentiellement exposées en France aux chiroptères ou au cas de rage animale d'importation, et à l'étranger. Ceci résulte notamment de l'efficacité de la prise en charge des patients par le réseau des centres antirabiques et de l'efficacité du diagnostic de laboratoire effectué par le CNRR qui permet d'instaurer rapidement un traitement antirabique quand il est justifié, ou au contraire de l'interrompre si le prélèvement s'avère négatif. 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 2013, le nombre de consultants a augmenté significativement par rapport à l'année précédente (d'après les données du CAR de l'Institut Pasteur). Cependant cette augmentation ne semble pas se confirmer au niveau national (analyse en cours). Aucune variation notable du nombre de personnes traitées n'est observée depuis 2006, si ce n'est en 2008 suite au cas recensé en Guyane et à une série de cas animaux observée en France métropolitaine suite à l'importation d'un chien enragé fin 2007. Parallèlement, les lyssavirus qui infectent les chiroptères peuvent poser pour certains d'entre eux le problème de l'efficacité des vaccins et des immunoglobulines actuellement disponibles (en particulier lors de l'identification de nouveaux lyssavirus tel le virus BBLV).

Le nombre de prophylaxies post-expositions en France reste très élevé et sans rapport avec la situation épidémiologique actuelle. Une analyse des pratiques des centres antirabiques à la lumière du statut indemne de rage des animaux terrestres non volants du territoire français apparaît nécessaire afin de dégager des recommandations claires en fonctions des animaux et des différents types d'exposition. Cette analyse a été réalisée en 2012 par un groupe de travail sous l'égide de la DGS. Le rapport et ses conclusions concernant une révision des pratiques de prise en charge des patients exposés ont été remis par le groupe de travail. Ils n'ont cependant pas donné lieu à la production d'un document officiel de la part du ministère en charge de la santé. Une publication au seul nom du groupe doit maintenant être envisagée afin de faire profiter l'ensemble des CAR de cette réflexion.

3.2 Participation aux réseaux de surveillance

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

Le CNRR travaille en étroite collaboration avec de nombreuses organisations (ECDC, OMS) et de nombreux laboratoires travaillant dans le domaine de la rage en Europe (Centre Collaborateur de l'OMS de Surveillance et de Recherche sur la Rage, Friedrich-Loeffler-Institut en Allemagne responsable du Bulletin d'information sur la rage en Europe, disponible à l'adresse <http://www.who-rabies-bulletin.org>). A la demande de certains centres hospitaliers situés dans des pays européens ne bénéficiant pas de centres nationaux de référence de la rage et sur la recommandation de l'ECDC, le CNRR peut également être amené à réaliser un diagnostic *intra-vitam* de rage pour des patients hospitalisés dans leurs services, comme ce fut le cas en 2013 chez un patient hospitalisé à Athènes en Grèce.

Les 9 et 10 octobre 2013, le Bureau des Experts de la Rage du Continent Africain (AfroREB), constitué de spécialistes de la rage appartenant à treize pays francophones du continent africain et du responsable du CNRR/CCOMS Rage à l'Institut Pasteur, s'est réuni à Dakar (Sénégal). Les membres AfroREB ont fait le point de la situation de la rage dans leurs pays respectifs, évalué les progrès accomplis depuis la réunion de Casablanca (mai 2011), exposé les difficultés rencontrées dans leur pays dans la lutte contre la rage (notamment concernant la sous-notification des cas, le diagnostic biologique, le fonctionnement des centres antirabiques, l'éducation et la sensibilisation des populations et les problèmes de contrôle de la rage canine) et cherché des solutions. Cette réunion sur l'élimination de la rage humaine, dont le thème principal était « Une seule santé » a été ouverte par Madame Aminata M'Bengue N'Diaye, Ministre de l'Elevage et des productions animales du Sénégal et par le Pr André Spiegel, Directeur de l'Institut Pasteur de Dakar. Ces réunions entretiennent le réseau des pays africains francophones avec lesquels le CNRR établit de nombreux liens en matière de surveillance épidémiologique, de formation, de conseil et d'aide dans l'analyse des souches.

Le CNRR participe aussi aux liens qu'entretiennent l'unité DyLAH et le CCOMS Rage avec les laboratoires de diagnostic de la rage situés dans le Réseau International des Instituts Pasteur. Ceci aboutit à de nombreux travaux en commun. En 2013, nous avons publié une analyse de l'épidémiologie de la rage dans l'Océan Indien avec nos collègues malgaches (Andriamandimby *et al.*, 2013).

Enfin le CNRR bénéficie aussi des liens tissés depuis des années avec l'ensemble des laboratoires travaillant sur la rage dans le monde. Nous avons ainsi pu publier en 2013 l'analyse d'isolats du Népal et montrer l'émergence récente d'une nouvelle lignée phylogénétique dans cette zone géographique (Pant *et al.*, 2013).

3.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2013 nous avons aussi rapporté les difficultés de prise en charge posées par l'exposition de certaines populations amérindiennes au virus de rage des chauves-souris hémato-phages (Berger *et al.*, 2013). En Guyane française, de 1984 à 2011, 14 cas de rage animale et 1 cas de rage humaine (2008) ont été diagnostiqués par le CNRR. En janvier 2011, les attaques de chauves-souris vampires se sont produites dans deux villages isolés. A mi-janvier, une équipe médicale du CAR de Cayenne a visité les sites pour prendre en charge les personnes potentiellement exposées à la rage, et en avril une campagne de vaccination des chiens contre la rage a été menée. Vingt personnes ont été mordues par des chauves-souris en un mois, le plus souvent au niveau des pieds. Le délai médian de prise en charge était de 15 jours traduisant la difficulté d'accès de ces populations à la prophylaxie post-exposition. Le protocole complet de vaccination Zagreb (2 doses au jour 0 et 1 dose aux jours 7 et 21) a été administré à 16 patients, 12 ont également reçu des immunoglobulines spécifiques. Un titrage d'anticorps a été réalisé pour 12 patients (différents de ceux qui ont reçu des immunoglobulines antirabiques). Les titres en anticorps étaient $\geq 0,5$ EU/ml pour chacun d'eux indiquant une bonne réponse. La sérologie n'a pas été mise en place pour les 12 patients qui ont reçu des immunoglobulines. La destruction accidentelle d'une colonie de chauves-souris vampires pourrait être responsable de ces expositions soudaines. L'isolement et l'absence de sensibilisation des populations ont été les principales explications des difficultés de gestion rencontrées. Des programmes réguliers de sensibilisation des populations sont envisagés. Ces travaux ont été menés en collaboration entre Franck Berger, Noëlle Desplanches, Sylvie Baillargeaux du CAR de l'Institut Pasteur de la Guyane à Cayenne, de André Spiegel de l'Institut Pasteur de la Guyane à Cayenne, de Michel Joubert du Centre Hospitalier de Cayenne, de Manuelle Miller de la Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de Guyane à Cayenne, et de Florence Ribadeau-Dumas et Hervé Bourhy du CNRR.

Le CNRR a également contribué à une étude sur la surveillance et le contrôle de la rage à La Réunion, Mayotte et Madagascar. Les îles de Mayotte et de La Réunion sont actuellement libres de la rage animale. Toutefois, la rage canine est encore enzootique à Madagascar avec 4 à 10 cas humains confirmés chaque année. En effet, le nombre de centres médicaux antirabiques à Madagascar est encore rare et rend difficile l'accès de la population locale à la prophylaxie de la rage post-exposition. En outre, les populations de chiens errants sont considérables et les tentatives de contrôle de la rage par des campagnes massives de vaccination des chiens n'ont pas reçu une attention suffisante de la part des autorités sanitaires nationales. Une étude phylogénique de 24 isolats malgaches a été menée afin d'identifier les différents groupes viraux, leur répartition et leur diffusion sur le territoire de Madagascar. Ce travail a été réalisé et publié en collaboration avec nos collègues de l'Institut Pasteur de Madagascar (Andriamandimby *et al.*, 2013).

4 Alertes

4.1 Procédure d'alerte de l'InVS et de la DGS

Chaque cas de rage diagnostiqué chez l'homme ou l'animal est signifié directement à la DGS, à l'InVS, à la DGAI et à l'Anses 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 un téléphone portable assure 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'Anses, la DGAI et l'ANSM (ex 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.

4.2 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Au cours de l'année 2013, le CNRR a reçu et analysé un total de 1260 prélèvements animaux liés à une suspicion de transmission de rage animale à l'homme. Parmi ces échantillons, le CNRR a déterminé un cas de rage des chiroptères et un cas de rage chez un chaton trouvé dans le Val d'Oise mais introduit illégalement du Maroc.

En août 2013, un nouveau lyssavirus a été identifié chez une chauve-souris de l'espèce *Myotis nattereri* (ou murin de Natterer) originaire de La Bridoire en Savoie. Le typage du virus, effectué initialement par séquençage partiel du gène de la nucléoprotéine et du gène de la polymérase, puis étendue au séquençage du génome complet, a en effet démontré qu'il s'agissait d'un lyssavirus appartenant à l'espèce Bokeloh bat lyssavirus (BBLV, espèce en cours de classification par le comité international de taxinomie des virus). Cette espèce virale n'a été précédemment identifiée qu'à trois reprises en Europe, toujours chez la chauve-souris *Myotis nattereri*, en 2010 en Allemagne (Lower Saxony), puis en 2012 en France à Hémilly (57) et en Allemagne (Bavière). Plusieurs personnes de la même famille ont été exposées et ont reçu une prophylaxie post-exposition, la plupart au CAR de l'Institut Pasteur.

Fin octobre 2013, un chaton en provenance d'Argenteuil dans le Val d'Oise a été diagnostiqué enragé par le CNRR. Ce chaton a été découvert dans la rue le 25 octobre et est mort le 28 octobre sans qu'on connaisse sa provenance. La caractérisation du virus a montré qu'il s'agissait d'un cas d'importation du Maroc ce qui a été ultérieurement confirmé au travers de l'enquête épidémiologique qui a permis de dater l'importation à la fin septembre. Suite à l'enquête des services sanitaires du Val d'Oise, quarante-quatre personnes exposées ont été identifiées dont 20 ont bénéficié d'une prophylaxie post exposition.

En parallèle, un total de 8 suspicions de cas de rage humaine (à l'exclusion d'une demande annulée) a été reçu et analysé au CNRR en 2013. Le diagnostic de toutes ces suspicions, réalisé par techniques moléculaires et/ou sérologiques, voire par techniques FAT et RTCIT pour l'une d'entre-elles, s'est révélé négatif.

5 Activités d'informations, de formation et de conseil

5.1 Diffusion des résultats animaux

Les techniques actuelles de diagnostic *post-mortem* de la rage permettent de porter un diagnostic de certitude dans un délai de 24 à 48 heures suivant la réception du prélèvement. Les résultats positifs sont alors télécopiés et envoyés par courrier aux directeurs des LVD ou directement aux directeurs des DDPP ou DDCSPP qui se chargent d'en informer les personnes exposées. Le logiciel de saisie des données et d'édition des formulaires de réponse permet l'exportation des données épidémiologiques vers des logiciels d'exploitation type

EpiInfo et Stata. La traçabilité assurée dans le cadre de notre système Qualité nous permet de vérifier la vitesse de réponse en matière de résultats d'analyse. En parallèle, le CNRR réalise régulièrement des enquêtes "satisfactions-clients" afin d'apprécier la qualité de ses services et de ses prestations auprès de l'ensemble des LDV et des DDPP (ou DDCSPP). La dernière réalisée fin 2011-début 2012 a démontré un taux de satisfaction de 87,6%. Celle réalisée pour l'évaluation de l'année 2013 est en cours, et les résultats seront analysés mi-2014.

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

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

Les personnes autorisées des CAR et des organismes de tutelle (InVS, DGS) se connectent sur le site <https://epidemiopasteur.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 et effectuer des analyses simples. Ils peuvent aussi accéder aux données générales du CNRR de l'année en cours ou précédente. Le logiciel Voozanoo de saisie et d'analyse des données des CAR est utilisé depuis 2005 par le CNRR et il a été mis à la disposition des CAR depuis 2006. En 2012, il a été utilisé par 86% des CAR et AAR pour saisir leurs données.

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

5.3 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: environ 3000/an, réponses par courriel: environ 2000/an; courriers et télécopies: environ 2000/an). Les interrogations par courrier électronique sont faites à l'adresse cnrrage@pasteur.fr. Sous cette adresse les membres du CNRR de formation diverse, médecins, vétérinaire, pharmacien. Pour les questions exclusivement médicales, une adresse arrivant uniquement à l'équipe médicale, garantissant ainsi la confidentialité pour les patients, est disponible à l'adresse conrage@pasteur.fr.

5.4 Activités d'expertise auprès du ministère chargé de la santé, de l'Institut de Veille Sanitaire, des agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité en Santé, de structures européennes (ECDC, etc.) ou internationale (OMS, etc.)

5.4.1 Analyse chronologique des actions au niveau national

Le CNRR est régulièrement consulté par la DGS, l'InVS, la DGAI, l'ANSM (ex AFSSaPS) et l'Anses. Les ONG et les Ambassades de France font aussi appel au CNRR pour obtenir des renseignements concernant le traitement après exposition et la fourniture de vaccins et de sérums antirabiques. Le site Internet du CNRR, présent sur le 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>). Des articles ont régulièrement été publiés dans la presse médicale et épidémiologique internationale. Les médias trouvent enfin auprès du CNRR une source d'informations fiables et régulièrement mises à jour.

Le Directeur Général de la Santé a adressé le 11 juillet 2012 au HCSP une saisine relative à la mise à jour des recommandations de rappel des vaccinations contre la rage. L'objectif était de clarifier les recommandations applicables en France pour la prévention de la rage chez les personnes susceptibles d'être exposées de par leur profession, leurs activités ou leurs voyages. Suite à la réunion du 14 novembre 2012 du Groupe de travail «Recommandations vaccination antirabique», les différentes parties du rapport ont été définies et réparties entre les membres du groupe de travail. Les tâches suivantes ont été confiées au CNRR:

- Rappel sur la rage et situation épidémiologique au niveau international, européen et national
 - ↳ F Ribadeau-Dumas, H Bourhy
- Recommandations actuelles en France et dans quelques autres pays (Royaume-Uni, recommandations OMS, etc.)
 - ↳ F Ribadeau-Dumas
- Vaccination pré-exposition et suivi : propositions de recommandations pour les professionnels exposés, les chiroptérologues (vaccination, rappel et suivi sérologique)
 - ↳ H Bourhy
- Prophylaxie post-exposition
 - ↳ H Bourhy

Une autre réunion a eu lieu le 9 janvier 2013 et le rapport a été rendu. H. Bourhy a présenté le projet de recommandation élaboré par le groupe à la Commission Spécialisée Maladies Transmissibles du HCSP le 22 février 2013. Le rapport et l'avis sont consultables sur le site du HCSP (<http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=316>).

Le 18 juillet 2013, le CNRR informait par courriel tous les CAR de France de l'identification de cas de rage à Taïwan : trois cas de rage avaient été identifiés chez des mélogales (mustélidés proche des blaireaux et des furets) à Taiwan et notifiés à l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE). Cette île ne devait donc plus être considérée comme indemne de rage et la pratique des CAR en ce qui concerne les patients exposés à Taiwan devait tenir compte de cette évolution épidémiologique.

Le 31 octobre 2013, le CNRR identifiait un cas de rage sur un chaton trouvé sur la commune d'Argenteuil. Les résultats du typage du virus effectué par séquençage partiel du gène de la nucléoprotéine et du gène de la polymérase ont démontré qu'il s'agissait d'un lyssavirus de l'espèce RABV (virus de la rage), de type Africa 1,

qui ne circule pas en France et qui provenait probablement de la région de Casablanca au Maroc. La reconstitution du parcours du chaton après enquête épidémiologique a permis de découvrir que l'animal avait été trouvé errant sur une plage de Casablanca (Maroc) le 12 octobre 2013. Dès la réception du résultat de diagnostic positif, le centre opérationnel départemental de la préfecture du Val d'Oise a été activé. Il s'agissait d'atteindre impérativement les trois objectifs suivants :

- Informer les populations concernées.
- Etablir une traçabilité complète des contacts avec le chaton, qu'ils soient animaux ou humains.
- Mettre en place les mesures sanitaires appropriées à la situation.

Au niveau national, un communiqué de presse interministériel (agriculture et santé) a été diffusé le 31 octobre. Les deux ministères étaient en contact permanent et plusieurs conférences téléphoniques ont été organisées à cet effet. Au niveau local, un centre d'appel a été mis en place à la préfecture. En outre, le 2 novembre, le préfet du Val d'Oise a pris un arrêté préfectoral portant déclaration d'un cas de rage, de manière à mettre en place des mesures de surveillance et de restriction des mouvements des carnivores domestiques dans un rayon d'un kilomètre autour du lieu de découverte du chaton. Dans le même temps, un important travail d'investigations a été mené par la DDPP. Une zone d'investigation et une zone renforcée ont été délimitées autour du lieu de recueil du chaton, au sein desquelles du porte à porte a été réalisé en vue de recenser les animaux domestiques chez les propriétaires et de collecter des informations sur ces animaux. La gestion de ce cas a requis une forte mobilisation des services de l'Etat et du CNRR qui a apporté sa contribution tout au cours de ce processus: participation aux nombreuses conférences téléphoniques (6 conférences téléphoniques en 15 jours) organisées par le ministère en charge de la santé, travail sur des algorithmes d'orientation épidémiologique, rédaction d'une note d'information sur le rôle de la vaccination préventive, rédaction d'un message d'alerte européen (Early Warning Response System, EWRS) avec l'InVS.

5.4.2 Actions au niveau international

Au niveau européen, le CNRR collabore d'une manière régulière avec le Centre Collaborateur de l'OMS de Surveillance et de Recherche sur la Rage, Friedrich-Loeffler-Institut en Allemagne responsable du Bulletin d'information sur la rage en Europe (disponible à l'adresse <http://www.who-rabies-bulletin.org>). Il collabore aussi avec l'ECDC, par exemple en aidant au diagnostic de la rage dans certains pays (Grèce en 2013, cf. chapitre précédent).

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

Les responsables du CNRR travaillent avec l'OMS en tant qu'experts dans différents domaines: prophylaxie et traitement après exposition contre la rage, diagnostic biologique, projets de développement, épidémiologie de la rage. Le mandat de l'unité DyLAH en tant que CCOMS a été renouvelé le 1^{er} mai 2013. Le CNRR/CCOMS Rage a très activement participé à la consultation d'experts sur la rage mise en place par l'OMS en 2012 et à la rédaction des conclusions ayant abouti à la publication du rapport en 2013 (WHO Expert Consultation on Rabies, second report, disponible à l'adresse <http://apps.who.int/iris/handle/10665/85346>). Ce rapport rassemble les données les plus récentes concernant la prévention et le contrôle de la rage.

H. Bourhy a été invité par le National Institute of Infectious Diseases (NIID), au Meeting New Rabies contingency plan in Japan, Tokyo (Japon), du 3 au 8 février 2013. Il s'agissait d'échanger sur les expériences de la France et du Japon en matière de contrôle de la rage dans un pays indemne et soumis à des risques d'importation.

H. Bourhy a été invité à la sixième réunion annuelle des Partenaires pour la Prévention de la Rage (Partners for Rabies Prevention, PRP) qui a eu lieu à Wolfsberg, en Suisse, du 15 au 18 juillet 2013. Le groupe PRP est une plate-forme où tous les participants sont encouragés à apporter leur expertise et exprimer librement leur opinion. L'Alliance mondiale contre la rage (<http://rabiesalliance.org/fr/>) en assure le secrétariat. La réunion a été suivie par 41 participants de 19 pays différents, travaillant sur la rage au sein d'institutions académiques, des organisations internationales de la santé, de l'industrie, d'agences gouvernementales et d'organisations non-gouvernementales. Le groupe s'est réuni pour examiner les progrès accomplis et pour faire avancer la cause de la lutte contre la rage à l'échelle mondiale. Un des principaux objectifs était d'évaluer les succès et les défis dans les domaines de la lutte contre la rage et de trouver les moyens les plus efficaces du niveau local au niveau mondial. Un consensus général a révélé que l'engagement politique, les stratégies de financement à long terme, la collaboration intersectorielle et régionale et l'identification de champions locaux sont la clé du succès (http://rabiesalliance.org/uploads/documents/PRP_minutes/Minutes_6th_PRP_meeting_Wolfsberg_July2013.pdf).

5.5 Enseignements

5.5.1 Cours et formations

- Cours 3ème année enseignement Virologie à l'Institut de formation de techniciens en analyses biomédicales, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, "Le diagnostic biologique de la rage", Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, le 25 février 2013 (H. Bourhy).
- Cours International de Vaccinologie, DU Bordeaux 2, "La vaccination contre la rage", Ecole du Val de Grâce, Paris, le 17 avril 2013 (H. Bourhy).
- Cours Master 2 Infectiologie Cellulaire et Moléculaire, Vaccinologie et Anticorps thérapeutique, Module Santé Publique, Université de Tours. "Principales techniques en Virologie", le 10 septembre 2013 (L. Dacheux).
- Conférences mixtes de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) et de l'Association des anciens élèves de l'Institut Pasteur retransmise en direct dans de nombreux pays sur tous les continents. "La rage, une zoonose négligée. Quelques axes pour améliorer la situation". AUF, salle de visioconférence de l'Université Paris Sud (Bures-sur-Yvette), retransmission en direct dans plus de 10 pays, le 29 mai 2013 (H. Bourhy).
- Cours Master M2, UE Mécanismes cellulaires et moléculaires des interactions hôtes microorganismes, Faculté de Pharmacie, Université Paris Sud XI - Université Versailles-St Quentin, "Les infections à lyssavirus", le 11 octobre 2013 (H. Bourhy).
- Cours M2, module Méthodologie de l'épidémiologie "Le réseau de l'épidémiologie de la rage", CIRAD, Montpellier, le 12 novembre 2013 (H. Bourhy).
- Cours international sur la rage à l'Institut Pasteur de Dakar, Sénégal, 6-13 décembre 2013.

Le CNRR, en lien avec le CCOMS Rage et l'unité DyLAH, a été l'initiateur et a activement contribué durant l'année 2013 à la réalisation d'un cours international sur la rage à Dakar au Sénégal, sous l'égide de l'OMS. Cet enseignement a été co-organisé par l'Institut Pasteur de Dakar, l'Institut Pasteur à Paris (CNRR/CCOMS Rage), le département de biochimie de l'Université de Lausanne, la Fondation sciences de la santé et formation en ligne (HSeT), l'Organisation Mondiale de la Santé et le consortium PREDEMICS (7ème programme cadre, N° de contrat 278433). Le but de ce cours était de fournir une formation pratique sur la rage

avec un accent particulier sur l'Afrique pour les étudiants et les professionnels des secteurs de la santé publique animale et humaine. Plusieurs objectifs majeurs portant sur des questions critiques de la situation de la rage dans les pays en développement, et en Afrique en particulier, ont été ciblés au cours de cette session de formation :

- Connaissances générales sur les zoonoses émergentes et ré-émergentes comme la rage.
- Connaissances sur les données épidémiologiques de la rage, en particulier l'incidence de la rage.
- Prophylaxie contre la rage en Afrique et identification de solutions pratiques pour améliorer l'accès à la prophylaxie post exposition de la population.
- Analyse de protocoles validés pour le contrôle de la population canine.
- Analyse de stratégies de lutte contre la rage en Afrique.
- Sensibilisation des personnes exposées, des professionnels de santé et des décideurs à la rage en Afrique.

Ce cours a permis un échange d'expérience et de connaissances entre experts internationaux sur la rage et un groupe très motivé d'élèves (31 étudiants de 14 pays africains) concernés par la rage au niveau national ou régional et exerçant au sein des services de santé, d'hôpitaux, de postes vétérinaires ou d'instituts de recherche. L'organisation du cours composé d'activités effectuées au préalable par e-learning (correspondant à environ 70 heures de travail personnel), suivis de l'atelier sur site à Dakar (12 jours) a permis la présentation des données et des connaissances nécessaires pour une meilleure compréhension des stratégies et des protocoles techniques promus par les organisations internationales (OMS, OIE et FAO). Les conférences, les séances de travaux pratiques et les démonstrations sur le terrain ont donné la possibilité aux participants de mettre en pratique les connaissances acquises pendant les cours et de discuter des points plus pratiques. La motivation tout au long de la formation (avant et pendant l'atelier), les scores satisfaisants obtenus par les élèves ainsi que l'évaluation de la formation par les stagiaires indiquent clairement que le cours a atteint ses objectifs. Les cours et discussions sur site se sont déroulés en français. Certaines conférences et discussions ont été données en anglais mais dans ce cas, une traduction en français a été assurée. La validation de l'examen final a donné lieu à l'acquisition de 5 ECTS (European Credits Transfer System) délivrés par l'Université de Lausanne. Hervé Bourhy (CNRR) Laurent Dacheux (CNRR), Cécile Troupin et Anthony Lepelletier (CNRR) de l'unité DyLAH ont contribué à cet enseignement.

5.5.2 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 qui se décompose en ½ journée de présence en consultation antirabique et ½ journée d'information au CNRR avec l'un des responsables). Nous essayons d'étendre cette formation à tous les médecins exerçant dans un CAR. Ceci est effectif pour les nouveaux centres et les personnes nouvellement impliquées.

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

- Dr. Martine Noël, Sce des Actions sanitaires de la DASS, Nouvelle Calédonie, 11-15 mars 2013
- Dr. Justine Gallou, CHU Amiens, le 21 mars 2013
- Dr. Félix Djossou, CAR Cayenne, le 22 mars 2013
- Dr. Cédrine Philippot, CHU Amiens, le 11 juin 2013
- Dr. Valérie Descarpentries, CHU Blois, le 25 juin 2013.
- Dr Mathilde Tetchi, INHP, CAR de Treichville, Côte d'Ivoire, formation du 2 au 30 septembre 2013
- Dr. Aïda Dione, CAR Pau, le 12 novembre 2013
- Dr Gérard Laurent, ISBA Lyon, le 26 novembre 2013

Encadrement d'étudiants et de stagiaires scientifiques:

- Mme Florence Larrous, salariée IP, Ingénieur de Recherche en CDI, Thèse de Doctorat en Biologie, B3MI, Université Paris VII : "Implication de la phosphoprotéine et de la protéine de matrice des lyssavirus dans l'immunité innée et dans l'efficacité du complexe de réplication" soutenue le 26 septembre 2013 (Directeur de Thèse : H. Bourhy).
- M. Benoit Besson, étudiant en Thèse de Doctorat B3MI, Université Paris VII : " Rôle de RelAp43 dans la modulation de la réponse à l'infection par le virus de la rage", soutenance prévue en octobre 2016 (Directeur de thèse : H. Bourhy).
- M. Florian Sonthonnax, étudiant en Master 2 IMVI (Infectiologie, Microbiologie, Virologie, Immunologie, option Virologie fondamentale), Université Paris VII : "Mécanismes d'adaptation et de virulence des lyssavirus impliquant la phosphoprotéine et la protéine de matrice", 2/12/13 au 1/06/2014.
- Dr Youcef Ben Khalifa, chercheur contractuel, du 5/09/2011 au 10/03/2014
- Dr. Cécile Troupin, chercheur contractuel, du 16/08/2012 au 30/08/2015

5.6 Conférences et participation à des réunions d'experts

- New rabies contingency plan in Japan, Tokyo, Japon, du 3 au 8 février 2013. Conférence: "Epidemiological situation of rabies and risk of importation in a rabies free country: the example of France and Europe". Présentation de l'expérience du CNRR/CCOMS Rage en termes de détection et de surveillance devant un public rassemblant environ 250 vétérinaires japonais (H. Bourhy).
- Conférences mixtes de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) et de l'Association des anciens élèves de l'Institut Pasteur retransmise en direct dans de nombreux pays sur tous les continents. "La rage, une zoonose négligée. Quelques axes pour améliorer la situation". AUF, salle de visioconférence de l'Université Paris Sud (Bures-sur-Yvette), le 29 mai 2013 (H. Bourhy).
- Workshop on regional policies to control rabies in the southern mediterranean, AGR 53855 organisé par le TAIEX en collaboration avec la DG SANCO, EFSA et l'ECDC, 15-16 octobre 2013, Paris, France. Conférence le 15 octobre 2013 intitulée "History of rabies and rabies control, goals formulated by FAO, OIE and WHO, Need for global coordination, rabies situation in the Southern Mediterranean and risks for Europe, activities in the region, problems, challenges and opportunities" et animation d'une table ronde le 16 octobre 2013 (H. Bourhy).

La coordination des mesures et des politiques de contrôle à l'échelle nationale et régionale est une tâche complexe et difficile, mais essentielle pour le succès du contrôle de la rage. L'atelier visait à soutenir cet effort de coordination en fournissant l'occasion aux pays méditerranéens de se rencontrer et de renforcer la collaboration entre les différents services et organisations concernées, à la fois dans le domaine de la santé publique et de la santé animale, dans l'esprit du concept «One Health». L'atelier a fait le point sur les projets en cours de contrôle dans la région et a dégagé des recommandations qui peuvent guider la programmation future en ligne avec les résultats et recommandations de la Conférence mondiale de l'OIE 2011 sur le contrôle de la rage à Séoul, en Corée. Le public était composé d'environ 30 représentants des autorités de santé publique et vétérinaires compétentes des pays bordant la mer Méditerranée. En outre, des représentants d'organisations internationales (FAO, OIE, OMS, EFSA, ECDC) de l'Institut Pasteur (H. Bourhy du CNR/CCOMS Rage) étaient aussi invités.

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

6.1 Activités de recherche en cours

6.1.1 Etudes sur la dynamique spatio-temporelle de la rage canine

Le CNRR possède une expérience importante relayée par l'unité DyLAH dans le domaine du séquençage et de l'analyse phylogénique des lyssavirus. Ces études ont été notamment poursuivies en 2013 pour essayer de comprendre la dynamique spatio-temporelle de la diffusion de la rage canine. La rage est une zoonose qui est endémique dans de nombreuses régions du monde en développement, notamment en Afrique et en Asie. Cependant on connaît peu de chose sur la dynamique spatio-temporelle de la rage chez les chiens et les processus responsables de la maintenance de la rage dans un espace géographique limité et dans les villes en particulier. Dans une étude à grande échelle, nous avons démontré comment des facteurs anthropologiques et évolutifs façonnent la distribution spatiale et la propagation du virus de la rage en Afrique du Nord (Talbi *et al.*, 2010). Cependant, son épidémiologie reste largement méconnue dans de nombreuses autres régions du monde, comme au Népal et à Madagascar.

En 2013, nous avons décrit pour la première fois la diversité phylogénique et l'évolution du virus de la rage au Népal dans le contexte plus large de l'Asie centrale. Malgré la faible surface et la situation géographique particulière du Népal dans le sous-continent indien, notre étude a révélé la présence d'une surprenante diversité du virus de la rage, avec la co-existence de trois groupes phylogénétiques différents (Pant *et al.*, 2013). Cette observation suggère au moins deux épisodes indépendants d'introduction de la rage dans ce pays en provenance des pays voisins. En outre, l'analyse phylogénique a identifié l'émergence récente d'un nouveau groupe de virus déjà largement répandu au Népal. Ces travaux ont été entrepris en relation avec le programme européen PREDEMICS (<http://predemics.biomedtrain.eu>) et en collaboration avec de nombreux collègues népalais et australiens.

Le CNRR a contribué à une étude sur la surveillance et le contrôle de la rage à La Réunion, Mayotte, Madagascar (cf. Chapitre 3.3). Pour rappel, une étude phylogénique de 24 isolats malgaches a été menée afin d'identifier les différents groupes viraux et leur répartition sur le territoire de Madagascar. Ce travail a été réalisé et publié en collaboration avec nos collègues de l'Institut Pasteur de Madagascar (Andriamandimby *et al.*, 2013).

En 2013, nous nous sommes aussi attachés à analyser la dynamique spatio-temporelle de la rage au niveau local en prenant pour exemple une grande ville d'Afrique. L'histoire évolutive de 172 séquences de virus de la rage collectés à Bangui, et dans d'autres villes voisines de République Centrafricaine a été analysée. Bangui est la capitale de la République Centrafricaine et n'a pas de programme spécifique pour contrôler la rage du chien. L'échelle de temps de l'histoire évolutive des virus de la rage à Bangui a été évaluée selon la méthode de Monte Carlo par chaîne de Markov. Nos données indiquent que l'épidémiologie de la rage canine dans cette grande ville se caractérise par l'introduction périodique de nouvelles lignées phylogénétiques virales dans la ville. Les introductions et la propagation des virus correspondants sont responsables de petites épidémies qui semblent toutes contribuer à une succession de vagues épidémiques, dont la période a été déterminée à partir des données épidémiologiques (7,4 et 4,5 années). Ces vagues sont séparées par des phases inattendues d'extinction des chaînes de transmission, suivies par l'introduction et la propagation de nouvelles lignées nouvellement introduites dans la ville. En conclusion, nos données indiquent que la rage n'est pas durablement maintenue dans

une grande ville sur des échelles de temps relativement longues, ce qui suggère un rôle plus important des métapopulations de chien dispersées et faiblement connectées (ex: milieu péri-urbain et rural) dans le maintien de la rage canine par rapport aux grandes populations de chiens de densité homogène présentes en ville. Ces observations ont des implications très importantes dans l'élaboration des stratégies de contrôle de la rage canine et dans l'implémentation des campagnes de vaccination canine en particulier (Bourhy *et al.*, communication orale à l'ECV, 11-14 septembre 2013).

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

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

Trente-six espèces différentes de chauves-souris insectivores sont présentes en Europe. L'unité DyLAH a montré par un suivi longitudinal de colonies de chauves-souris en Espagne que de nombreuses espèces peuvent être infectées par les lyssavirus de chauves-souris européennes (EBLV). En 2013, l'unité de recherche, en lien avec le CNRR et le CCOMS Rage, a poursuivi des études sur la dynamique de ces lyssavirus dans diverses colonies de chauve-souris. Ces études ont utilisé plusieurs approches : recueil de données écologiques, sérologiques et virologiques sur le terrain, études phylogénétiques des isolats, modélisation mathématique de l'infection en essayant d'intégrer tous les paramètres recueillis afin d'obtenir des informations sur la dynamique spatio-temporelle de la rage dans les colonies de chauves-souris. Elles sont poursuivies principalement en Espagne dans le cadre du programme européen PREDEMICS (<http://predemics.biomedtrain.eu>) en collaboration avec J. Serra-Cobo (Université de Barcelone) mais aussi en Guyane dans le cadre du programme FEDER VIRUSES, en collaboration avec A. Lavergne et B. de Thoisy (Institut Pasteur de Guyane).

En 2013, nous avons étudié l'importance de l'écologie des colonies des chauves-souris dans la compréhension de la prévalence des lyssavirus de chauves-souris européennes de type 1 (EBLV-1). Les chauves-souris ont été proposées comme principaux réservoirs de diverses maladies virales émergentes, la rage étant sans doute l'une des plus connues en Europe. Cependant, les études sur l'interaction écologique entre les lyssavirus et leurs hôtes naturels sont rares. Tirant profit des données recueillies lors des travaux de surveillance active sur les colonies de chauves-souris en Espagne qui ont commencé en 1992, nous avons analysé les facteurs écologiques qui pourraient affecter la dynamique d'infection observée dans ces colonies. Entre 2001 et 2011, nous avons collecté et testé 2393 échantillons de sang et 45 chauves-souris mortes provenant de 25 localités et 20 espèces de chauves-souris différentes. La séroprévalence dirigée contre EBLV-1 était significativement associée à la taille et à la richesse en espèces de chaque colonie (Serra-Cobo *et al.*, 2013). Des pourcentages plus élevés de séroprévalence ont été trouvés dans de grandes colonies multi-spécifiques, ce qui suggère que les contacts intra et interspécifiques sont les principaux facteurs de risque de transmission d'EBLV-1. Nous avons également mis en évidence une relation entre la phylogénie des chauves-souris et les taux de séroprévalence observés. Ces résultats soulignent l'importance de l'étude de l'écologie des colonies de chauves-souris dans la compréhension de la séroprévalence et fournissent également des informations précieuses en santé publique.

A ces travaux, se rajoutent ceux déjà décrits dans le Chapitre 3.3 (Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance) et portant sur les difficultés de prise en charge posées par l'exposition de certaines populations amérindiennes en Guyane française au virus de rage des chauves-souris hématophages (Berger *et al.*, 2013). Pour rappel, ces travaux ont été menés en collaboration entre Franck Berger, Noëlle Desplanches, Sylvie

Baillargeaux, André Spiegel du CAR de l'Institut Pasteur de la Guyane à Cayenne, de Michel Joubert du Centre Hospitalier de Cayenne, de Manuelle Miller de la Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de Guyane à Cayenne, et de Florence Ribadeau-Dumas et Hervé Bourhy du CNRR.

6.1.3 Etude des mécanismes de franchissement de la barrière d'espèce par le virus de la rage

L'unité DyLAH est engagée dans différents programmes de recherche (projet européen PREDEMICS, ANR Viva&Host) visant à étudier les mécanismes moléculaires à l'origine du franchissement de la barrière d'espèce par le virus de la rage, et de son adaptation à son nouvel hôte. Au travers d'études phylogéniques antérieures, il a été suggéré que l'origine de la rage vulpine ayant émergé en Europe au milieu du XX^{ème} siècle résultait d'une adaptation réussie d'un virus rabique canin au renard roux. Cependant, les mécanismes moléculaires sous-tendant ce processus restent largement inexpliqués. Afin de comprendre et de décrire ces mécanismes spécifiques, l'unité DyLAH a initié en 2012 des études visant à mimer expérimentalement ce franchissement, en utilisant des souches virales d'origine canine et vulpine déjà caractérisées au laboratoire dans des modèles d'infections homologue et hétérologue réalisées de façon successive, *in vitro* et chez l'animal (chien et renard roux). Au cours de ces études, la diversité intrinsèque des virus retrouvés à chacun de ces passages est explorée de façon exhaustive par l'utilisation de séquençage à haut débit, afin d'identifier de potentielles signatures moléculaires d'adaptation à l'hôte. Ces marqueurs moléculaires seront ensuite analysés plus finement au niveau de la réplication et de la pathogénie virale, par l'utilisation de virus recombinants porteurs ou non de ces marqueurs. Ces travaux sont menés en collaboration avec l'Anses-Nancy, partenaire de l'unité DyLAH dans le cadre du programme PREDEMICS (<http://predemics.biomedtrain.eu>) et prestataire extérieur dans le cadre de l'ANR Viva&Host.

6.1.4 Aspects médico-économiques en contexte d'éradication de la rage

Le CNRR a débuté une analyse médico-économique des pratiques nationales de prophylaxie post-exposition de la rage dans le contexte d'élimination de la rage vulpine et de la rage canine du territoire français. Dans ce cadre le CNRR s'est interrogé sur les conduites à tenir en France (Communication orale "Quelle conduite à tenir en France", Florence Ribadeau-Dumas, JNI, 12-13 juin 2013). En 2001, l'OIE a déclaré la France indemne de rage des carnivores terrestres non volants. Le contexte de rage résiduel est donc faible. Il est essentiellement lié à la rage des chauves-souris présente sur le territoire français mais aussi aux cas d'importations illégales de carnivores domestiques enragés. Face à l'évolution favorable de ce contexte épidémiologique, il n'existe cependant pas de recommandation internationale et on observe donc des différences de prise en charge entre pays mais aussi au sein d'un même pays comme en France. Le CNRR a donc débuté une analyse bénéfice-risque et coût-efficacité de la prophylaxie post-exposition en France métropolitaine. Cette étude s'appuie sur l'analyse rétrospective des bases de données du CNRR. Elle montre que dans le contexte actuel français, la balance bénéfice risque et, a fortiori, le rapport coût efficacité ne sont pas en faveur de la prophylaxie après exposition à un chien non identifié en métropole et ceci tant que le risque demeure inférieur à 1,4 chiens enragés/1000. Cette étude renforce l'intérêt urgent de discuter de recommandations nationales (cf. Chapitre 3.1.2.2). Ces travaux ont été menés par F. Ribadeau-Dumas, en collaboration avec D. N'Diaye et Y. Yazdanpanah (Inserm U738, AP-HP, Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard, Université Paris Diderot) et l'ensemble du CNRR et des CAR qui ont contribué à la base de données.

6.1.5 Collaboration CNRR, CIBU, PATHOQUEST, Plate-forme Santé publique, SPILF, InVS et Fondation Mérieux sur le thème des encéphalites en France

En collaboration avec de nombreux partenaires à l'Institut Pasteur, en particulier avec la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU), la plate-forme de Santé Publique (PF8) dont les activités ont été intégrées en août 2013 à l'Unité de recherche et d'expertise Environnement et Risques Infectieux sous le nom de "Pôle de Génotypage des Pathogènes", la Fondation Mérieux (Laboratoire des pathogènes émergents) et la société PATHOQUEST, le CNRR est impliqué dans l'analyse des étiologies responsables des encéphalites aiguës en France faisant suite à la constitution d'une cohorte par l'InVS et la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (Mailles *et al.*, 2009). Hervé Bourhy coordonne le consortium retenu dans le cadre d'un appel d'offre pour l'analyse des échantillons provenant de patients pour lesquels aucune étiologie n'a pu être mise en évidence par les méthodes classiques. Les analyses par séquençage à haut débit des LCR recueillis dans le cadre de cette cohorte ont été terminées en 2013 et une réunion d'information a eu lieu le 19 décembre 2013.

6.1.6 Développement de la surveillance et caractérisation des agents responsables des encéphalites en Afrique de l'Ouest et du centre

L'unité DyLAH avec le CNRR et le CCOMS Rage a poursuivi une étude (PTR DEVINE, L. Dacheux, coordinateur principal) visant à caractériser d'éventuels nouveaux agents viraux responsables d'encéphalites chez l'adulte sur 3 sites africains (Dakar, Bangui et Abidjan). A ce jour, la période de recrutement des patients est clôturée, avec une 60^{aine} d'inclusions réalisées. Les analyses des prélèvements collectés, basées sur une approche métagénomique (séquençage à haut débit et microarrays), sont en cours.

6.1.7 Développement de molécules inhibitrices des complexes de multiplication et de transcription des virus à ARN et du virus de la rage en particulier

L'unité DyLAH poursuit ses travaux sur le développement de molécules antivirales, au travers du programme intégré de recherche européen 260644 intitulé "Small-molecule inhibitor leads versus emerging and neglected RNA viruses", acronyme SILVER. Plus de 30000 molécules ont été testées et il est maintenant procédé à la phase dite d'explosion des hits afin d'affiner l'efficacité et la biodisponibilité et de diminuer la toxicité des molécules identifiés comme actives. Le CNRR bénéficiera immédiatement des avancées technologiques et thérapeutiques éventuelles issues de cette recherche.

6.1.8 Echappement des lyssavirus aux mécanismes d'immunité innée de l'hôte

Les mécanismes d'échappement à l'immunité innée déployés par les lyssavirus dépendent pour une part de 2 protéines virales. En 2013, nous avons contribué à démontrer que le mécanisme unique de ciblage sélectif par la phosphoprotéine virale des protéines STAT impliquées dans la signalisation de l'interféron est conservé entre les membres les plus divergents du genre *Lyssavirus*, offrant ainsi, des perspectives importantes dans la pathogenèse et le ciblage thérapeutique potentiel de lyssavirus. Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec D. Blondel, CNRS, Gif sur Yvette et des équipes australiennes et japonaises. Cette identification complète d'autres mécanismes décrits par notre groupe concernant le rôle de la protéine de matrice des lyssavirus dans la modulation d'un nouveau membre de la famille NF- κ B, noté RelAp43. RelAp43 est ciblé par la protéine de la matrice de lyssavirus résultant en une inhibition de la voie NF- κ B. Ces données fournissent la description de deux mécanismes qui contribuent à l'échappement des lyssavirus aux mécanismes de défense de l'hôte et donc à leur pathogénie.

6.2 Liste des publications et communications

6.2.1 Publications internationales

- Ribadeau-Dumas F, Dacheux L, Bourhy H. La rage. *Médecine/Sciences* 2013, 29(1):47-55.
- Serra-Cobo J, Lopez-Roig M, Segui M, Sanchez LP, Nadal J, Borrás M, Lavenir R, Bourhy H. Ecological factors associated with european bat Lyssavirus seroprevalence in spanish bats. *Plos One*, 2013, 8(5):e64467.
- Berger F, Desplanches N, Baillargeaux S, Joubert M, Miller M, Ribadeau-Dumas F, Spiegel A, Bourhy H. Rabies Risk: Difficulties Encountered during Management of Grouped Cases of Bat Bites in 2 Isolated Villages in French Guiana. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Jun 27;7(6):e2258.
- Joffret ML, Bouchier C, Grandadam M, Zeller H, Maufrais C, Bourhy H, Despres P, Delpeyroux F, Dacheux L. Genomic characterization of Sebokele virus 1 (SEBV1) reveals a new candidate species among the genus Parechovirus. *J Gen Virol*. 2013 Jul;94(Pt 7):1547-53.
- Andriamandimby SF, Héraud JM, Ramiandrasoa R, Ratsitorahina M, Rasambainarivo JH, Dacheux L, Lepelletier A, Goodman SM, Reynes JM, Bourhy H. Surveillance and control of rabies in La Reunion, Mayotte, and Madagascar. *Vet Res*. 2013 Sep 9, 44(1):77.
- Pant GR, Lavenir R, Wong FYK, Certoma A, Larrous F, Bhatta DR, Bourhy H, Stevens V, Dacheux L. Recent Emergence and Spread of an Arctic-Related Phylogenetic Lineage of Rabies Virus in Nepal. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Nov 21;7(11):e2560.

6.2.2 Communications nationales

Présentations orales et posters :

- Participation aux XV^{èmes} Journées Francophones de Virologie, 18-19 avril 2013 (Laurent Dacheux, Florence Larrous, Youcef Ben Khalifa, Cécile Troupin et Hervé Bourhy en tant que modérateur).
 - Laurent Dacheux : "Diversité de la population virale retrouvée chez des chauves-souris insectivores dans un contexte épidémiologique de contacts avec l'homme" (communication orale).
 - Florence Larrous : "Conservation d'un mécanisme unique d'évasion à la réponse antivirale à travers le genre Lyssavirus" (communication orale).
- Participation aux XIV^{èmes} Journées nationales d'Infectiologie (JNI), Clermont-Ferrand, 12-13 juin 2013 (Laurent Dacheux en tant que membre invité et Florence Ribadeau-Dumas).
 - Laurent Dacheux: Aspect épidémiologique de la rage dans le monde et en France (communication orale).
 - Florence Ribadeau-Dumas: Quelle prophylaxie contre la rage après une exposition en France? (communication orale).
- Participation aux Journées Départementales Infection & Epidémiologie de l'Institut Pasteur (Hervé Bourhy, Laurent Dacheux, Florence Larrous, Cécile Troupin, Youcef Ben Khalifa), Institut Pasteur Paris, 30 septembre-1er octobre 2013.
 - Youcef Ben Khalifa: The matrix protein of rabies virus binds to RelpA43 to suppress NF-κB dependent gene expression related to innate immunity (communication orale).
 - Laurent Dacheux: Development and application of a combined real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction assay for the pan-lyssavirus detection (poster).
 - Florence Larrous: Involvement of some P residues in the replication complex activity of rabies virus (poster) ;
- Joint PREDEMICS-ANTIGONE Workshop, Institut Pasteur Paris, le 6 novembre 2013 (Hervé Bourhy, Laurent Dacheux, Florence Larrous, Cécile Troupin, Youcef Ben Khalifa), Institut Pasteur Paris, 30 septembre-1^{er} octobre 2013.
 - Hervé Bourhy: Role of Lyssavirus matrix protein and phosphoprotein in innate immunity.

6.2.3 Communications internationales

Communications affichées

- Recent Emergence and Spread of a Phylogenetic Lineage of Rabies Virus in Nepal. 5th European congress of Virology, Lyon, 11-14 septembre 2013 (L. Dacheux).
- Recent Emergence and Spread of a Phylogenetic Lineage of Rabies Virus in Nepal. 10th edition of the International Meeting on Microbial Epidemiological Markers, Paris, 2-5 octobre 2013 (L. Dacheux).
- Recent Emergence and Spread of a Phylogenetic Lineage of Rabies Virus in Nepal. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Grenade, Espagne, 16-21 juin 2013 (L. Dacheux).
- Involvement of some P residues in the replication complex activity of rabies virus. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Grenade, Espagne, 16-21 juin 2013 (F. Larrous).

Communications orales

- Virome analysis of French bat species in contact with humans: identification of a large majority of novel mammalian-related viruses. 5th European congress of Virology, Lyon, 11-14 septembre 2013 (L. Dacheux).
- The matrix protein of rabies virus binds to RelAp43 to suppress NF-K-B dependent gene expression related to innate immunity. 5th European congress of Virology, Lyon, 11-14 septembre 2013 (Y. Ben Khalifa).
- Phylogenetics and dispersal of domestic dog rabies in an African city. 5th European congress of Virology, Lyon, 11-14 septembre 2013 (H. Bourhy).
- The matrix protein of rabies virus binds to RelAp43 to suppress NF-κ-B dependent gene expression related to innate immunity. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Grenade, Espagne, 16-21 juin 2013 (H. Bourhy).
- Mechanisms of evasion of host innate immunity by lyssaviruses involving the phosphoprotein and the matrix protein. 5th Wuhan International Symposium on Modern Virology (WISOM), Wuhan, China, 15-17 novembre 2013 (H. Bourhy).
- Virome analysis of French bat species in contact with humans : identification of a large majority of novel mammalian-related viruses. 5th Wuhan International Symposium on Modern Virology (WISOM), Wuhan, China, 15-17 novembre 2013 (L. Dacheux).
- Cost-effectiveness of anti-rabies prophylaxis after exposure to unobservable. Dogs in eradication context : The French model. ICAAC 2013, Denver, USA, 9-13 septembre 2013 (F. Ribadeau-Dumas).

6.2.4 Conférences sur invitations

- Emergence and phylodynamics of rabies viruses. International Meeting on Microbial Epidemiological Markers (IMMEM-10), Institut Pasteur, Paris, 2-5 octobre 2013 (H. Bourhy).
- Role of lyssavirus matrix protein and phosphoprotein in innate immunity. Conférence inaugurale du workshop commun des 2 programmes européens PREDEMICS-ANTIGONE, Institut Pasteur, Paris; 6 novembre 2013 (H. Bourhy).
- Le réseau international des Instituts Pasteur et la coopération intersectorielle de lutte contre la rage en Afrique. 4^{èmes} Rencontres du Bureau des Experts de la Rage du Continent Africain (AfroReb), Dakar, Sénégal, 8-11 octobre 2013 (H. Bourhy).
- Aspects Epidémiologiques de la rage dans le monde, en Europe et en France. 14^{èmes} Journées Nationales d'Infectiologie, Clermont-Ferrand, 12-14 juin 2013 (L. Dacheux).
- Epidemiological situation of rabies and risk of importation in a rabies free country: the example of France and Europe. New rabies contingency plan in Japan, Tokyo, Japon, 3-8 février 2013 (H. Bourhy).
- History of rabies and rabies control, goals formulated by FAO, OIE and WHO, Need for global coordination, rabies situation in the Southern Mediterranean and risks for Europe, activities in the region, problems, challenges and opportunities. Workshop on regional policies to control rabies in the southern mediterranean, AGR 53855, organisé par le TAIEX en collaboration avec la DG SANCO, EFSA et l'ECDC, 15-16 octobre 2013, Paris, France (H. Bourhy).

7 Coopération avec l'Anses-Nancy

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

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

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

Le CNRR entretient de très nombreux liens dans le domaine de la recherche avec l'Anses-Nancy au travers d'un programme européen (PREDEMICS) depuis novembre 2011 et d'un programme ANR (Viva&Host) depuis mars 2013 dans lesquels nous sommes partenaires et travaillons sur les mécanismes évolutifs impliqués dans la capacité de franchissement de la barrière d'espèce (chien, renard, homme) par les lyssavirus. Ces travaux nécessitent des échanges de personnel, des contacts téléphoniques et rapport d'avancements dont la fréquence est au minimum mensuelle. Enfin, les 2 structures sont aussi partenaires d'un programme ANR ayant débuté fin 2013, intitulé "éco-épidémiologie des coronavirus, de la faune sauvage à l'homme et risque d'émergence" (EPICOREM).

8 Programme d'activité pour la période 2014-2015

8.1 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 spécifié lors de l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de référence pour la période 2012-2016 (tel que décrit dans l'Annexe 1), tout en assurant la traçabilité et la qualité des réponses données.

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

Le CNRR maîtrise l'ensemble des techniques nécessaires au diagnostic de la rage humaine et animale en France. Les objectifs majeurs dans ce domaine du CNRR au cours de la période 2014-2015 sont le maintien du niveau d'Assurance-Qualité des résultats donnés ainsi que le perfectionnement des techniques diagnostiques utilisées et le maintien des délais de réponse lors d'une demande de diagnostic rage.

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. En complément du maintien de l'accréditation selon le référentiel ISO 17025 des techniques mises en œuvre pour le diagnostic *post-mortem* de la rage animale (techniques FAT et RTCIT), le CNRR va également poursuivre son engagement dans la démarche d'accréditation selon le référentiel ISO 15189 des techniques utilisées dans le diagnostic de la rage humaine. En 2015, le CNRR souhaite soumettre à l'accréditation selon ce référentiel ISO 15189 l'ensemble des techniques utilisées ou en développement pour le diagnostic *intra-vitam* (techniques de biologie moléculaire telle la RT-qPCR) ou pour le dosage des anticorps antirabiques (séroneutralisation et test ELISA), ces techniques étant par

ailleurs déjà effectuées dans le même contexte d'Assurance-Qualité (norme ISO 17025) que celui suivi par les techniques actuellement accréditées par le Cofrac.

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

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

Il existe depuis 2002 une procédure applicable en cas de confirmation de la suspicion de rage humaine, chiroptère ou animal importé qui a déjà démontré son efficacité à de nombreuses reprises. Lors de la survenue de cas de rage posant des problèmes particuliers de prise en charge, le CNRR en collaboration avec les autres instances concernées continuera à appliquer pendant la période 2014-2015 les mesures d'urgence mises en place, telles que:

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

Une adresse courriel unique pour le CNRR (cnrrage@pasteur.fr) permet de joindre de manière certaine un des responsables du CNRR. Enfin un téléphone portable assure la possibilité de joindre le responsable du CNRR de manière quasi-continue.

8.4 Conseil

8.4.1 Mesures générales

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

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

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

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

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

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

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

De par leur activité, et de façon bénévole, les chiroptérologues ont une implication forte dans la surveillance de cette zoonose. Au cours de la période 2014-2015, le CNRR continuera à participer à l'information de ces personnes sur les moyens de protection permettant de réduire les risques d'exposition au virus et sur l'intérêt d'être suivies par un CAR. Le CNRR assurera, conformément aux recommandations du Groupe de Travail sur la prévention de la rage des chiroptères chez l'homme et à celles du CSHPF, des contrôles sérologiques des chiroptérologues, à chaque fois que des sérums répondant à cette indication seront reçus.

8.4.4 Coordination entre le CNRR et les CAR

Les responsables du CNRR continueront à assurer la coordination des CAR par téléphone, télécopie ou courrier électronique en se mettant à la disposition des médecins responsables pour l'interprétation des résultats biologiques et tous les conseils techniques qui peuvent leur être nécessaires. Cette action de conseil est aussi exercée envers les ressortissants français contaminés à l'étranger, en coopération avec les structures médico-hospitalières locales. Cette coordination permet un ajustement de la thérapeutique au niveau national face à une situation épidémiologique nouvelle.

Une journée de formation est obligatoire pour tous les médecins responsables des CAR (circulaire ministérielle DGS/AP/2 N°1239, Note du 15 janvier 1987). De fait, cette journée continuera d'être proposée par le CNRR à l'ensemble des médecins de CAR qui en feront la demande.

Le CNRR s'est aussi engagé à organiser une journée des CAR à intervalle régulier. La prochaine journée de réunion des CAR aura lieu en 2014 à l'Institut Pasteur.

Enfin, le CNRR s'attachera en 2014 au travers de publications et de travaux de recherche à convaincre les CAR français de modifier leur pratique et de diminuer le nombre de prophylaxie post-exposition chez les patients en contact sur le territoire métropolitain avec un animal domestique ou sauvage disparu.

8.5 *Activités de recherche en lien avec le CNRR*

Le CNRR poursuivra en 2014-2015 les thématiques de recherche décrites dans le Chapitre 6.1 (Travaux de recherche).

Annexe 1 : Missions et organisation du CNR

1. Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR

L'arrêté du 26 décembre 2011 relatif aux Centres Nationaux de Référence pour la lutte contre les maladies transmissibles a renouvelé le mandat du CNRR situé à l'Institut Pasteur. Le cahier des charges spécifique, défini par l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence, demande au CNRR de respecter les missions définies par l'arrêté du 29 novembre 2004 (modifié par l'arrêté du 21 juillet 2010), et plus spécifiquement:

- *Etablir le diagnostic de rage pour tout cas humain suspecté et pour tout animal susceptible d'avoir transmis la rage à l'homme,*
- *Contribuer à la surveillance épidémiologique de la rage animale, en liaison avec le laboratoire de référence de la rage animale et collaborer avec les autres structures impliquées dans la surveillance et le contrôle de la rage animale (DGAL, Anses-Nancy, etc.),*
- *Contribuer à l'alerte en signalant à 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.*

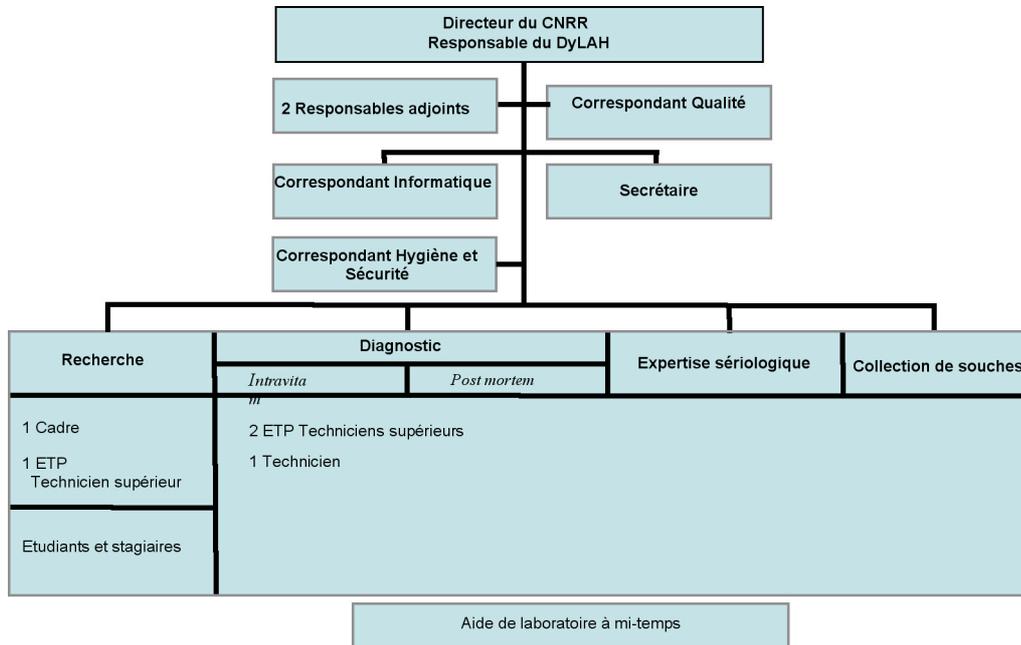
Les coûts relatifs aux analyses diagnostiques de la rage animale ne sont pas pris en charge par la subvention associée au CNRR. Cette activité est confiée à l'Institut Pasteur au titre de l'article R22-36 du code rural, du décret 2003-768 du 1^{er} août 2003 relatif à la partie réglementaire du livre II du code rural et paru au JO du 07/08/03 qui indique la destination des animaux suspects de contamination humaine, et par l'arrêté du 1^{er} mars 2002 paru au JO du 09/03/02 signé par le Ministre en charge de la santé, fixant la liste des organismes chargés des examens relatifs au diagnostic de la rage sur les animaux suspects d'être à l'origine de la contamination humaine et spécifiant l'Institut Pasteur. Cette activité fait l'objet d'une convention particulière entre l'Institut Pasteur et la DGS. Néanmoins la subvention du CNR contribuant à de nombreuses activités connexes (assurance qualité, typage moléculaire des souches, maintien des bases de données, développement de techniques, etc.) et le diagnostic animal faisant explicitement partie des missions, les résultats issus de ce domaine d'expertise sont largement décrits dans ce rapport.

En 2013, une convention a été signée avec la DGS concernant une partie des charges des activités de conseil et d'expertise aux CAR. Elle s'ajoute ainsi à la subvention de l'InVS.

2. Effectif et Qualification du personnel du CNRR

2.1. Organigramme général

Figure A1 : Organigramme général du CNRR.



Le CNRR est localisé à l'Institut Pasteur à Paris au sein du Département « Infection et Epidémiologie », dans l'unité DyLAH dirigée par le Dr. Vét. Hervé Bourhy. Il est secondé par Laurent Dacheux, Dr. Pharm., pour l'ensemble des activités de laboratoire liées aux missions du CNRR : réalisation du diagnostic de rage (à partir de prélèvements animaux et d'échantillons humains), réalisation des sérologies antirabiques (dans le cadre de diagnostic *intra-vitam* de rage chez l'homme, du suivi sérologique des patients vaccinés ou dans le cadre d'expertises), développement et évaluation de nouvelles techniques de diagnostic de rage, et réalisation des activités de recherche dans le domaine de la rage et des virus apparentés.

Le responsable du CNRR a également été secondé par le Dr. Méd. Florence Ribadeau-Dumas jusqu'à la date de son départ en septembre 2013. Ce second adjoint assumait aussi la responsabilité du CAR situé dans le Centre Médical de l'Institut, qui est depuis dirigé par le Dr Méd. Philippe Poujol. Le CNRR, en collaboration étroite avec le responsable de ce CAR, coordonne, centralise et répond aux questions sur la rage humaine et sa prophylaxie et aux demandes, notamment de formation des médecins des CAR, concernant la prophylaxie de la rage humaine en France et dans le monde.

2.2. Effectif par catégorie de fonction

Tableau AI: Effectif par catégorie de fonctions.

Abréviation : ETP = équivalent temps plein

	Sci./biol.	Ing.	Tech	Ag. Tech.	Adm.
Effectif de la structure de Recherche (Nombre de postes)	6	0	4	1	1
Dont pour le. CNR (en Equivalent Temps Plein ETP estimés)	0,9	0	1	0,25	0,25

2.3. Personnel technique

Le personnel technique est composé d'un effectif de 6 personnes:

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

2.4. Personnel cadre

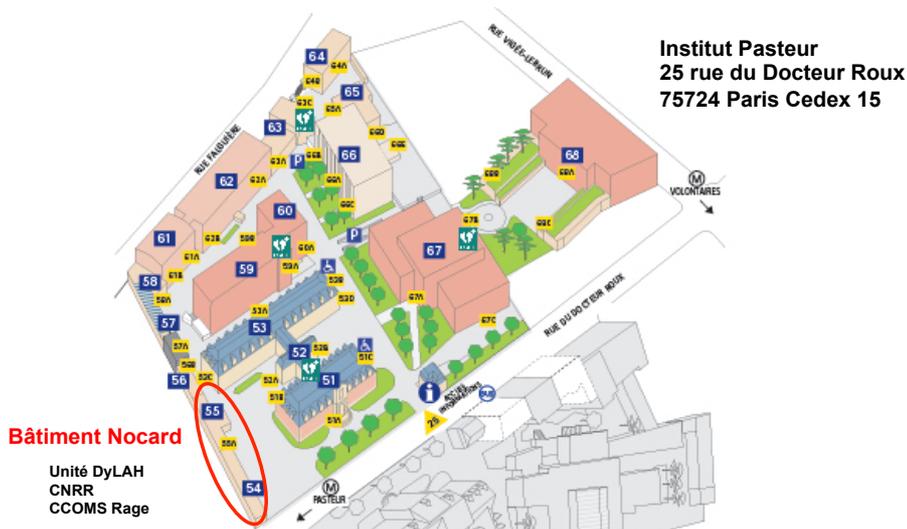
Le personnel cadre est composé d'un directeur Hervé BOURHY (vétérinaire autorisé à exercer la biologie médicale), d'un directeur adjoint, Laurent DACHEUX (pharmacien) responsable des activités de laboratoire, d'une directrice adjointe jusqu'en septembre 2013, Florence RIBADEAU-DUMAS (médecin) responsable des activités médicales en relations avec les centres antirabiques.

3. Locaux et équipements du CNRR

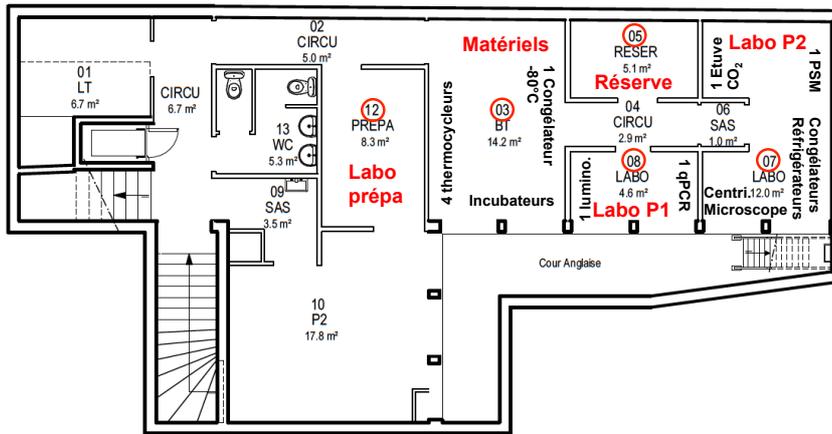
3.1. Locaux

3.1.1. Locaux de l'unité DyLAH utilisés par le CNRR

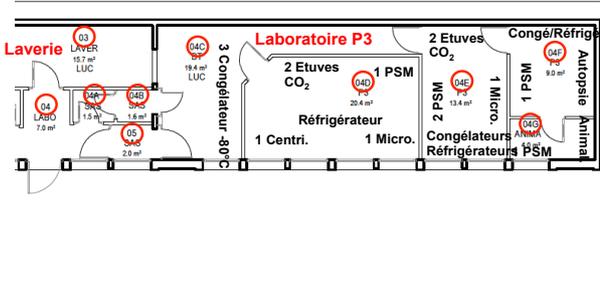
Figure A2 : Plans des locaux de l'unité DyLAH (utilisés par le CNRR).



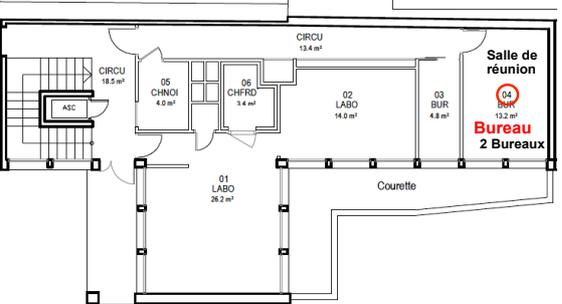
Bâtiment Nocard 55, sous-sol



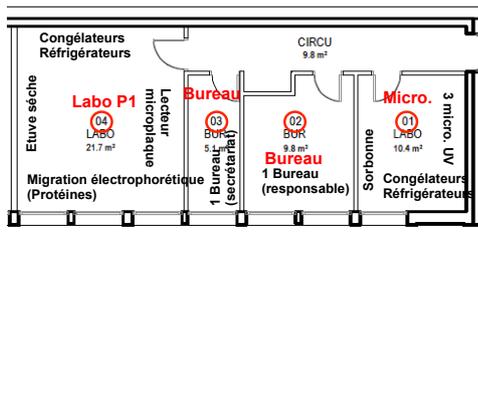
Bâtiment Nocard 54, RdC



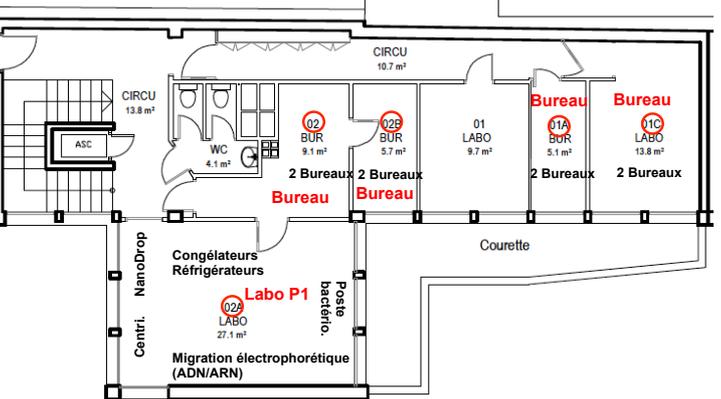
Bâtiment Nocard 55, RdC



Bâtiment Nocard 54, 1^{er} étage



Bâtiment Nocard 55, 1^{er} étage



Locaux administratifs:

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

Laboratoires:

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

- 1 Laboratoire de microscopie
- 1 Laboratoire de préparation

3.1.2. Locaux du Centre Médical affectés au CNRR (jusqu'en septembre 2013)

Locaux administratifs:

- Bureau pour le médecin (nécessaire 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

3.2. Matériel et équipement actuels de la structure

Matériel et équipement utilisés en partage avec l'unité DyLAH

- Laboratoires réglementaires de confinement pour la manipulation des lyssavirus
- 5 congélateurs -80°C
- 6 postes de sécurité microbiologique
- 4 étuves à CO₂
- 3 conteneurs à azote liquide
- 3 microscopes à immunofluorescence
- 2 lecteurs de microplaques (dont 1 de luminescence)
- 3 microscopes inversés
- 6 centrifugeuses (dont 3 réfrigérées)
- 5 thermocycleurs (dont 1 appareil de PCR en temps réel)
- 1 spectrophotomètre (Nanodrop)
- Générateurs et cuves à électrophorèse

Moyens extérieurs à la structure / Structures transversales

- Animalerie des agents pathogènes
- Plate-forme Génomique (PF1)
- Plate-forme Transcriptome et Epigénome (PF2)
- Plate-forme de Génotypage des Pathogènes et Santé Publique (PF8) jusqu'à sa fermeture en août 2013, date à partir de laquelle une partie de ses activités a été transférée dans l'Unité de recherche et d'expertise environnement et risques infectieux en tant que Pôle de Génotypage des Pathogènes (PGP)
- Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP)
- Infrastructures du Centre Médical en partage (jusqu'en septembre 2013): bureau de consultation, salle de soin et salle d'attente, téléphone, accueil.

4. Démarche Qualité au sein du CNRR

- Le fonctionnement du CNRR est conforme au GBUI (Guide de Bonne Utilisation de l'Informatique) depuis 2003.
- Le CNRR est accrédité par le Cofrac selon le référentiel ISO 17025 depuis 2006 dans la section Laboratoire (diagnostic animal, accréditation N° 1-1692), pour les techniques de détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de

bulbe ou de cortex (FAT) et d'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins (RTCIT). Un audit de surveillance a été réalisé en mars 2013 et a permis de maintenir cette accréditation dans la section Laboratoire.

- L'accréditation de ces mêmes techniques selon le référentiel ISO 17025 a également été effective dans la section Santé Humaine (diagnostic humain, N° accréditation 8-2588) jusqu'en août 2013. La décision de ne pas maintenir l'accréditation du CNRR dans cette section fait suite à l'obligation faite aux CNR, au même titre que celle faite aux Laboratoires de Biologie Médicale, de se conformer au référentiel ISO 15189 pour toutes les activités en lien avec la biologie médicale. Ainsi, l'engagement du CNRR dans le processus d'accréditation des techniques concernées a débuté en novembre 2012 avec la demande initiale d'accréditation multi-site de l'Institut Pasteur selon le référentiel ISO 15189, pour les techniques FAT et RTCIT. Suite à cette demande, un audit de surveillance/extension a été réalisé par le Cofrac en septembre 2013, et a permis d'obtenir en mars 2014 l'accréditation pour ces deux techniques pour la norme ISO 15189 (diagnostic humain, N° accréditation 8-2588).
- Le CNRR participe régulièrement à des essais inter-laboratoires internationaux pour l'ensemble des techniques qu'il met en œuvre. Il a ainsi réalisé en 2013 un essai avec l'Institut Suédois pour le Contrôle des Maladies Transmissibles pour les techniques ELISA et RFFIT (échange de 5 échantillons de sérums anonymisés). Il a également participé à l'essai inter-laboratoire organisé annuellement par le LNR Rage pour les techniques FAT, RTCIT, RT-PCR et RT-qPCR (panel de 8 échantillons de cerveaux anonymisés).

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

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

1. Liste des techniques de référence

1.1. Techniques de diagnostic post-mortem

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

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

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

1.2. Techniques de diagnostic intra-vitam

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

- la recherche d'anticorps anti-rabiques dans le sérum et le LCR par séroneutralisation (technique Rapid Focus Fluorescent Inhibition Test ou RFFIT) et par test immuno-enzymatique (technique ELISA utilisant le kit commercial PlateliaTM Rabies II Kit, Bio-Rad),
- la mise en évidence de l'ARN viral par RT-PCR et par une technique d'amplification et de détection en temps réel (RT-qPCR) à partir de la salive, du LCR et de biopsies de peau. Le CNRR dispose d'amorces oligonucléotidiques permettant de détecter les différentes espèces virales du genre *Lyssavirus* (y compris les virus des chauves-souris européennes et en particulier le virus Bokeloh bat lyssavirus récemment identifié en Europe et diagnostiqué en 2013 par le CNRR sur une chauve-souris originaire du département de la Savoie).

1.3. Typage des isolats

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

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

Ces typages sont notamment permis grâce à l'appui technique de la plate-forme Génomique (PF1) et de la plate-forme Génotypage des Pathogènes et Santé Publique (PF8), devenue le Pôle de Génotypage des Pathogènes au sein de l'Unité de recherche et d'expertise Environnement et Risques Infectieux, présentes à l'Institut Pasteur.

2. Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Le CNRR dispose de bases de données centralisées contenant :

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

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

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

2.1. Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine

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

2.2. Banque de données N°2 : Suspensions de rage humaine et suivi sérologique

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

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 AAR (20), répartis dans toute la France, envoient chaque année leurs données collectées au CNRR. Cet envoi est réalisé sur la base du volontariat. Les données enregistrées sont les suivantes : âge, sexe, date d'exposition, commune, département et pays où 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, observance du traitement, tolérance au traitement. Les données ci-dessous sont saisies et analysées à l'aide du logiciel Voozadoo© (société Epiconcept).

2.4. Aspects réglementaires et légaux

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

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

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

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

3. Collections de souches, prélèvements et sérums de référence

3.1. Descriptions et conditions de stockage

La collection de virus rabiques de l'unité DyLAH développée au travers des activités de recherche de l'unité, du CCOMS Rage et du CNRR comporte environ 2200 isolats (dont 2 collectés en 2013 dans le cadre des activités du CNRR) 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 souris nouveau-nés. Les ARN viraux extraits sont également conservés à température négative (-80°C).

L'ensemble des prélèvements biologiques reçus et analysés pour diagnostic *intra-vitam* ou *post-mortem* de rage humaine (dans le cadre des activités de recherche de l'unité DyLAH, ou des activités du CNRR et du CCOMS Rage) est intégralement conservé comme précédemment décrit. De plus, les ARN extraits et les ADN complémentaires (ADNc) produits à partir de ces prélèvements sont également conservés respectivement à -80°C et à -20°C.

Le CNRR conserve également les spécimens de chauves-souris reçus dans le cadre de ses activités de diagnostic ou de recherche épidémiologique. Ces spécimens (environ 365 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 3100 sérums) provenant de demande de titrage d'anticorps antirabiques ou d'expertises. Il bénéficie aussi d'une collection de près de 3300 sérums de chauves-souris collectés sur le terrain au travers de diverses études épidémiologiques menées par l'unité DyLAH en collaboration avec différents partenaires étrangers. Ces échantillons sont conservés à -20°C.

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 2013 le recensement de sa collection d'échantillons biologiques humains (banque de données N°2). La déclaration des activités de préparation et/ou conservation à des fins scientifiques de cette collection a été intégrée aux dossiers de déclaration de l'Institut Pasteur DC-2009-1067 (sous la référence "Collection N°12"), DC-2012-1698 (sous la référence "Collection N°11"), et DC-2011-1471, qui ont été soumis auprès d'un Comité de Protection des Personnes (CPP) et du Ministère de la Recherche.

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 à partir de 2006. Au total, 35 souches ont été intégrées au sein du CRBIP et sont actuellement disponibles. Elles correspondent à des virus de référence ainsi qu'à différents isolats de terrain représentatifs des principales espèces virales de lyssavirus. Cette collection de virus est actuellement gérée sous assurance Qualité (certification norme NF S96-900). Une caractérisation 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 (disponible à l'adresse <http://www.crbip.pasteur.fr/>).

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.

L'accès aux souches, aux prélèvements biologiques et données associées collectés dans le cadre de l'activité de l'unité DyLAH, du CCOMS Rage ou du CNRR est conditionné par la mise en place de documents contractuels spécifiques. Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées, la mise en place *a minima* d'un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement -MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties. Suivant la nature

industrielle ou académique du partenaire, ces accords donneront lieu ou pas à une contrepartie financière. Ces accords ont notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire. L'unité DyLAH, reconnue CNRR, de par la valorisation de son savoir-faire et de son expertise sur le matériel biologique concerné, reste détentrice des prélèvements biologiques et données associées ou propriétaire des droits existants sur les souches et données associées y afférant.

Différents points essentiels sont appréhendés dans ces accords :

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

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

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

4. Liste des techniques recommandées par le CNRR

L'établissement du diagnostic définitif de rage est réalisé au stade *post-mortem* sur des prélèvements cérébraux (humains et animaux) par trois techniques reconnues et référencées par l'OMS et l'OIE : (i) l'immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de bulbe ou de cortex en utilisant un anticorps polyclonal anti-nucléocapside rabique conjugué à la fluorescéine (FAT), (ii) l'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins (RTCIT), (iii) la détection d'antigènes rabiques par test immuno-enzymatique adapté du RREID (WELYSSA). Ces trois techniques sont réalisées et recommandées par le CNRR.

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

Annexe 3

Tableau AII: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2013.

(Tous ces animaux proviennent de France métropolitaine)

ESPECE	NOMBRE RECU	POSITIF
ANIMAUX DOMESTIQUES		
BOVIN	3	
CAPRIN	1	
CHAT	562	
CHIEN	559	
EQUIN	4	
FURET	9	
ANIMAUX SAUVAGES		
CHEVREUIL	1	
FOUINE	8	
LOIR	1	
MARTRE	3	
RENARD	23	
INSECTIVORES		
CHAUVE-SOURIS	36	1
RONGEURS et LAGOMORPHES		
ECUREUIL	3	
LAPIN	1	
RAT	5	
TOTAL	1 219	1

Tableau AIII: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2013.

DEPARTEMENTS	ANIMAUX DOMESTIQUES				ANIMAUX SAUVAGES		
	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	DEMANDES D'ANALYSE ANNULEES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS
01 AIN	27				3		
02 AISNE	18				0		
03 ALLIER	16				0		
04 ALPES DE HAUTE PROVENCE	8				0		
05 HAUTES-ALPES	5				0		
06 ALPES-MARITIMES	5				0		
07 ARDECHE*	1				1		
08 ARDENNES	11		1		0		
09 ARIEGE	5				1		
10 AUBE	17				0		
11 AUDE	7				0		
12 AVEYRON	5				0		
13 BOUCHES-DU-RHONE	31				2		
14 CALVADOS	23				0		
15 CANTAL	1				0		
16 CHARENTE	6				0		
17 CHARENTE MARITIME	4				1		
18 CHER	10				3		
19 CORREZE	3				0		
20 CORSE	2				0		
21 COTES D'OR	18				0		
22 COTES D'ARMOR	18				0		
23 CREUSE	1				1		
24 DORDOGNE	7				0		
25 DOUBS	6				2		
26 DROME	7				1		
27 EURE	16				0		
28 EURE & LOIR	4				0		
29 FINISTERE	25				1		
30 GARD	8				1		
31 HAUTE-GARONNE	26				1		
32 GERS	1				2		
33 GIRONDE	25				0		
34 HERAULT	26				0		
35 ILLE & VILAINE	10				1		
36 INDRE	7				1		
37 INDRE & LOIRE	10				1		
38 ISERE	12				5		
39 JURA	7				0		
40 LANDES	2				1		
41 LOIR & CHER*	14				1		
42 LOIRE	16				2		
43 HAUTE-LOIRE	6				0		
44 LOIRE ATLANTIQUE	12				2		

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

Tableau AIII (suite).

DEPARTEMENTS	ANIMAUX DOMESTIQUES				ANIMAUX SAUVAGES			
	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	DEMANDES D'ANALYSE ANNULEES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS	
45	LOIRET	8			3			
46	LOT	7			0			
47	LOT & GARONNE*	5			1	1		
48	LOZERE	1			0			
49	MAINE & LOIRE	16			3			
50	MANCHE	3			1			
51	MARNE	6			0			
52	HAUTE-MARNE	3			0			
53	MAYENNE	3			0			
54	MEURTHE-ET-MOSELLE	25			0			
55	MEUSE	8			0			
56	MORBIHAN	21			1			
57	MOSELLE	15			2			
58	NIEVRE	10			0			
59	NORD	11			2			
60	OISE	22			2			
61	ORNE	4			2			
62	PAS-DE-CALAIS	11			0			
63	PUY-DE-DOME	12			0			
64	PYRENEES ATLANTIQUES	13			1			
65	HAUTES PYRENNES*	4			0			
66	PYRENEES ORIENTALES	5			0			
67	BAS-RHIN	13			7			
68	HAUT-RHIN	41			2			
69	RHONE	31			0			
70	HAUTE-SAONE	4			2			
71	SAONE & LOIRE	11			1			
72	SARTHE	10			0			
73	SAVOIE	17			1		1	
74	HAUTE-SAVOIE	14			2			
76	SEINE-MARITIME	10	1		0			
79	DEUX-SEVRES	1			1			
80	SOMME	9			0			
81	TARN	17			1			
82	TARN & GARONNE	13			0			
83	VAR	13			3			
84	VAUCLUSE	15		1	0			
85	VENDEE	13			0			
86	VIENNE*	6			0			
87	HAUTE-VIENNE	10			1			
88	VOSGES	10			0			
89	YONNE	11			0			
90	TERRITOIRE DE BELFORT	3			0			
REGION PARISIENNE :								
75	PARIS	18			1			
77	SEINE & MARNE	33			1			
78	YVELINES	13			0			
91	ESSONNES	16			0			
92	HAUTS DE SEINE	14			0			
93	SEINE ST-DENIS	30			2			
94	VAL DE MARNE	20			0			
95	VAL D'OISE	19			0			
TOTAL		1 137	1	2	0	77	1	1

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