

Centre National de Référence de la Rage

Rapport annuel d'activité Année 2017

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

Unité "Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte"
Centre Collaborateur de l'OMS de Référence et de Recherche pour la Rage

Avant-Propos

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

Ce rapport reflète le travail de l'ensemble du personnel de l'Unité Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte qui contribue avec efficacité et dévouement de manière quotidienne à l'activité du Centre National de Référence de la Rage permettant ainsi de remplir la mission de surveillance microbiologique de la Rage en France.

Table des matières

Résumé analytique de l'activité du Centre National de Référence de la Rage (CNRR)	9
1 Missions et organisation du CNR de la Rage (CNRR)	11
2 Activité d'expertise	11
2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2017	11
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	12
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	12
2.4 Collections de matériel biologique	12
2.4.1 Distribution de souches	12
2.4.1 Distribution de prélèvements et sérums de référence	13
2.5 Activités d'expertise de l'année 2017 : Diagnostic de la rage en France.....	13
2.5.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine	13
2.5.2 Chez l'homme	17
2.5.3 Analyses sérologiques.....	18
2.6 Activités de séquençage.....	19
2.6.1 Accès à une plateforme de séquençage à haut débit.....	19
2.6.2 Accès à une expertise bio-informatique.....	19
2.6.3 Séquençage à haut débit réalisé dans le cadre des activités du CNRR	19
3 Activités de surveillance	20
3.1 Description du réseau de partenaires, des circuits de surveillances en fonction des analyses effectuées	21
3.1.1 Circuit humain	21
3.1.1.1 Suspensions de rage humaine	21
3.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine	22
3.1.2 Circuit animal	24
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques de la rage	25
3.2.1 Circuit humain	25
3.2.1.1 Suspensions de rage humaine	25
3.2.1.2 Prophylaxie de la rage humaine	27
3.2.2 Circuit animal	30
3.3 Surveillance de la résistance des lyssavirus à la prophylaxie médicale	30
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux et internationaux	31
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	32
4 Alerte	33

5	Activités de rétro-informations, de formation et de conseil	34
5.1	Conseil et expertise auprès des professionnels de santé	34
	Cours, formations, évaluations	35
5.2	Activités d'expertise auprès du ministère chargé de la santé, de Santé Publique France, des agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité en Santé, de structures européennes ou internationale	36
5.2.1	Actions au niveau national	36
5.2.2	Actions au niveau international	36
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grands public...)	38
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	38
6.1	Activités de recherche en cours	38
6.1.1	Etude des circonstances de contact à risque de transmission de lyssavirus entre les chauves-souris et l'homme sur le territoire français	38
6.1.2	Mécanismes de la persistance du sous-type 1 des chauves-souris lyssavirus en Europe chez des chauves-souris non-synanthropes: informations tirées d'une étude de modélisation et implication en santé publique	39
6.1.3	La vaccination des chiens dans une ville africaine interrompt la transmission de la rage et réduit l'exposition humaine	39
6.1.4	Utilisation de séquences de gènes viraux pour comparer et expliquer la dynamique spatiale hétérogène des épidémies virales	40
6.1.5	Comment rendre la prophylaxie post-exposition de la rage plus accessible aux populations qui la nécessitent dans les pays en voie de développement	41
6.1.6	Etude des facteurs associés à une réponse anticorps inadéquate après une vaccination antirabique en préexposition chez des professionnels exposés	41
6.2	Liste des publications et communications	42
	Publications nationales	42
	Publications internationales	42
	Communications nationales	43
	Conférences sur invitation	43
	Conférences internationales sur invitation	43
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale	43
8	Programme d'activité pour la période 2018-2019	45
8.1	Du diagnostic au rôle d'alerte: le CNRR comme maillon initial de la surveillance de la rage	45
8.2	Diagnostic de la rage en France: Rapidité, Fiabilité et Qualité	45
8.3	Contribution à la surveillance et rôle d'alerte : le CNRR comme maillon initial	46
8.4	Conseil	46

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

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

1.	Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR	49
2.	Effectif et Qualification du personnel du CNRR	50
2.1.	Organigramme général.....	50
2.2.	Effectif par catégorie de fonction.....	51
2.3.	Personnel technique	51
2.4.	Personnel cadre.....	51
3.	Locaux et équipements du CNRR.....	51
3.1.	Locaux.....	51
3.2.	Matériel et équipement actuels de la structure	53
4.	Collection de matériel biologique du CNRR.....	53
5.	Démarche Qualité au sein du CNRR.....	54
6.	Procédure d'alerte du CNRR	56

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....57

1.	Liste des techniques de référence	57
1.1.	Techniques de diagnostic post-mortem de rage (animale et humaine)	57
1.2.	Techniques de diagnostic intra-vitam de la rage humaine.....	57
1.3.	Typage des isolats.....	57
1.4.	Sérologie.....	58
2.	Liste des techniques recommandées par le CCNR	59
3.	Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles	59
3.1.	<i>Banque de données N°1 : Animaux suspects de contamination humaine</i>	59
3.2.	<i>Banque de données N°2 : Suspensions de rage humaine et suivi sérologique.....</i>	60
3.3.	<i>Banque de données N°3 : Consultations et traitements antirabiques.....</i>	60

3.4. Aspects réglementaires et légaux	61
Annexe 3 : Tableaux complémentaires décrivant l'activité de diagnostic de la rage animale.....	63
Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2017.....	63
Tableau AIII: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2017.....	64

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau I:	Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2017	Page 14
Tableau II:	Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2017	Page 14
Tableau III:	Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2017 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental	Page 15
Tableau IV:	Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2017 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques	Page 18
Tableau V:	Cas humains de rage recensés en France depuis 1970	Page 26/27
Tableau AI:	Effectif par catégorie de fonctions	Page 51
Tableau AII:	Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2017	Page 63
Tableau AIII:	Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2017	Page 64/65

Liste des figures

Figure 1:	Organigramme général du CNRR	Page 11
Figure 2:	Nombre de diagnostics animaux réalisés par an au CNRR depuis 2002	Page 13
Figure 3:	Description des circuits de surveillance de la rage en France	Page 22
Figure 4:	Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France	Page 22
Figure 5:	Distribution des CAR/AAR sur le territoire français en 2017	Page 23
Figure 6:	Evolution du nombre de traitements antirabiques chez les patients exposés à l'étranger (2005-2016)	Page 28
Figure 7:	Evolution du nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients exposés à l'étranger (2005-2016)	Page 29
Figure A1:	Organigramme général du CNRR	Page 51
Figure A2:	Plans des locaux de l'unité DyLAH (utilisés par le CNRR)	Page 52

Abréviations :

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

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

Missions de surveillance épidémiologique et d'alerte

Le CNRR est en charge des **analyses de laboratoire** concernant toutes les **suspensions de rage humaine** ainsi que toutes les **suspensions de rage animale susceptibles d'avoir contaminé l'homme**. Le CNRR collabore avec le Laboratoire National de la Rage (Anses-Nancy) en ce qui concerne la surveillance de la rage animale. En 2017, 1274 suspensions chez l'animal et 16 suspensions chez l'homme ont été investiguées par le CNRR. **Aucun cas animal** n'a été mis en évidence. Cependant **deux cas humains** ont été confirmés : un cas rétrospectif chez un patient de nationalité tchèque inclus dans une étude de recherche clinique visant à étudier les étiologies chez les patients décédés dans un tableau d'encéphalite inconnue, exposé au Bangladesh et décédé en France en 2016, et un autre cas chez un patient français exposé au Sri Lanka et décédé en France en 2017.

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

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

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

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

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

- Le CNRR a organisé la **9^{ème} journée des Centres Antirabiques** le 6 décembre 2017 à l'Institut Pasteur, Paris. Cette journée a regroupé 66 participants représentant 47% des 70 CAR et antennes antirabiques en France.

- Les données concernant **l'analyse épidémiologique de la prophylaxie de la rage humaine en France** sont disponibles pour l'année 2016 et ont fait l'objet d'une analyse dans le dernier Bulletin Epidémiologie et Prophylaxie de la rage humaine en France paru en 2017 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). Le nombre de patients exposés et celui des traités (51,1% du total) est en très faible baisse par rapport aux années précédentes mais reste beaucoup trop important par rapport à la situation épidémiologique favorable.

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

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

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

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

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

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

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

Epidemiological surveillance and alert

The CNRR is in charge of the laboratory analysis of all suspicions of human rabies as well as any suspicions of animal rabies that may have contaminated humans. The CNRR also collaborates with the National Rabies Laboratory (ANSES-Nancy) for the surveillance of animal rabies. In 2017, 1274 suspicions in animals and 16 suspicions in humans were investigated by the CNRR. No animal case has been identified. However, two human cases have been confirmed: a retrospective case in a patient included in a clinical research study aimed at studying etiologies in patients who died in 2016 of encephalitis of unknown etiology after being exposed to rabies virus in Bangladesh and another case in a patient exposed in Sri Lanka and deceased in 2017.

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

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

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

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

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

- The CNRR organized the 9th day of the Anti-Rabies Centers on December 6, 2017 at the Institut Pasteur, Paris. This day brought together 66 participants representing 47% of the 70 CARs and anti-rabies antennas in France.

- The data concerning the epidemiological analysis of human rabies prophylaxis in France are available for the year 2016 and have been analyzed in the latest Bulletin Epidemiology and Prophylaxis of human rabies in France published in 2017 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). The number of patients exposed and the number of treated patients (51.1% of the total) is very slightly lower than in previous years but remains much too large compared to the favorable epidemiological situation.

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

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

Contribution to international monitoring networks

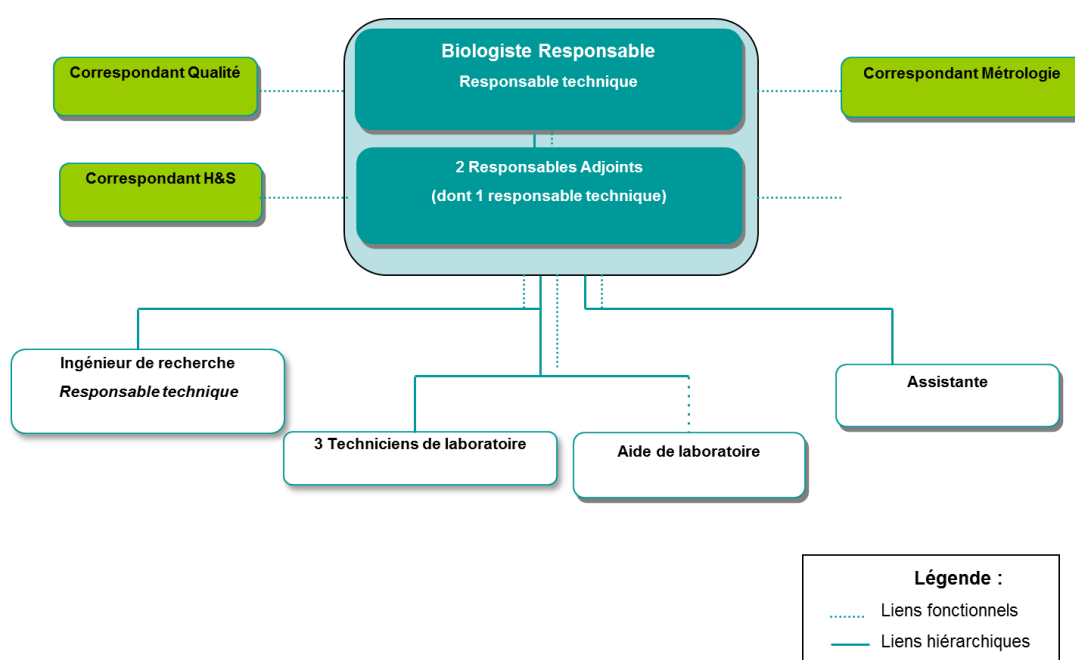
The CNRR contributes, in liaison with the WHOCC Rabies to the monitoring and control of rabies in Europe and more generally in the world:

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

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

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

Figure 1: Organigramme général du CNRR.



2 Activité d'expertise

2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2017

Au cours de l'année 2017, le CNRR, en association avec le CCOMS Rage et en collaboration avec différents partenaires localisés dans les pays où la rage est enzootique, a poursuivi ses travaux

de développement de techniques performantes de PCR en temps réel (RT-qPCR) (Faye et al, J. Virol. Methods 2017). Le dossier de validation de la méthode de RT-qPCR développé par le CNRR (Dacheux et al., PLoS NTD 2016) a été déposé au COFRAC pour être incorporé au dossier d'accréditation ISO 15189, section Santé Humaine, accréditation N° 8-2588. Le dossier a été expertisé favorablement par le COFRAC et l'audit de surveillance S5 est prévu début 2018. Ce test est maintenant utilisé en routine.

Le CNRR a suspendu l'usage de la technique WELYSSA (recherche d'antigène rabique par ELISA) à partir du 05/07/2017 suite à une rupture d'approvisionnement d'un des réactifs. Il s'agit d'une technique non accréditée auprès du COFRAC. L'information a été faite aux différents destinataires des résultats d'analyse.

Les autres techniques utilisées par le CNRR pour la mise en œuvre de ses missions sont restées identiques en 2017 à celles décrites antérieurement (Annexe 2).

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le secteur du diagnostic de la rage représentant un petit marché, peu de nouveaux réactifs et trousse commerciales sont introduits sur le marché français. Aucune activité de ce type n'a été effectuée par le CNRR en 2017.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune activité de ce type en 2017

2.4 Collections de matériel biologique

2.4.1 Distribution de souches

Au cours de l'année 2017, aucune demande de cession de souches ou d'échantillons de matériel biologique issus des collections du CNRR n'a été reçue. Le CNRR a cependant transféré, dans le cadre d'un test inter-laboratoire sur la technique de séroneutralisation RFFIT avec l'Unité du développement de laboratoire et du transfert de technologie de l'Agence de Santé publique de Suède, une aliquote de 5 sérums anonymisés de patients reçus initialement dans le cadre d'une demande de sérologie antirabique par technique RFFIT.

L'unité Dynamique des lyssavirus et adaptation à l'hôte qui héberge le CNRR et le CCOMS dispose d'une très grande collection historique de lyssavirus et contribue au projet européen European Virus Archive goes global EVAg, Topic: H2020-INFRAIA-2014-2015. "*High-containment biosafety facilities and virus collections including high-risk animal/human pathogens*" coordonné par le Prof. Jean-Louis Romette, Université d'Aix-Marseille, Marseille, France (<http://www.european-virus-archive.com>). Ce consortium regroupe 25 laboratoires internationaux dont 16 membres de l'UE et 9 extérieurs. Ces partenaires s'engagent dans la constitution d'une bio-banque d'isolats viraux d'origine humaine et

vétérinaire caractérisés, proposée à la communauté scientifique mondiale. Il s'agit du plus grand projet de ce type au niveau mondial. Cependant pour des raisons épidémiologiques évidentes, les souches mises en collection et proposées pour échange au sein d'EVAg correspondent à des isolats historiques. Aucune souche du CNR n'a été distribuée en 2017.

2.4.1 Distribution de prélèvements et sérums de référence

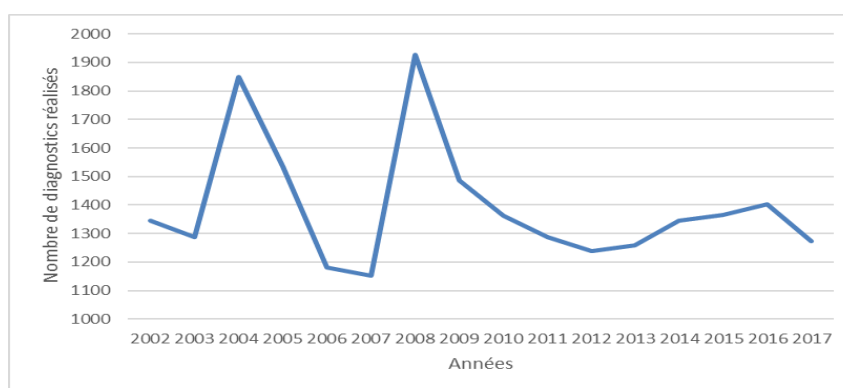
Au cours de l'année 2017, aucune demande d'échantillons ou de matériel biologique issus des collections du CNRR n'a été reçue.

2.5 **Activités d'expertise de l'année 2017 : Diagnostic de la rage en France**

2.5.1 Chez les animaux suspects de contamination humaine

Tous les prélèvements animaux sont adressés par les Directions Départementales de la Protection des Populations (DDPP) ou les Directions Départementales de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations (DDCSPP), par les Laboratoires Vétérinaires Départementaux (LVD) ou par les Ecoles Nationales Vétérinaires. Quelle que soit l'origine géographique des prélèvements, les analyses du CNRR portent exclusivement sur des animaux suspects de rage ayant pu entraîner une contamination humaine par léchage, griffure ou morsure, voire par simple manipulation. Ce sont des animaux sauvages ou domestiques, abattus ou décédés pendant la période de mise sous surveillance vétérinaire. Les prélèvements sont constitués de la tête de l'animal, voire de l'animal entier ou de l'encéphale s'il s'agit respectivement de petits ou de très gros animaux. En 2017, le CNRR a reçu un total de **1274 prélèvements animaux** correspondant à un volume d'activité en légère baisse comparé à celui des deux années précédentes (baisse respective de 7% et 9% versus 2015 et 2016).

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



Parmi les **1274** prélèvements animaux réceptionnés au CNRR en 2017 (Tableau I), **1252** échantillons étaient originaires de France métropolitaine (Tableau AII), **18** prélèvements étaient originaires des départements d'outre-mer (Tableau II) et **26** prélèvements provenaient de

l'étranger et ont été reçus, suivant les départements, par l'intermédiaire d'une DDPP, DDCSPP ou d'un LVD français (Tableau III).

Aucun prélèvement animal positif n'a été reçu en 2017.

Tableau I: Résultats des prélèvements en provenance de France métropolitaine reçus en 2017

	RESULTATS				TOTAL
	NEGATIFS	POSITIFS	IMPOSSIBLES	Demande de prélèvement annulée	
Animaux domestiques	1247	0	1*	0	1247
Animaux sauvages	27	0	0	0	27
TOTAL	1274	0	1	0	1 274

* Impossibles: absence de matière cérébrale pour 1 animal (1 chien).

Tableau II: Résultats des prélèvements en provenance de la France d'outre-mer reçus en 2017

FRANCE D'OUTRE-MER		RESULTATS		
		NEGATIFS	POSITIFS	TOTAL
GUADELOUPE	Singe	1	0	1
	Chien	4	0	4
MARTINIQUE	Chat	1	0	1
	Chien	2	0	2
GUYANE	Caprin	1	0	1
	Chat	1	0	1
	Chien	6	0	6
	Fourmilier géant	1	0	1
	Paresseux	1	0	1
TOTAL		18	0	18

Tableau III: Résultats des prélèvements en provenance de l'étranger et reçus en 2017 par l'intermédiaire d'une Direction Départementale de Protection des Populations ou d'un Laboratoire Vétérinaire Départemental

PAYS	Type d'animal	RESULTATS		
		Organisme intermédiaire	NEGATIFS	POSITIFS
Algérie	Chat*	DDPP Val de marne (94)	1	
Espagne	Chien*	DDPP Eure-et-Loire (28)	1	
	Chien	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
Géorgie	Chien*	DDPP Haut-Rhin (68)	1	
Italie	Chien	DDPP Rhône (69)	1	
Maroc	Chien*	DDPP Paris (75)	1	
	Chat*	DDPP Yvelines (78)	2	
	Chat	DDPP Aveyron (12)	1	
	Chat*	DDPP Finistère (29)	1	
Moldavie	Chat*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
Pologne	Furet	DDPP Val de Marne (94)	1	
Portugal	Chat	DDPP Seine-et-Marne (77)	1	
	Chien*	DDPP Seine-et-Marne (77)	1	
	Chien*	DDPP Marne (51)	1	
République dominicaine	Chien*	DAAF Guadeloupe (971)	2	
Roumanie	Chien	DDPP Var (83)	1	
Russie	Chien*	DDPP Haut-de-Seine (92)	2	
	Chien*	DDPP Val d'Oise (95)	1	
Suisse	Chien	DDPP Bouches-du-Rhône (13)	1	
Tunisie	Chat*	DDPP Haute-Loire (43)	1	
	Chat*	DDPP Seine Saine Denis (93)	1	
Ukraine	Chat*	DDPP Ain (01)	1	
Pays de l'Est (origine inconnue)	Chien*	DDPP Pyrénées Orientales (66)	1	
total			26	0

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

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

Le CNRR peut également être amené à effectuer le diagnostic de la rage sur des prélèvements animaux expédiés directement par des laboratoires étrangers (suite à un risque de contamination humaine ou dans le cadre d'un programme de recherche) et par les services de l'Armée Française en opération à l'étranger. Il s'agit pour certains d'entre eux d'animaux à l'origine de contaminations de ressortissants français séjournant dans des pays où les structures de diagnostic sont inexistantes. En 2017, le CNRR n'a reçu aucun prélèvement animal de ce type.

Les techniques actuelles de diagnostic *post-mortem* de la rage au CNRR permettent de porter un diagnostic de certitude dans un délai de 24 à 48 heures suivant la réception du prélèvement. Les résultats sont alors télécopiés et envoyés par courrier aux LVD ou directement aux directeurs des DDPP ou DDCSPP qui se chargent d'en informer les personnes exposées. Le logiciel de saisie des données et d'édition des rapports d'essai permet l'exportation des données épidémiologiques vers des logiciels d'exploitation type EpilInfo 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 2017, le CNRR a maintenu les objectifs définis lors de l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence en termes de délais d'envoi de résultats : **72% des résultats ont été validés et envoyés dans un délai maximum de 2 jours** après réception des échantillons par le CNRR (seuil fixé à 50%) et **97,8% dans un délai maximum de 5 jours** (seuil fixé à 95%).

En cas de diagnostic positif, Santé publique France (SpF) et la Direction Générale de la Santé (DGS) sont immédiatement informés par courriel, et éventuellement par télécopie et par téléphone, suivant la procédure d'alerte mise en place au CNRR. Le typage des virus est habituellement effectué dans un délai maximum de 5 jours après réception du prélèvement, incluant le temps de réalisation du diagnostic. Aucun cas positif animal n'ayant été diagnostiqué en 2017, le délai pour 2017 ne peut donc être fourni. Parallèlement, en vue d'améliorer les conditions générales d'acheminement des prélèvements animaux envoyés au CNRR pour analyse, les délais observés entre la mort de l'animal suspecté de rage et sa réception au CNRR ont été collectés mensuellement pour chaque département et analysés. En moyenne, **un délai d'environ 6 jours** a été observé entre la mort de l'animal et son arrivée au CNRR. Ce délai reste stable comparativement aux années précédentes. **Seul 1 échantillon** (un chien) parmi les 1274 prélèvements animaux reçus au CNRR en 2017 n'a pu être analysé, de par son état à réception au laboratoire (absence de matière cérébrale) (Tableau I). Dans ce cas de figure, la DDPP correspondante est immédiatement contactée afin qu'elle puisse informer rapidement les individus exposés. Une information des conditions réglementaires de transport routier des prélèvements animaux suspects de rage est régulièrement apportée aux expéditeurs (site Internet de l'Institut Pasteur réactualisé, conseils téléphoniques, enquête satisfaction-client réalisée par le CNRR, etc.). Ces actions permettent au CNRR d'obtenir un état des lieux actualisé et de maîtriser les éléments critiques relatifs au parcours des prélèvements biologiques, de leur expédition par les laboratoires demandeurs à l'édition et à la transmission du rapport d'essai par le CNRR. Ces informations

permettent au CNRR d'inciter certains expéditeurs à améliorer leurs conditions de transport, le cas échéant (délai d'envoi, respect des conditions réglementaires de transport routier).

2.5.2 Chez l'homme

Les prélèvements humains sont recueillis et envoyés par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers français, et éventuellement étrangers. Il est demandé aux services hospitaliers d'envoyer divers prélèvements selon la nature de la demande de diagnostic : salives et biopsies de peau (au niveau de la nuque) et éventuellement sérum et liquide cébro-spinal (LCS) pour le diagnostic *intra-vitam* ou biopsie cérébrale et biopsie de peau pour le diagnostic *post-mortem*. Un total de **16 suspicions d'encéphalite rabique** a été soumis au CNRR en 2017, représentant une hausse du volume d'activité comparé à celui des deux années précédentes (hausse respective de 78% et 23% versus 2015 et 2016). A ce titre, **80 échantillons biologiques humains** (33 prélèvements salivaires, 20 sérums, 10 LCS, 12 biopsies de peau, 1 biopsie cérébrale et 4 autres échantillons) ont été reçus, soit une hausse comparée aux deux années précédentes (90% et 54% versus 2015 et 2016). La plupart de ces échantillons a pu être analysée (Tableau IV). Une demande de diagnostic émanant d'un centre hospitalier français a été annulée sur demande du service hospitalier prescripteur.

85% de ces prélèvements présentaient un état conforme à la réception et ont pu être traités. Cependant, seuls 31% des dossiers de demandes de confirmation biologique se sont avérés conformes aux exigences et recommandations du CNRR en termes de nature, nombre et état des prélèvements reçus (au minimum 1 biopsie de peau et 3 salives séquentielles lors du diagnostic *intra-vitam* de la rage, et une biopsie de peau ou une biopsie cérébrale lors du diagnostic *post-mortem*). Ce résultat montre que les efforts d'information du CNRR à destination des services des Centres Hospitaliers confrontés à une suspicion de rage humaine doivent être maintenus (cf. chapitre 5).

Deux de ces suspicions cliniques ont été confirmées biologiquement au CNRR (cf. chapitre 3.2). Le CNRR a identifié rétrospectivement un cas chez un patient suite à son inclusion dans une étude de recherche clinique visant à étudier les étiologies chez les patients décédés dans un tableau d'encéphalite inconnue. Cette personne de nationalité tchèque avait été exposée au Bangladesh et est décédée en 2016. Un autre cas a été confirmé chez un enfant exposé à un chiot au Sri Lanka et hospitalisé en région lyonnaise. Ce patient décédé en 2017 n'avait pas reçu de prophylaxie post exposition suite à son exposition, tout comme le patient décédé en 2016.

Le diagnostic *post-mortem* de rage humaine peut être établi dans un délai de 24 à 48 heures après réception des prélèvements. Cependant, les délais de réponse du diagnostic *intra-vitam* sont variables suivant le type d'analyse entrepris, et sont retrouvés sur la fiche récapitulative reprenant le descriptif technique du diagnostic de la rage humaine. Cette fiche est communiquée directement aux demandeurs ou accessible via le site Internet du CNRR (www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage). Le CNRR s'est fixé un délai moyen d'environ 5 jours pour rendre un résultat de diagnostic

complet (détection d'ARN viraux dans les prélèvements biologiques type salive, LCS et biopsie de peau et détection des anticorps antirabiques par test ELISA dans le LCS ou le sérum). La mise en œuvre de la technique de titrage des anticorps antirabiques par séroneutralisation (test RFFIT) impose un délai légèrement plus important (délai moyen de 15 jours). Les résultats sont communiqués aux responsables des services hospitaliers concernés par téléphone (et éventuellement courriel) dès leur obtention puis par courrier. En cas de diagnostic positif chez un patient hospitalisé en France, SpF et la DGS sont immédiatement informés par courriel, et éventuellement par télécopie et par téléphone suivant la procédure d'alerte mise en place au CNRR.

Pour les 16 demandes reçues de France par le CNRR au cours de l'année 2017, le diagnostic biologique complet a pu être établi dans 92,6 % des cas dans un délai de 5 jours ou moins après la réception des prélèvements.

Tableau IV: Nature des prélèvements reçus au CNRR en 2017 pour établissement d'un diagnostic de rage humaine et résultats biologiques.

CODE PATIENT	HÔPITAL DEMANDEUR	PRELEVEMENT BIOLOGIQUE						RESULTAT BIOLOGIQUE
		Salive	Sérum / Sang	LCR	Biopsie de peau	Biopsie cérébrale	Autre	
H170001	CH Cayenne (973)			1	1			Négatif
H170002	CHU Martinique (972)	3	1	1			1 ^{a,b}	Négatif
H170003	CH Cayenne (973)	3 ^a			1 ^a			Impossible
H170004	CH Quimper (29)	3	1	1	1			Négatif
H170005	Hopital de Bamako, Mali ^b	4 ^d		1				Négatif
H170006	Hopital de Bamako, Mali ^b				1			Négatif
H170007	CHU Pitié-Salpêtrière, Paris (75)	3	1		1			Négatif
H170008	CHR Lille (59)		1	2				Négatif
H170009	CH Cannes (06)	3	3 ^a		1			Négatif
H170010	CH Argenteuil (95)	3	2 (dont 1 ^b)	1	3 (dont 1 ^b)			Négatif
H170011*	CHU Pitié-Salpêtrière, Paris (75)					1	1 ^{f,g}	Positif
H170012	CH Cayenne (973)				1			Négatif
H170013	CH Bron (69)	10	9 (dont 6 ^b)	3	2		2 ^h	Positif
H170014	Labo-Gasconne (LABM)	1						Demande annulée
H170015	CHU Henri Mondor (94)		1					Négatif
H170016	CHU Poitiers (86)		1					Négatif
TOTAL		36	20	10	11	1	4	

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

^b Urine.

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

^d Prélèvements reçus sous forme de papier buvard (type FTA card).

^e Diagnostic retrospectif réalisé chez un patient inclus dans une étude de recherche clinique visant à identifier les étiologies chez les patients décédés dans un contexte d'encéphalite inconnue. Un diagnostic intra-vitam de rage humaine avait été réalisé en 2016 (patient H16-0006) et s'était avéré négatif.

^f Prélèvement reçu sous forme d'extrait total d'ARN.

^g Plexus brachial.

^h Aspirations nasopharyngée et broncho-alvéolaire.

2.5.3 Analyses sérologiques

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

Les anticorps antirabiques ont été dosés dans **60 sérums** humains au cours de l'année 2017. Cette activité est très fluctuante d'une année à l'autre (hausse de 39% par rapport à 2015 et baisse de 13% par rapport à 2016). Onze de ces prélèvements de sérum provenaient de patients pris en charge après une exposition à des chauves-souris.

Les résultats sont communiqués aux responsables des services hospitaliers concernés par courrier. Le CNRR s'est fixé de communiquer 95% des résultats sérologiques obtenus par séroneutralisation dans un délai inférieur ou égal à 15 jours. En 2017, seul 72% des résultats ont été communiqués dans ce délai. Ceci est dû à des changements de personnels et à la mise en œuvre de leur formation. Ce problème est aujourd'hui résolu.

2.6 Activités de séquençage

2.6.1 Accès à une plateforme de séquençage à haut débit

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

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

2.6.2 Accès à une expertise bio-informatique

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

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

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

Le CNRR a fait appel aux techniques de séquençage en 2017 à des fins d'investigation de cas de rage chez l'homme. Le séquençage du génome total des virus des 2 cas humains identifiés en 2017 a

été obtenu par séquençage à haut débit. Cette analyse a permis de compléter l'analyse du gène de la nucléoprotéine obtenue par séquençage Sanger qui est moins précise.

Le CNRR a aussi entrepris le séquençage de nombreux isolats de lyssavirus de chiroptères suite à l'isolement en 2016 et 2017 de nouveaux cas et d'une nouvelle espèce de lyssavirus en France et en Europe. Ces travaux entrepris dans le cadre d'investigation d'épidémie et de surveillance ont permis l'analyse et l'identification des moteurs épidémiologiques de la diffusion des lyssavirus de chauves-souris en France et en Europe. Le CNRR a en particulier étudié la diffusion des espèces *European bat lyssavirus 1* (EBLV-1) et *Bokeloh bat lyssavirus* (BBLV) par des méthodes de phylogénie spatio-temporelle (Eggerbauer et al., Adv Virus Res 2017 ; Troupin et al., Genome Biol Evol 2017).

Au total, 2 séquences de génome total ont été réalisées en 2017 à des fins d'investigations d'épidémies et 81 séquences à des fins de surveillance. Toutes ces séquences ont été déposées ou sont en cours de dépôt sur la base de données publique GenBank, avec quelques métadonnées associées.

3 Activités de surveillance

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

- **Aucun cas animal** n'a été mis en évidence en 2017 (1274 suspicions analysés).
- **Deux cas humains** ont été confirmés (16 suspicions analysées) : un cas rétrospectif chez un patient de nationalité tchèque inclus dans une étude de recherche clinique visant à étudier les étiologies chez les patients décédés dans un tableau d'encéphalite inconnue, exposé au Bangladesh et décédé en France en 2016, et un autre cas chez un patient français exposé au Sri Lanka et décédé en France en 2017.

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

- Organisation de la 9^{ème} journée des Centres Antirabiques le 6 décembre 2017 à l'Institut Pasteur, Paris. Cette journée a regroupé 66 participants représentant 47% des 70 CAR et antennes antirabiques en France.
- Analyse épidémiologique de la prophylaxie de la rage humaine en France disponible pour l'année 2016 et publiée dans le dernier Bulletin Epidémiologie et Prophylaxie de la rage humaine en France paru en 2017 (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>). Une augmentation croissante des expositions survenues à l'étranger est notée.
- Participation depuis la fin 2016 au sein du HCSP à la réponse à une saisine de la DGS sur le thème de la révision des recommandations en matière de prophylaxie antirabique après exposition en fonction de la situation épidémiologique actuelle.
- Révision des recommandations internationales de l'OMS en matière de prophylaxie antirabique chez l'homme (pré- et surtout post-exposition) en liaison avec le Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé de référence et de Recherche sur la rage (CCOMS Rage) hébergé dans la même unité. Ces recommandations approuvées par le groupe SAGE visent à promouvoir un schéma de prophylaxie post-exposition par voie intradermique (ID) en 3 visites en remplacement des autres protocoles par voie ID.

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

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

3.1.1 Circuit humain

3.1.1.1 *Suspensions de rage humaine*

Le CNRR centralise toutes les analyses concernant les suspicions de rage humaine (Fig. 3 et 4). Ces suspicions lui sont communiquées directement par les services de maladies infectieuses, de neurologie ou de réanimation des Centres Hospitaliers nationaux voire internationaux. Ces suspicions concernent des patients présentant des troubles neurologiques d'étiologies indéterminées, associées ou non à un antécédent de voyage à l'étranger ou à une exposition animale. Le CNRR intervient habituellement pour établir un diagnostic de deuxième voire de troisième intention.

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

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

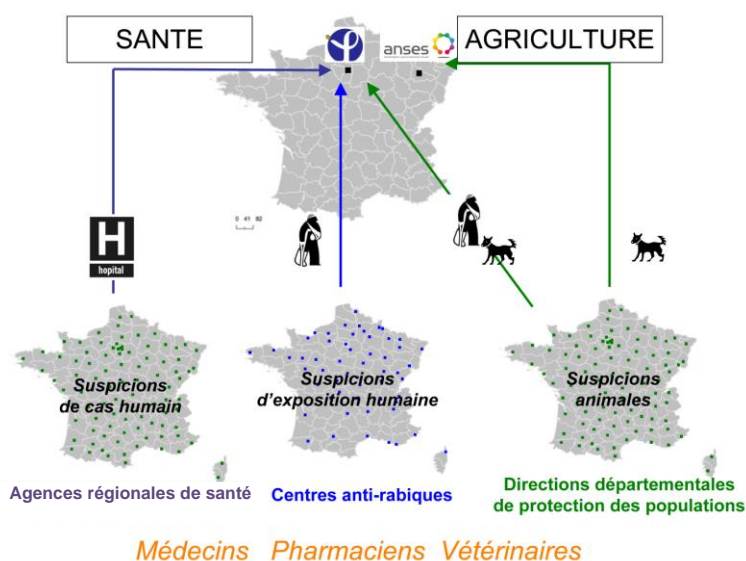
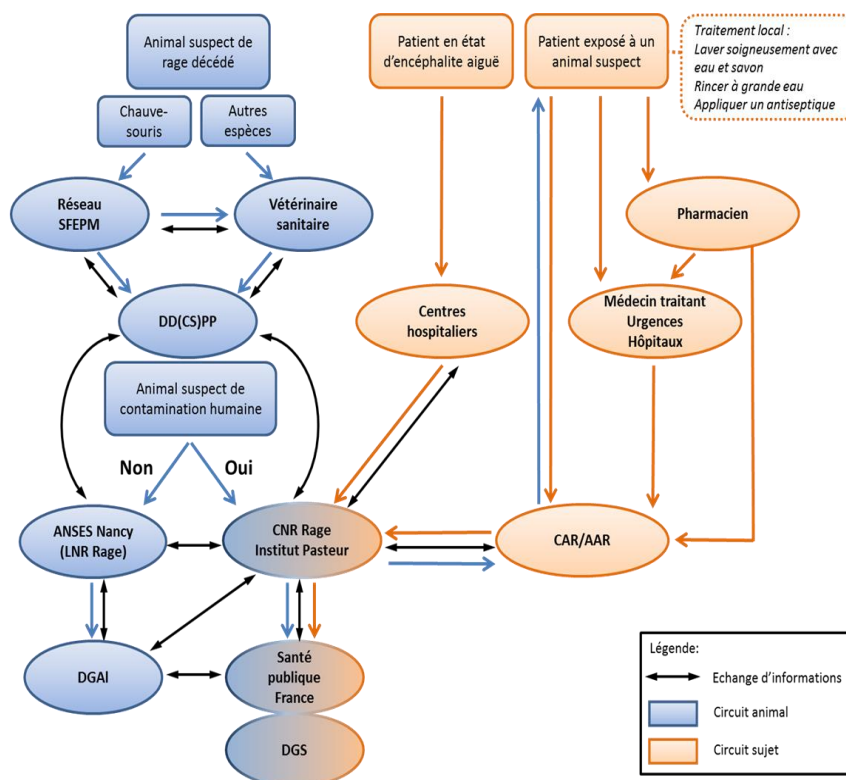


Figure 4 : Circuit de surveillance de la rage chez l'animal et de la prise en charge thérapeutique des expositions en France.



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

3.1.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

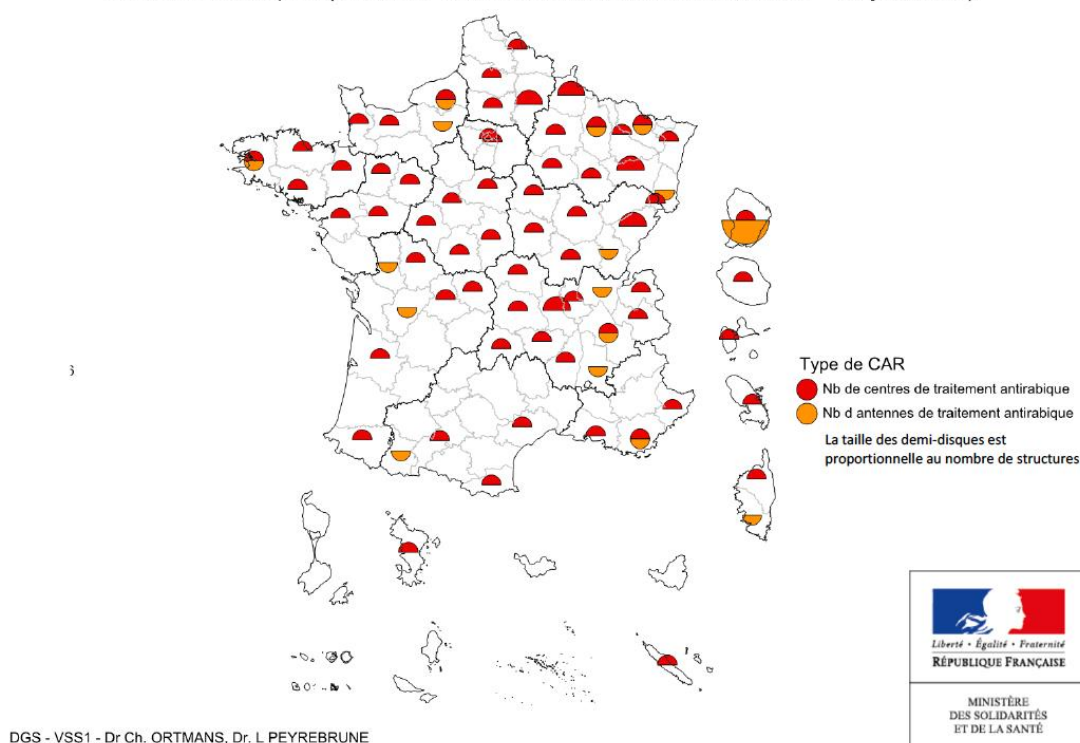
La prophylaxie de la rage humaine est délivrée en France par les CAR et les AAR (Fig. 3 et 4). A l'inverse des CAR, les AAR ne sont pas habilitées à débiter un traitement antirabique mais peuvent

prendre en charge la poursuite des traitements commencés dans les CAR. Actuellement, 70 CAR et 19 antennes sont répartis en France et dans les DOM (circulaire DGS/SD 5 C n° 2003-184 du 8 avril 2003 relative à la mise à jour de la liste des centres de traitement antirabique et des antennes de traitement antirabique ; circulaires DGS/SD 5 C du 14 novembre 2005, DGS/SD 5 C du 28 novembre 2007 et DGS/RI1/2016 du 5 janvier 2016 complétant la circulaire DGS/VS2 n° 99-304 du 26 mai 1999 modifiée relative à la mise à jour de la liste des centres de traitement antirabique et des antennes de traitement antirabique). Les CAR et les antennes sont répartis en majorité dans les services de pathologie infectieuse (42%), dans les services d'urgences des Centres Hospitaliers (22%), dans les services de médecine interne (14%) et les centres de vaccination (10%). La répartition géographique des CAR et des antennes montre une prédominance dans les régions du nord et de l'est de la France où l'épizootie de rage vulpine était présente jusqu'en 1998 (Fig. 5). L'évolution de l'épidémiologie de la rage animale, ainsi que la survenue de rares cas humains contractés en dehors du territoire français, ont mis en évidence le besoin de personnel médical formé sur tout le territoire.

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

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

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



La surveillance de la rage humaine et de sa prophylaxie est effective en France depuis 1982. La collaboration des CAR avec le CNRR permet l'édition annuelle d'un Bulletin sur l'épidémiologie et la

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

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

3.1.2 Circuit animal

Les DDPP ou DDCSPP, les LVD et les Ecoles Nationales Vétérinaires constituent les partenaires de ce réseau (Fig. 3 et 4). Ils adressent au CNRR tous les prélèvements animaux suspects de rage ayant pu entraîner une contamination humaine par léchage, griffure ou morsure, voire par simple manipulation, et ceci quelle que soit l'origine géographique de ces animaux. En 2017, ces prélèvements correspondent à **près de 80% des suspicions animales en France**. De manière complémentaire, l'Anses-Nancy traite spécifiquement des cas animaux non susceptibles d'avoir transmis la rage à l'homme. L'ensemble de ces partenaires permet d'obtenir un maillage très serré sur le terrain, offrant ainsi une surveillance nationale (France métropolitaine et d'Outre-mer) permanente et la plus exhaustive possible de tous les cas animaux suspects, y compris les chauves-souris. **L'activité du CNRR contribue donc pour une très grande part à l'analyse épidémiologique** effectuée par l'Anses-Nancy qui regroupe toutes les analyses pour recherche de rage animale faites en France.

Le CNRR réalise régulièrement des enquêtes "satisfactions-clients" afin d'apprécier la qualité de ses services et de ses prestations auprès de l'ensemble des LDV et des DDPP (ou DDCSPP). La dernière enquête concerne la période 2015-2016, et a été mise en œuvre en octobre 2016. Un taux de réponse de 82% des structures contactées. Parmi ces dernières, **le taux de satisfaction au regard des délais de rendu de résultats était de près de 90%**. En parallèle, les entités interrogées n'ont émis aucune réclamation pendant la période considérée, démontrant **leur satisfaction vis-à-vis des activités du CNRR**. L'enquête satisfaction-client pour l'année 2017 est en cours.

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

3.2.1 Circuit humain

3.2.1.1 *Suspensions de rage humaine*

Comme précédemment décrit, un total de **16 suspicions de rage humaine** a été adressé au CNRR en 2017 et analysé par les techniques moléculaires, sérologiques et/ou de détection d'antigènes rabiques.

Le dernier cas de rage humaine contractée en France métropolitaine remonte à 1924. Cependant, le risque de rage humaine reste présent en France, comme le démontre les deux cas diagnostiqués positifs par le CNRR en 2017 portant à 24 le nombre de cas recensés en France métropolitaine de 1970 à 2017 (Tableau V).

Un premier cas a été identifié dans le cadre d'une étude rétrospective ayant pour but l'identification métagénomique de pathogènes à partir de banques de prélèvements de patients décédés d'encéphalite. Un prélèvement de biopsie cérébrale d'un patient décédé d'encéphalite en 2016 a été analysé dans le contexte de cette étude et s'est révélé positif. Après levée de l'anonymat, il s'est avéré qu'il s'agissait d'un homme de 41 ans d'origine tchèque qui avait été mordu au Bangladesh par un chien 14 mois avant le début des signes cliniques et qui avait été hospitalisé en France en juin 2016 pour un tableau d'encéphalite à l'occasion d'un séjour touristique, et dont le diagnostic *intra-vitam* de la rage s'était révélé négatif à l'époque. Cette négativité est à mettre en lien avec le caractère particulier et exceptionnel de ce cas, au niveau de la durée d'incubation exceptionnellement longue (14 mois, alors que la moyenne se situe entre 20 et 60 jours), de la durée entre le début des symptômes et l'hospitalisation (elle aussi très longue avec 13 jours), et enfin de la durée de survie après la date de début des symptômes également exceptionnelle (de près de 40 jours). Nous avons en parallèle identifié une sensibilité diminuée de la technique de RT-qPCR développée par le CNRR pour cette souche originaire du Bangladesh, expliquant notamment que les prélèvements collectés au stade *intra-vitam* se soient révélés négatifs (présentant une charge virale moindre) contrairement à ceux obtenus au stade *post-mortem* (cerveau notamment, avec une charge virale importante). Suite à l'identification de ce cas, le CNRR a réintroduit de façon systématique et pour toute demande de diagnostic de rage humaine, en combinaison avec la technique RT-qPCR actuelle, l'utilisation d'une technique RT-PCR semi-nichée de large spectre (Dacheux *et al.*, CID 2008) capable de détecter ce type de souche. En parallèle, le CNRR a entrepris une réévaluation/optimisation de cette dernière technique ainsi qu'une évaluation des techniques RT-qPCR de large spectre actuellement publiées (afin *in fine* de sélectionner la plus appropriée qui sera utilisée en routine en parallèle de la technique RT-qPCR du CNRR). Enfin, une modification des recommandations concernant les modalités relatives à une demande de diagnostic de la rage humaine a été effectuée par le CNRR (document RR00101-02) et publiée sur son site Internet. Cette modification porte notamment sur la nécessité de réaliser de nouveaux prélèvements en cas de résultats négatifs si la suspicion clinique maintenue 5-7 jours après la réalisation des premiers prélèvements ou en cas de décès du patient sans diagnostic alternatif. Ce

point a aussi été proposée à l'OMS pour faire partie des prochaines recommandations en matière de diagnostic chez l'homme.

Un autre cas a été confirmé en octobre 2017 chez un patient âgé de 10 ans hospitalisé aux Hospices Civils de Lyon. Cet enfant avait voyagé au Sri-Lanka en août 2017 et avait été en contact avec un chiot apparemment en bonne santé sur la plage de l'hôtel dans lequel il résidait avec toute sa famille. L'enfant a été mordillé à la main par le chiot avec effraction cutanée et saignement de faible abondance au niveau d'un doigt. La plaie a été lavée et désinfectée mais aucune prophylaxie post-exposition (PPE) n'a été débutée. Un mois et demi après cette exposition l'enfant a présenté un tableau associant asthénie et odynophagie puis s'est dégradé en quelques jours avec apparition de troubles de conscience (confusion, agitation), d'hydrophobie (refus des boissons et de la douche) et d'hypersalivation. Aux urgences l'enfant a été intubé devant un tableau d'agitation majeure et a présenté une bradycardie puis un arrêt cardiaque avec défaillance bi-ventriculaire objectivée à la récupération d'un rythme cardiaque. Devant ce tableau associant la triade caractéristique ; troubles de la conscience fluctuants, spasmes phobiques (hydrophobie) et signes dysautonomiques (hypersalivation, mydriase, troubles du rythme cardiaque) et l'évolution vers une détérioration rapide de l'état de conscience et une sidération myocardique, le diagnostic de rage a été évoqué. Le CNR a confirmé ce diagnostic sur les prélèvements de salive et biopsie cutanée envoyés. L'enfant est décédé en réanimation 16 jours après avoir présenté les premiers signes cliniques de rage. Sa famille, qui avait été en contact avec le même chiot, a bénéficié d'une PPE. Les autorités sri-lankaises ont été informées de ce cas afin de pouvoir identifier et traiter les autres personnes en contact avec le chiot. Enfin, 179 personnes ont consulté au CAR de Lyon suite à une exposition potentielle avec l'enfant, 162 ont reçu une PPE dont 69 enfants de 15 ans ou moins. Aucun cas secondaire n'a été identifié à ce jour.

Enfin, il convient de rappeler que le seul cas autochtone dans les DOM a été enregistré en Guyane en 2008 chez un patient infecté par un virus rabique d'origine desmodine (virus de rage des chauves-souris hématophages d'Amérique latine).

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

Année	Sexe	Age (an)	Pays	Animal
1970	M	3	Niger	Chat
1973	M	10	Gabon	Chien
1976	M	5	Gabon	Chien
1976	M	18	Algérie	Chien
1976	M	28	Maroc	?
1976	M	10	Algérie	Chien
1977	M	2	Gabon	Chien
1977	M	4	Maroc	Chien
1979	F	57	Egypte	Chien
1979	M	36	Egypte	Grefe de cornée

1980	M	4	Tunisie	Chien
1982	M	40	Sénégal	Chien
1990	M	28	Mexique	Chien
1992	M	3	Algérie	Chien
1994	M	46	Mali	Chien
1996	M	3	Madagascar	Chien
1996	M	60	Algérie	Chien
1996	M	71	Algérie	Chien
1997	F	50	Inde	Chien
2003	M	3	Gabon	Chien
2008	M	42	Guyane	Chien
2014	M	57	Mali	?
2017*	M	41	Bangladesh	Chien
2017	M	10	Sri Lanka	Chien

3.2.1.2 Prophylaxie de la rage humaine

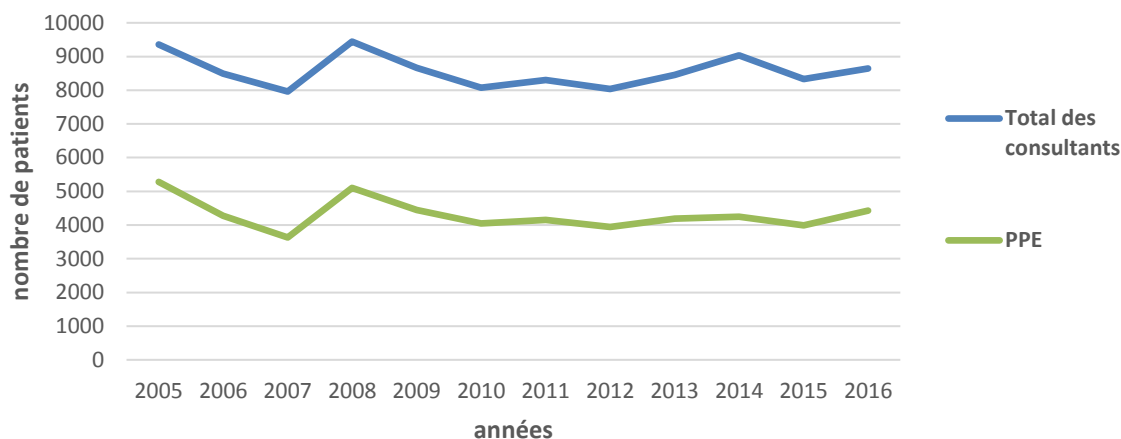
L'analyse globale des données est effectuée annuellement lors de la parution du Bulletin sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la rage humaine en France. L'édition du Bulletin de 2016 a été communiquée le 28 juillet 2017 et est disponible au lien suivant : <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage/rapports-d-activite>. Les données complètes pour l'année 2017 ne seront disponibles qu'au deuxième trimestre 2018. Au total, 58 CAR (sur un total de 70) ont directement transmis leurs données au CNRR pour l'année 2017. Les données de 9 AAR ont été transmises indirectement par l'intermédiaire de leur CAR de référence.

Pour 2016, un total de 8647 patients consultant au moins à une reprise dans un CAR français a été enregistré avec :

- 4423 patients ayant reçu une prophylaxie post-exposition (PPE) (51,1%)
- 3688 patients non traités (42,7%)
- 104 patients « de passage » (1,2%) ce qui correspond à des patients qui, après avoir commencé la PPE dans un CAR, l'ont poursuivie dans un autre centre ou antenne.
- 432 patients pour lesquels la notion de prophylaxie est manquante (5%)

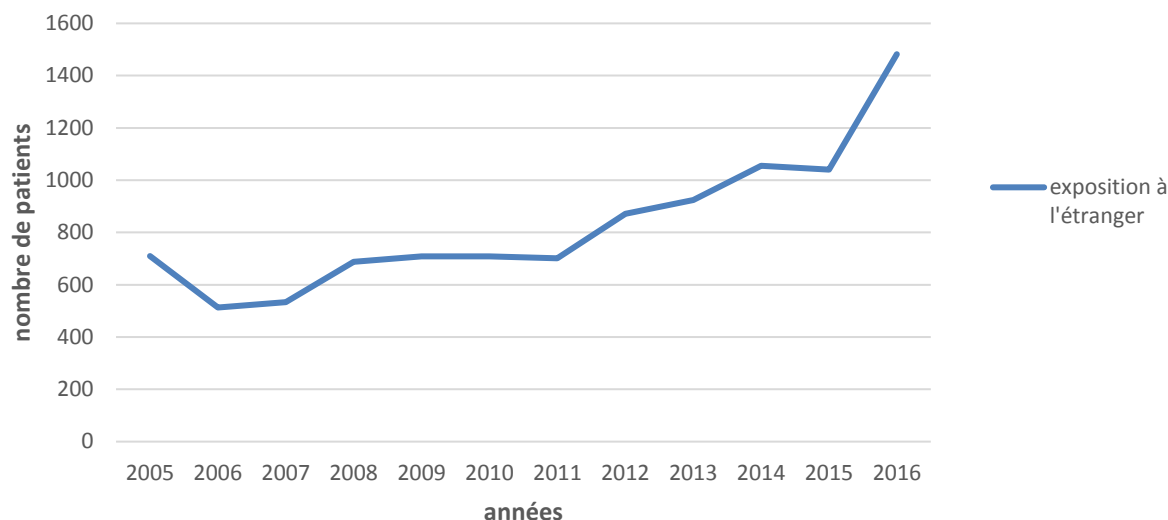
Depuis 2010, le nombre de PPE prescrites en France décroît de façon progressive mais lente, cependant l'analyse des données 2016 montre une légère augmentation du nombre de prophylaxies prescrites en post-exposition sur le territoire français par rapport à 2015 (Fig. 6). Les PPE prescrites suite à une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

Figure 6 : Evolution du nombre de traitements et de consultants en post-exposition de 2005 à 2016.



Cette augmentation n'est pas expliquée par un contexte épidémiologique particulier sur notre territoire puisque aucun cas de rage importé n'a été déclaré en 2016 mais est probablement en rapport avec une augmentation croissante des expositions survenues à l'étranger. En effet, en 2016, la part des PPE liées à des expositions survenues hors du territoire métropolitain continue d'augmenter et représente plus de 33% des toutes les PPE délivrées dans les CAR français (Fig. 7). La part des expositions aux primates non humains (PNH) est elle aussi en constante augmentation depuis 10 ans ; la majorité de ces expositions ayant lieu dans un contexte de voyage à l'étranger. L'augmentation des PPE prescrites suite à une exposition en zone d'endémie reflète une mauvaise connaissance des risques liés à la rage par les voyageurs. Ce risque nous a été malheureusement rappelé ces dernières années avec le décès de rage d'une jeune française au Cambodge en 2015 et celui d'un enfant de 10 ans mordu au Sri-Lanka en 2017. Ces deux patients n'avaient bénéficié ni de vaccination pré-exposition avant leur séjour ni de prophylaxie post-exposition. L'effort de sensibilisation du public au risque rabique à l'étranger et à la vaccination pré-exposition doit être poursuivi dans les centres de vaccinations internationales mais également dans les cabinets des médecins généralistes et les lieux de transit des voyageurs.

Figure 7 : Evolution du nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients exposés à l'étranger (2005-2016).



Révision des recommandations internationales en matière de prophylaxie pré- et post exposition

Le CNR en liaison avec le CCOMS a très significativement contribué à la **révision des recommandations internationales de l'OMS en matière de prophylaxie antirabique chez l'homme (pré- et surtout post-exposition)** approuvée par le groupe SAGE. En particulier un schéma par voie intradermique en 3 visites sera promu dans les recommandations de l'OMS en remplacement des autres protocoles par voie ID.

Conclusion

La diminution progressive des prescriptions de PPE par les CAR français dans un contexte d'exposition sur le territoire français reflètent un changement de perception du risque rabique par les professionnels de santé. Les risques pour la population française sont actuellement représentés par les expositions à l'étranger en zone d'endémie, les contacts avec les chauves-souris sur tous les continents et les expositions aux animaux importés en France de façon illégale depuis un pays endémique pour la rage. Il a été bien montré que le risque d'être infecté par la rage en France par un mammifère non volant est extrêmement faible (voire quasi nul) et sur la base de ces connaissances épidémiologiques actuelles auxquelles le CNRR a très largement contribué (Ribadeau-Dumas et al., EID 2016 ; Ribadeau-Dumas et al., Vaccine 2015 ; Stahl et al., Med Mal Infect 2014), le Haut Comité de Santé Publique a été saisi afin de proposer des recommandations en matière de traitement antirabique après exposition adaptées à la situation épidémiologique actuelle. Un groupe de travail piloté par le Pr Tattevin et le Pr Rapp a été constitué comprenant notamment les Dr Bourhy et Parize du CNRR en tant qu'experts. Ces recommandations nationales, qui seront publiées en 2018 devraient limiter les indications de PPE aux expositions aux mammifères terrestres non volants en zone d'endémie et aux chauves-souris et permettront d'harmoniser les attitudes des différents CAR.

3.2.2 Circuit animal

Au niveau épidémiologique, le dernier cas de rage vulpine en France a été diagnostiqué à l'Institut Pasteur sur un chat en provenance de Moselle en décembre 1998. Cependant, le suivi épidémiologique de la rage animale doit être maintenu. En effet, l'existence du risque d'exposition à la rage en France suite à l'importation illégale d'animaux non protégés originaires de zones d'enzootie, notamment celles situées en Afrique du Nord, persiste. **Cette situation n'a toutefois pas été observée en 2017.** Il est à noter cependant que le CNRR a reçu et traité en 2017 un total de **26 animaux importés dont 16 illégalement** (selon les indications mentionnées sur les commémoratifs associés aux prélèvements). Parmi ces 26 cas d'importation, près d'un quart (n=7) étaient originaires des pays du Maghreb (Tableau III).

La rage des chiroptères est toujours présente en France métropolitaine mais aucun cas n'a été diagnostiqué par le CNRR en 2017. **Cependant**, 4 cas ont été identifiés par l'Anses-Nancy en 2017 au travers du réseau de surveillance passive et en particulier le premier cas infecté par l'espèce *Lleida bat lyssavirus* (LLEBV) en France (le cas précédent avait été isolé en Espagne).

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

3.3 Surveillance de la résistance des lyssavirus à la prophylaxie médicale

Chaque année plus d'une centaine de patients consultent un CAR en France après avoir été exposés à une chauve-souris en métropole. Certains de ces patients pourraient être exposés à des chauves-souris enrégées confirmées en laboratoire, comme c'était le cas pour les deux enfants qui ont été en contact avec la chauve-souris infectée par le BBLV de La Bridoire, en France en 2013. L'isolement et la caractérisation de nouvelles espèces de lyssavirus circulant chez les chauves-souris en France et en Europe posent donc des problèmes potentiels de franchissement de la barrière d'espèce et d'infection de l'homme. Il est donc important d'analyser la capacité de couverture vaccinale apportée par les vaccins antirabiques actuels vis-à-vis de ces nouveaux isolats.

Compte tenu de la parenté du BBLV avec d'autres membres des lyssavirus du phylogroupe I (Eggerbauear et al. Adv Virus Res 2017), il semble probable que les personnes ayant reçu une prophylaxie contre la rage soient protégées. Cette étude menée en collaboration avec l'équipe du CNRR complète des études précédentes d'autres groupes montrant que les vaccins inactivés humains disponibles induisent une réponse anticorps qui neutralise le BBLV et, par conséquent, sont considérés comme conférant une protection contre le BBLV et d'autres lyssavirus de chauve-souris européens (Malerczyk et al., 2014; Nolden et al. 2014).

Afin de vérifier de manière fonctionnelle cette analyse, 37 échantillons de sérum de patients français vaccinés préventivement contre la rage ont été analysés quant à l'activité de neutralisation contre la souche de virus rabique CVS (utilisée comme virus de référence) et l'isolat BBLV diagnostiqué

en 2013 par le CNRR (souche 13001FRA adaptée à la culture cellulaire). Une séroneutralisation du BBLV a été observée, mais avec une diminution de 5,8 fois par rapport au virus rabique CVS (Eggerbauear et al. Adv Virus Res 2017). Aujourd'hui, les recommandations françaises concernant la vaccination préventive systématique de toutes les personnes travaillant avec des chauves-souris et concernant la PPE de toutes les personnes exposées aux chauves-souris restent inchangées (Haut Conseil de la santé publique, 2013, Lafeuille et al., 2005), mais une nouvelle analyse de ces recommandations à la lumière de ces nouvelles connaissances devrait être envisagée. Ceci d'autant plus qu'en 2017, la présence de la nouvelle espèce *Lleida bat lyssavirus* (LLEBV), appartenant à un phylogroupe habituellement non couvert par la vaccination antirabique actuelle, a été observée en France métropolitaine.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux et internationaux

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

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

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

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

- **Contribution à la révision des ouvrages de référence OMS en matière de rage** : Rapport de la consultation des experts sur la rage (WHO Technical Report Series) et manuel technique (WHO manual).
- **Contribution à la révision de la définition de cas de rage dans le code terrestre de l'OIE (Terrestrial code)**

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

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

La confirmation du diagnostic de la rage repose sur un diagnostic en laboratoire, dans lequel des techniques moléculaires telles que la détection de l'ARN viral par réaction de polymérisation en chaîne par transcription inverse (RT-PCR) sont de plus en plus utilisées. Dans cette étude menée en collaboration avec l'Institut Pasteur de Dakar, deux tests RT-PCR quantitatifs en temps réel ont été développés pour la détection à large spectre du virus de la rage (espèce *Rabies lyssavirus* ou RABV), en mettant l'accent sur les isolats africains. Les ensembles d'amorce et de sonde étaient des régions hautement conservées ciblées des gènes de la nucléoprotéine (N) et de la polymérase (L). Les résultats ont indiqué l'absence d'amplification non spécifique et de réaction croisée avec une gamme d'autres virus appartenant à la même famille taxinomique ainsi que des tissus cérébraux négatifs provenant de diverses espèces hôtes. La sensibilité analytique variait entre 100 et 10 copies d'ARN standard détectées par réaction pour les tests du gène N et du gène L, respectivement. La détection efficace et la sensibilité élevée de ces tests sur des isolats africains démontrent qu'ils peuvent être appliqués avec succès dans le processus de diagnostic et la surveillance épizootique de la rage en Afrique en utilisant une stratégie de double contrôle. Cette étude devrait contribuer à l'amélioration de la surveillance de la rage en Afrique de l'Ouest.

(Dual Combined Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Lyssavirus Infection Development and validation of sensitive real-time RT-PCR assay for broad detection of rabies virus. Faye M, Dacheux L, Weidmann M, Diop SA, Loucoubar C, Bourhy H, Sall AA, Faye O. J Virol Methods. 2017 May;243:120-130)

Etude de la protection des personnes vaccinées contre la rage et exposées au lyssavirus BBLV

Afin de vérifier la protection des populations vis-à-vis du lyssavirus BBLV, le CNRR a comparé l'activité de neutralisation de 37 échantillons de sérum de patients français vaccinés préventivement contre la rage vis-à-vis de la souche de virus rabique d'épreuve CVS et d'un isolat de BBLV (cf. chapitre 3.5). Cette étude a montré une diminution de la réponse en anticorps neutralisant BBLV comparativement à CVS.

(The Recently Discovered Bokeloh Bat Lyssavirus: Insights Into Its Genetic Heterogeneity and Spatial Distribution in Europe and the Population Genetics of Its Primary Host. Eggerbauer E, Troupin C, Passior K, Pfaff F, Höper D, Neubauer-Juric A, Haberl S, Bouchier C, Mettenleiter TC, Bourhy H, Müller T, Dacheux L, Freuling CM. Adv Virus Res. 2017;99:199-232)

Analyse de la dispersion spatio-temporelle des différents virus EBLV-1

La majorité des cas de rage des chauves-souris en Europe sont attribués au lyssavirus de type 1 de la chauve-souris européenne (EBLV-1), circulant principalement chez la sérotine commune (*Eptesicus serotinus*). Deux sous-types ont été définis (EBLV-1a et EBLV-1b), chacun associé à une distribution géographique différente. Le CNRR en lien avec l'unité de recherche a conduit une analyse de 80 séquences nucléotidiques de génome d'EBLV-1 provenant de neuf pays européens sur une période de 45 ans afin d'en déduire les pressions de sélection, les taux de substitution nucléotidique et la dynamique spatio-temporelle de ces deux sous-types en Europe. Les résultats suggèrent que la lignée actuelle d'EBLV-1 est apparue en Europe il y a environ 600 ans et que le virus a évolué à un taux de substitution moyen parmi les plus faibles enregistrés pour des virus à ARN (environ $4,19 \times 10^{-5}$ subs / site / an). Parallèlement, la structure génétique des sérotines françaises étudiée au niveau de gènes nucléaire et mitochondrial montre qu'elles constituent un seul groupe génétique. De plus, les tests de Mantel basés sur les distances inter-individuelles révèlent l'absence de corrélation entre les distances génétiques estimées entre les virus et entre les individus hôtes. En conclusion, ceci indique que la diversité génétique observée dans nos échantillons d'*E. Serotinus* ne tient pas compte de la ségrégation et de la dispersion des EBLV-1a et -1b en Europe et ne peut donc pas l'expliquer. Les facteurs permettant d'expliquer la distribution différente des 2 sous-types d'EBLV-1 restent donc inconnus.

(Host Genetic Variation Does Not Determine Spatio-Temporal Patterns of European Bat 1 Lyssavirus. Troupin C, Picard-Meyer E, Dellicour S, Casademont I, Kergoat L, Lepelletier A, Dacheux L, Baele G, Monchâtre-Leroy E, Cliquet F, Lemey P, Bourhy H. Genome Biol Evol. 2017 Nov 1;9(11):3202-3213)

4 Alerte

En 2017, 1274 suspicions chez l'animal et 16 suspicions chez l'homme ont été investiguées par le CNRR. **Aucun cas animal** n'a été mis en évidence. Cependant **deux cas humains** ont été confirmés : un cas rétrospectif chez un patient inclus dans une étude de recherche clinique visant à étudier les étiologies chez des patients décédés dans un tableau d'encéphalite non documentée, exposé au Bangladesh et décédé en 2016 et un autre cas chez un patient exposé au Sri Lanka et décédé en 2017.

Ce deuxième cas pour lequel les premiers résultats positifs ont été obtenus le 6/10/2017 a fortement mobilisé l'équipe du CNRR à de multiples tâches. D'un point de vue diagnostic : 34 essais entrepris sur un total de 14 échantillons biologiques différents reçus. En parallèle, les cadres du CNRR ont également été largement sollicités lors de la gestion de ce cas de rage, en apportant leur expertise aux autorités de santé tout au long de la gestion du cas. Ils ont ainsi participé aux différentes conférences téléphoniques organisées par la DGS ou SpF/ARS Auvergne-Rhône-Alpes (7 au total) rassemblant l'ensemble des acteurs concernés (incluant également le CAR de Lyon et les services hospitaliers concernés), et au cours desquelles ils ont pu 1/ présenter et interpréter les résultats biologiques disponibles en fonction du traitement des échantillons réceptionnés, 2/ contribuer à la mise en place des critères d'identification des cas contacts (au travers de la mise à disposition de

questionnaires d'évaluation ou d'expertise sur des situations complexes, tels les rassemblements sportifs ou scolaires auxquels l'enfant a pu participer), et 3/ prendre part à la rédaction du communiqué de presse à destination du public. Les échanges entre le CNRR et les autorités sanitaires ou acteurs locaux se sont également poursuivis au travers de nombreux courriels et autres communications téléphoniques, notamment avec le CAR de Lyon et l'ARS Auvergne-Rhône-Alpes. Egalement et suite à la confirmation biologique de ce cas de rage humaine, le CNRR a alerté l'ensemble des CAR via un message d'information adressé par courriel ; d'une part, afin de leur préciser la période à risque pour les personnes ayant été en contact avec ce patient et qu'ils pourraient être amenés à recevoir en consultation ; d'autre part afin qu'ils puissent anticiper un éventuel accroissement du nombre de leurs consultants en répercussion des retombées médiatiques de ce cas de rage humaine (notamment pour les individus exposés à l'étranger lors des vacances estivales mais n'ayant pas été sensibilisés à ce risque). Enfin, le CNRR, au travers de son site Internet, a relayé le communiqué de presse émis par les autorités de santé et a contribué à la re-sensibilisation du public sur le risque de rage au travers de la réactualisation des informations dédiées à cette maladie sur le portail Internet de l'Institut Pasteur.

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

5.1 Conseil et expertise auprès des professionnels de santé

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

Des articles sont régulièrement publiés dans la presse médicale et épidémiologique internationale. Ils visent à informer les professionnels de santé au travers de revues spécialisées au diagnostic et à la prophylaxie de la rage dans un contexte épidémiologique changeant, comme avec l'article suivant publié dans l'Encyclopédie Médico-Chirurgicale (EMC) : Dacheux L, Parize P, Bourhy H. Virus de la rage. EMC - Biologie Médicale, 2017:1-14. [Article 90-55-0165-A].

Enfin, le cas de rage chez un ressortissant français en 2017 a mobilisé les capacités de d'information des professionnels de santé par le CNRR (cf. chapitre 4).

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

Les personnes autorisées des CAR et des organismes de tutelle (SpF, DGS) peuvent se connecter sur le site <https://epidemiopasteur.fr/rage/vaccilab/> grâce au logiciel Voozano et au moyen d'un identifiant et d'un mot de passe individuel donné par la société Epiconcept. Grâce à ce logiciel

sécurisé et selon le niveau d'accès attribué par le CNRR et le directeur du CAR, ces personnes sont autorisées à rentrer directement leurs données sur l'application Voozoo dédiée les consulter et effectuer des analyses simples. Ils peuvent aussi accéder aux données générales du CNRR de l'année en cours ou précédente. En 2016, il a été utilisé par 82,9% des CAR et AAR pour saisir leurs données. Les données 2017 ne sont pas encore entièrement disponibles.

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

Organisation de la Journée des Centres antirabiques

Le CNRR a organisé la 9^{ème} journée des Centres Antirabiques le 6 décembre 2017 à l'Institut Pasteur, Paris. Ces journées constituent un élément très important d'information des personnels de santé coordinateurs ou participants à l'activité d'un centre antirabique. Cette journée de formation et d'information a regroupé 66 participants représentant 47% des 70 CAR et antennes antirabiques en France. Les thèmes abordés ont permis entre autres de discuter de l'évolution de l'épidémiologie de la rage en France et dans le monde, des nouvelles recommandations nationales et internationales en matière de prise en charge des personnes exposées et de l'évolution du cahier des charges des CAR.

Cours, formations, évaluations

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

- Master 2 « gestion transdisciplinaire de la sécurité sanitaire et nutritionnelle mondiale ». Université de Nantes, ONIRIS, France, 31 octobre 2017. « Défis et opportunités pour lutter contre la rage à l'interface humaine et animale » (H. Bourhy).

- Master 2, « Circulation des agents pathogènes et maladies infectieuses et parasitaires animales », Université de Versailles-Saint-Quentin, France, 5 octobre 2017. « Le virus de la rage et les lyssavirus apparentés : mécanismes de diffusion et persistance dans un écosystème » (H. Bourhy).

- Master 2, Microbiologie « mécanismes cellulaires et moléculaires des interactions hôtes micro-organismes », Université de Versailles-Saint-Quentin, France, 30 octobre 2017. « Physiopathologie de la rage » (H. Bourhy).

- Master 2, Virologie médicale et moléculaire, Université Paris-Diderot, France, 27 septembre 2017 « Rhabdovirus » (H. Bourhy).

- Institut de Formation de Techniciens de Laboratoire Médical (IFTLM), module Virologie, Assistance Publique- Hôpitaux de Paris, France, 13 mars 2017 « La rage » (L. Dacheux)

- Méthodologie principale de l'épidémiologie, Université de Montpellier-CIRAD, Montpellier, France, 20 novembre 2017 « Le réseau d'épidémiologie de la rage » (H. Bourhy).

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

Une journée de formation au CNRR est obligatoire pour tous les médecins responsables des CAR (circulaire ministérielle DGS/AP/2 N°1239, Note du 15 janvier 1987). Les personnes reçues au CNRR dans ce cadre en 2017 sont les suivantes:

- Dr Aurore DUTERTRE, CAR de Saint Quentin, le 10 mai 2017
- Dr Jean-Philippe TALARMIN, CAR de Quimper, le 5 juillet 2017
- Dr Fabien DUTASTA, CAR de Toulon, le 5 décembre 2017

Informations présentes sur le site internet

Le site internet du CNRR est disponible à l'adresse <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/cnr/les-cnr/rage>. Les informations disponibles sur ce site comprennent le rappel des missions et des activités du CNR, les informations nécessaires à l'envoi des échantillons et les rapports d'activité et bulletins (rapport d'activité 2016 mis en ligne en août 2017). Ce site est actualisé environ 2 fois par an (dernière actualisation le 25 janvier 2018).

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

5.2.1 Actions au niveau national

Le CNRR est régulièrement consulté par la DGS, SPF, la DGAI, et l'Anses. Les ONG et les Ambassades de France font aussi appel au CNRR pour obtenir des renseignements concernant le traitement après exposition et la fourniture de vaccins et de sérums antirabiques. Le site Internet du CNRR, présent sur le portail Internet de l'Institut Pasteur, permet d'obtenir des informations pratiques mises à jour régulièrement, telle la liste des CAR en France et leur adresse (<http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-reference/les-cnr/rage>).

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

5.2.2 Actions au niveau international

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

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

A la demande de certains centres hospitaliers situés dans des pays européens, ou extra européens notamment ceux ne bénéficiant pas de centre national de référence de la rage et/ou sur la recommandation de l'ECDC, le CNRR peut également être amené à réaliser un diagnostic *intra-vitam* ou *post-mortem* de rage pour des patients hospitalisés dans leurs services. Deux suspicions en provenance de Bamako, Mali, ont été reçues dans ce cadre en 2017.

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

- **Au niveau européen:** contribution à la surveillance de la rage en Europe, échange de données et collaborations avec les autres institutions nationales et européennes en charge de la rage.
- **Aide aux pays en développement, en particulier en Afrique et en Asie**, pour le contrôle de la rage par des actions de **formations** (cours et conférences sur la rage) et de **lobbying** en collaboration avec des organisations internationales (OMS, OIE, FAO, Alliance mondiale pour la rage, Réseau PARACON, réseau AfroREB, réseau MeeREB, réseau international des Instituts Pasteur, etc.). Ces actions contribuent à la diminution du fardeau de la rage dans ces pays et par voie de conséquence à la réduction du risque d'importation d'animaux enrégés en Europe et plus particulièrement en France.
- **Contribution à la révision des ouvrages de référence OMS en matière de rage :** Rapport de la consultation des experts sur la rage (WHO Technical Report Series) et manuel technique (WHO manual).
- **Contribution à la révision de la définition de cas de rage dans le code terrestre de l'OIE (Terrestrial code)**
- **Co-organisateur du Workshop "Preparedness, Prediction and Prevention of Emerging Zoonotic Viruses, Challenges and opportunities**, 6-7 avril 2017, Gouvieux, France (H. Bourhy)

Enseignements internationaux

Un atelier sur la rage a été délivré par télé-enseignement et sur le terrain à Amol, Iran. Il a été organisé conjointement avec l'OMS, l'Université de Lausanne, la fondation HSET et l'Institut Pasteur d'Iran du 8 au 19 octobre 2017. Ce cours faisait suite à trois autres workshops organisés sur le même modèle à Dakar, Sénégal, en décembre 2013, à Phnom-Penh, Cambodge, en novembre 2015 et à Yaoundé, Cameroun, en octobre 2016. D'une durée totale de 3 mois, il a permis de former 18

professionnels de santé provenant de 8 pays d'Afrique du Nord, du Moyen-Orient et d'Asie Centrale (médecins, vétérinaires, universitaires, etc.) au concept de la lutte intégrée et de la collaboration intersectorielle (<http://predemics.biomedtrain.eu>).

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

Les médias trouvent enfin auprès du CNRR une source d'informations fiables et régulièrement mises à jour. Le CNRR contribue au travers des médias à l'information du public.

- Invitation d'Hervé Bourhy lors de l'émission *Priorité Santé* sur RFI le mercredi 27 septembre 2017, consacrée à la journée mondiale de la rage, et présentée par Caroline Paré en direct de 11h10 à 12h (heure de Paris).
- Interview télévisuelle et radiophonique de Laurent Dacheux en direct sur BFMTV/RMC par Jean-Jacques Bourdin le mercredi 11 octobre 2017 et diverses interviews pour des journaux de presse écrites et radiophoniques (AFP, Mon quotidien, L'Express, RTL, La Croix, Figaro Santé, Europe 1) suite au diagnostic du cas de rage chez l'enfant revenant du Sri-Lanka.

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

6.1 Activités de recherche en cours

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

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

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

Nous avons souhaité étudier, de façon rétrospective, les circonstances de contact entre les chauves-souris et l'homme sur le territoire français afin de mieux connaître les caractéristiques de ces interactions et de tenter de mettre en évidence les caractéristiques de contact à risque de transmission de lyssavirus chez l'homme lors d'une exposition à une chauve-souris en France métropolitaine. Cette étude menée par Isabel Travecedo, étudiante en M2 dans notre unité, pourrait permettre de mieux

définir les messages de prévention à visée du grand public et de limiter le risque de transmission des lyssavirus des chauves-souris vers l'homme.

6.1.2 Mécanismes de la persistance du sous-type 1 des chauves-souris lyssavirus en Europe chez des chauves-souris non-synanthropes: informations tirées d'une étude de modélisation et implication en santé publique

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

La compréhension de la fréquence et de l'importance des mouvements de chauves-souris infectées par les lyssavirus pourrait permettre de prédire la diffusion potentielle de la rage au sein d'un écosystème complexe dans le but ultime de prévenir l'homme d'une exposition éventuelle. Dans ce contexte, le CNRR a contribué en collaboration avec Davide Colombi et Vittoria Colizza (UMR-S 1136 Inserm & UPMC 24, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, Paris) à l'élaboration de modèles épidémiologiques afin de mieux estimer et étudier les mécanismes de persistance des virus EBLV-1 au sein des populations de chauves-souris. Un modèle de métapopulation spatialement explicite basé sur les données a été développé pour identifier les mécanismes de la persistance empiriquement observée du virus EBLV-1, l'espèce de lyssavirus la plus commune trouvée en Europe et en France. Le modèle se base sur les données existantes d'une vaste étude de terrain ciblant 2 espèces de chauves-souris *Myotis myotis* et *Miniopterus schreibersii* en Catalogne.

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

6.1.3 La vaccination des chiens dans une ville africaine interrompt la transmission de la rage et réduit l'exposition humaine

Malgré l'existence de vaccins antirabiques efficaces pour les chiens, la rage humaine transmise par le chien persiste et ré-émerge périodiquement en Afrique. Deux campagnes consécutives de vaccination canine ont eu lieu au Tchad en 2012 et 2013 (couverture de 71% les deux années) dans

la capitale N'Djaména. Dans ce cadre, un modèle déterministe de transmission de la rage du chien à l'homme, ajusté aux données d'incidence hebdomadaire des chiens enragés et des cas humains exposés à N'Djaména, a été développé. Ce travail montre que le taux de reproduction effectif du virus, c'est-à-dire le nombre de nouveaux chiens infectés par un chien enragé, est tombé en dessous de un jusqu'en novembre 2014. L'incidence modélisée de l'exposition humaine à la rage est inférieure à une personne par million de personnes par an. Une estimation phylodynamique de ce même taux de reproduction obtenu à partir de 29 séquences génétiques du gène N du virus de la rage canine a confirmé les résultats du modèle de transmission déterministe, impliquant que la transmission de la rage entre chiens a été interrompue pendant 9 mois. Cependant, de nouveaux cas de rage canine sont apparus plus tôt que la transmission et les modèles phylodynamiques ne le prédisaient. Ceci est très probablement dû au mouvement continu des chiens de l'extérieur vers l'intérieur de la ville. Nos résultats montrent que la transmission de la rage canine à l'homme peut être interrompue dans une ville africaine avec des vaccins antirabiques actuellement disponibles, à condition que la zone de vaccination comprenne de plus grandes régions adjacentes et que les communautés locales soient informées et impliquées

(Vaccination of dogs in an African city interrupts rabies transmission and reduces human exposure. Zinsstag J, Lechenne M, Laager M, Mindekem R, Naissengar S, Oussiguéré A, Bidjeh K, Rives G, Tessier J, Madjaninan S, Ouagal M, Moto DD, Alfaroukh IO, Muthiani Y, Traoré A, Hattendorf J, Lepelletier A, Kergoat L, Bourhy H, Dacheux L, Stadler T, Chitnis N. Sci Transl Med. 2017 Dec 20;9(421)

6.1.4 Utilisation de séquences de gènes viraux pour comparer et expliquer la dynamique spatiale hétérogène des épidémies virales

La rage est une maladie zoonotique importante distribuée dans le monde entier. Une question clé dans l'épidémiologie de la rage est l'identification des facteurs qui influent sur la dispersion du virus. Afin de résoudre cette problématique, de nouvelles méthodes analytiques, basées sur des reconstructions phylogéographiques du mouvement des lignées virales ont été développées pour entreprendre une étude comparative de la dynamique spatiale des épidémies de virus rabique (RABV) dans différents hôtes et habitats. Nous avons compilé différents ensembles de données de virus de la rage obtenues à partir de populations de moufette, raton laveur, chauve-souris et chien domestique afin d'étudier les caractéristiques de diffusion dans l'espace et dans le temps de ces différentes épidémies de RABV (diffusivité) et de détecter et comparer les facteurs environnementaux qui affectent la vitesse de propagation de ces virus dans les paysages spatiaux continus.

Nous nous sommes appuyés sur un cadre statistique récemment élaboré qui utilise des phylogénies référencées spatialement et temporellement. Nous avons estimé plusieurs statistiques spatiales de propagation du virus, qui ont révélé une plus grande diffusivité du virus de la rage chez les chiens domestiques par rapport au virus de la rage chez les autres mammifères. Cette constatation est expliquée par des analyses ultérieures de l'hétérogénéité environnementale, qui ont indiqué que les facteurs relatifs à la géographie humaine jouaient un rôle important dans la dispersion du virus de la rage chez les chiens domestiques. Plus généralement, nos résultats suggèrent que les facteurs humains sont importants pour expliquer la dispersion du virus de la rage dans les différentes espèces hôtes terrestres. Notre étude a montré que les mouvements viraux caractérisés phylogénétiquement

peuvent être utilisés pour élucider les facteurs qui influent sur la dispersion des virus, ouvrant de nouvelles opportunités pour une meilleure compréhension de l'impact des espèces hôtes et des conditions environnementales sur la dynamique spatiale des populations en évolution rapide.

(Using Viral Gene Sequences to Compare and Explain the Heterogeneous Spatial Dynamics of Virus Epidemics. Dellicour S, Rose R, Faria NR, Vieira LFP, Bourhy H, Gilbert M, Lemey P, Pybus OG. Mol Biol Evol. 2017 Oct 1;34(10):2563-2571)

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

Un accès opportun et abordable à la prophylaxie post-exposition (PPE) est un défi pour la population essentiellement rurale des pays en voie de développement et en particulier au Cambodge.

La base de données 2009-2013 au Centre de prévention de la rage à l'Institut Pasteur du Cambodge, Phnom Penh, a été analysée afin d'identifier les districts associés à la non-complétion de la PEP et pour positionner d'autres centres de vaccination de première ligne autre que celui de Phnom Penh. Les régressions logistiques ont identifié des déterminants non géographiques de la non-complétion de la PEP ainsi que les districts qui étaient indépendamment associés à la non-complétion après ajustement pour ces déterminants. Nous avons calculé une fraction attribuable à la population (indice de la rage, IR) pour chaque district et élaboré une carte de la distribution de l'IR. Une analyse cartographique basée sur une méthode statistique développée par Getis et Ord a identifié des groupes de districts à haut IR. Les facteurs associés indépendamment à la non-complétion étaient le lieu de résidence des patients, le sexe masculin, l'âge de 15-49 ans, la visite initiale pendant la récolte du riz, le statut du chien (réformé ou disparu) et un protocole PEP prescrit nécessitant plus de 3 séances PEP (4 ou 5). Quatre groupes de districts à haut IR ont été identifiés en utilisant cette stratégie analytique, qui est applicable à de nombreux services de vaccination ou autres services de santé au Cambodge et dans d'autres pays. Le positionnement des centres PEP de première ligne dans ces districts pourrait considérablement élargir l'accès à une PPE opportune et adéquate.

(Rabies Postexposure Prophylaxis Noncompletion After Dog Bites: Estimating the Unseen to Meet the Needs of the Underserved. Tarantola A, Bianchi S, Cappelle J, Ly S, Chan M, In S, Peng Y, Hing C, Taing CN, Ly S, Bourhy H, Buchy P, Dussart P, Mary JY. Am J Epidemiol. 2018 Feb 1;187(2):306-315)

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

L'unité DyLAH a poursuivi une étude épidémiologique rétrospective de la réponse immunitaire post-vaccinale chez des professionnels exposés aux lyssavirus qui ont bénéficié d'une vaccination préexposition antirabique à l'Institut Pasteur. Cette étude vise à déterminer la proportion de professionnels exposés aux lyssavirus (personnels de laboratoires et professionnels de santé partant avec des ONG en zone d'endémie rabique) qui présente après vaccination antirabique un taux d'anticorps égal ou supérieur à 0,5 UI / ml (seuil considéré comme protecteur) mesuré par méthode ELISA (test utilisé en routine dans les laboratoires de biologie médicale). Les objectifs secondaires de l'étude sont d'évaluer le taux d'anticorps par méthode RFFIT (test sérologique de référence recommandé par l'OMS) en utilisant des échantillons de type fond de tube prélevés pour le test ELISA

et stockés pour une période réglementaire de 1 an, de rechercher des facteurs influençant la réponse vaccinale contre la rage (rappel, immunodépression, traitement par chloroquine concomitant à la vaccination, respect de la chaîne du froid pour la conservation des vaccins, âge...), d'évaluer la décroissance du taux d'anticorps dans la population de l'étude, après primovaccination et après le 1^{er} rappel vaccinal et enfin d'évaluer l'intérêt de la surveillance biennale du taux d'anticorps chez les professionnels les plus exposés.

Tous les sujets âgés de plus de 18 ans vaccinés contre la rage en préexposition dans un cadre professionnel à l'institut Pasteur et qui avaient bénéficié d'au moins un prélèvement pour dosage des anticorps antirabiques entre 2011 et 2016 étaient éligibles pour l'étude (avis favorable CPP Ile de France 2 2011-532 RCEB MS2). Cette étude, débutée en 2011, avait permis d'inclure 187 sujets (77 ONG, 110 personnels). L'étude a été poursuivie en 2016 avec 312 inclusions supplémentaires (268 ONG et 44 personnels) permettant un d'obtenir un total d'inclusions de 499 sujets. Une base de données a été constituée à partir des données recueillies pour chaque sujet et l'analyse statistique est actuellement en cours. L'analyse des résultats s'est poursuivie en 2017.

6.2 Liste des publications et communications

Publications nationales

- Dacheux L, Parize P, Bourhy H. Virus de la rage. EMC - Biologie Médicale, 2017:1-14. [Article 90-55-0165-A].

Publications internationales

- Zinsstag J, Lechenne M, Laager M, Mindekem R, Naïssengar S, Oussiguéré A, Bidjeh K, Rives G, Tessier J, Madjaninan S, Ouagal M, Moto DD, Alfaroukh IO, Muthiani Y, Traoré A, Hattendorf J, Lepelletier A, Kergoat L, Bourhy H, Dacheux L, Stadler T, Chitnis N. Vaccination of dogs in an African city interrupts rabies transmission and reduces human exposure. *Sci Transl Med*. 2017 Dec 20;9(421).
- Troupin C, Picard-Meyer E, Dellicour S, Casademont I, Kergoat L, Lepelletier A, Dacheux L, Baele G, Monchâtre-Leroy E, Cliquet F, Lemey P, Bourhy H. Host Genetic Variation Does Not Determine Spatio-Temporal Patterns of European Bat 1 Lyssavirus. *Genome Biol Evol*. 2017 Nov 1;9(11):3202-3213.
- Eggerbauer E, Troupin C, Passior K, Pfaff F, Höper D, Neubauer-Juric A, Haberl S, Bouchier C, Mettenleiter TC, Bourhy H, Müller T, Dacheux L, Freuling CM. The Recently Discovered Bokeloh Bat Lyssavirus: Insights Into Its Genetic Heterogeneity and Spatial Distribution in Europe and the Population Genetics of Its Primary Host. *Adv Virus Res*. 2017;99:199-232.
- Tarantola A, Bianchi S, Cappelle J, Ly S, Chan M, In S, Peng Y, Hing C, Taing CN, Ly S, Bourhy H, Buchy P, Dussart P, Mary JY. Rabies Postexposure Prophylaxis Noncompletion After Dog Bites: Estimating the Unseen to Meet the Needs of the Underserved. *Am J Epidemiol*. 2018 Feb 1;187(2):306-315.

Dellicour S, Rose R, Faria NR, Vieira LFP, Bourhy H, Gilbert M, Lemey P, Pybus OG. Using Viral Gene Sequences to Compare and Explain the Heterogeneous Spatial Dynamics of Virus Epidemics. *Mol Biol Evol.* 2017 Oct 1;34(10):2563-2571.

Faye M, Dacheux L, Weidmann M, Diop SA, Loucoubar C, Bourhy H, Sall AA, Faye O. Development and validation of sensitive real-time RT-PCR assay for broad detection of rabies virus. *J Virol Methods.* 2017 May;243:120-130.

Communications nationales

- Poster affiché et discuté aux 18e Journées Nationales d'Infectiologie (21-23 juin 2017): Parize P, Pujol P, Goesch J, Basuyau L, Cailhol J, Dacheux L, Bourhy H. Réponse vaccinale antirabique postexposition chez des patients présentant une immunodépression acquise non liée au VIH.
- Journée des Centre antirabiques, 6 décembre 2017, Institut Pasteur, Paris, France :
 - o Epidémiologie de la rage dans le monde (L. Dacheux)
 - o Tendances épidémiologiques en France (P. Parize)
 - o Nouvelles recommandations internationales (H. Bourhy)
 - o PPE chez l'immunodéprimé (P. Parize)

Conférences sur invitation

- Journée de Printemps de la Société de Médecine des Voyages, 17 mars 2017, « Quels risques et quelle prise en charge des morsures de singes? » Parize P.

Conférences internationales sur invitation

- Workshop on Preparedness, Prediction and Prevention of Emerging Zoonotic Viruses, Challenges and Opportunities, PREDEMICS Workshop, 6-7 avril 2017, Gouvieux, France. "Role of animal (Bats, foxes, dogs) movements and population structures for the maintenance of lyssaviruses", H. Bourhy
- Rabies Experts Consultation Meeting, Chulalongkorn University Hospital, Bangkok, Thailand, 26-28 Avril 2017, H. Bourhy
- Pathogenesis of Infectious Diseases, Institut Pasteur of Shanghai, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, China, 15 mai 2017, "Rabies", H. Bourhy
- PARACON Meeting in Pretoria, South Africa, 11-15 septembre 2017, H. Bourhy
- Conference Rabies in West Africa Abidjan, Côte d'Ivoire. 23-26 octobre "Contribution des laboratoires dans la perspective de l'élimination de la rage humaine et du contrôle de la rage canine en Afrique", H. Bourhy
- Conference Rabies in West Africa Abidjan, Côte d'Ivoire. 23-26 octobre "Outils diagnostiques pour la surveillance de la rage canine en Afrique", L. Dacheux

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale

Le CNRR, et l'unité DyLAH en particulier, ont établi différents types d'échanges et de collaborations avec l'Anses-Nancy, qui regroupe les laboratoires de référence de l'Union Européenne

pour la rage et pour la sérologie de la rage, le laboratoire de référence de l'OIE pour la rage, et le CCOMS pour la recherche et le management en matière de lutte contre les zoonoses.

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

Le CNRR et l'Anses-Nancy ont collaboré à l'analyse de la dispersion spatio-temporelle des différents virus EBLV-1 en France et en Europe (cf chapitre 3.5) (*Host Genetic Variation Does Not Determine Spatio-Temporal Patterns of European Bat 1 Lyssavirus*. Troupin C, Picard-Meyer E, Dellicour S, Casademont I, Kergoat L, Lepelletier A, Dacheux L, Baele G, Monchâtre-Leroy E, Cliquet F, Lemey P, Bourhy H. *Genome Biol Evol.* 2017 Nov 1;9(11):3202-3213).

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

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

Formation

Deux membres de l'Anses-Nancy (J. Barrat et F. Cliquet) ont contribué à l'atelier organisé à Amol, Iran, du 8 au 19 octobre 2017 (cf chapitre 5.2.2).

Comparabilité des méthodes analytiques

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

Etudes communes

Le CNRR entretient depuis novembre 2011 de très nombreux liens dans le domaine de la recherche avec l'Anses-Nancy au travers d'un **programme européen (PREDEMICS, <http://predemics.biomedtrain.eu>)** dans lequel les deux structures sont partenaires et travaillent sur les mécanismes évolutifs impliqués dans la capacité de franchissement de la barrière d'espèce (chien, renard, homme) par les lyssavirus. Ces travaux ont nécessité la mise en place de protocoles expérimentaux communs, des échanges de personnel, d'équipement et de matériel biologique, des contacts téléphoniques et rapport d'avancements. 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 2018-2019

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

De par son expérience acquise dans le domaine du diagnostic et de la lutte contre la rage, le CNRR possède une organisation, une structure, une méthodologie et une compétence technique adaptées lui permettant de répondre à chacune des demandes formulées dans le cahier des charges spécifié lors de l'appel à candidature pour le renouvellement des Centres Nationaux de Référence pour la période 2017-2022 (tel que décrit dans l'Annexe 1), tout en assurant la traçabilité et la qualité des réponses données. Ainsi au cours de la période 2018-2019, le CNRR maintiendra son expertise technique dans le domaine du diagnostic de la rage humaine et animale en France. Il poursuivra notamment son engagement dans la démarche d'accréditation selon le référentiel ISO 15189. Il continuera également à jouer son rôle central dans la surveillance de la rage en France et dans le processus d'alerte en cas de diagnostic positif, dont l'efficacité a été démontrée à de nombreuses reprises.

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

Le CNRR maîtrise **l'ensemble des techniques nécessaires au diagnostic de la rage humaine et animale** en France et à la caractérisation des isolats de lyssavirus ainsi identifiés. Les objectifs majeurs dans ce domaine du CNRR au cours de la période 2018-2019 sont le maintien du niveau d'Assurance-Qualité, le perfectionnement des techniques diagnostiques utilisées et le maintien des délais de réponse lors d'une demande de diagnostic rage. En complément du maintien de l'accréditation selon le référentiel ISO 17025 des techniques mises en œuvre pour le diagnostic *post-mortem* de la rage animale (techniques FAT et RTCIT) et selon le référentiel ISO 15189 pour le diagnostic *post-mortem* de la rage humaine (techniques FAT, RTCIT et RT-PCR en temps réel), le CNRR va également poursuivre son engagement dans la démarche d'accréditation selon le référentiel ISO 15189 des autres techniques utilisées dans le diagnostic de la rage humaine. En 2018, le CNRR souhaite soumettre **la technique de séroneutralisation utilisée pour le dosage des anticorps antirabiques** à l'accréditation selon ce référentiel ISO 15189.

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

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

Il existe depuis 2002 une procédure applicable en cas de confirmation de la suspicion de rage humaine, chiroptère ou animal importé qui a déjà démontré son efficacité à de nombreuses reprises. Lors de la survenue de cas de rage posant des problèmes particuliers de prise en charge, le CNRR en collaboration avec les autres instances concernées continuera à appliquer pendant la période 2018-2019 les mesures d'urgence mises en place, telles que:

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

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

8.4 Conseil

8.4.1 Mesures générales

A la demande des organismes officiels (DGS, Comité Technique des Vaccinations, HAS etc.), le CNRR continuera à participer à l'information des professionnels de santé et du public ainsi qu'à la diffusion des protocoles adaptés de prise en charge et des indications de vaccination ou de prophylaxie après exposition en accord avec les recommandations OMS en matière de rage. Le CNRR poursuivra en 2018 et 2019 ses fonctions de conseils dans le cadre des saisines de la HAS.

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

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

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

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

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

De par leur activité, et de façon bénévole, les chiroptérologues ont une implication forte dans la surveillance de cette zoonose. Au cours des années 2018 et 2019, le CNRR continuera à participer à l'information de ces personnes sur les moyens de protection permettant de réduire les risques d'exposition au virus et sur l'intérêt d'être suivies par un CAR. Le CNRR assurera, conformément aux recommandations du Groupe de Travail sur la prévention de la rage des chiroptères chez l'homme et à celles du CSHPF, des contrôles sérologiques des chiroptérologues, à chaque fois que des sérums répondant à cette indication seront reçus.

8.4.4 Coordination entre le CNRR et les CAR

Les responsables du CNRR continueront à assurer des fonctions de conseil auprès des CAR par téléphone, télécopie ou courrier électronique en se mettant à la disposition des médecins responsables pour l'interprétation des résultats biologiques et tous les conseils techniques qui peuvent leur être nécessaires. Cette action de conseil est aussi exercée envers les ressortissants français contaminés à l'étranger, en coopération avec les structures médico-hospitalières locales. Cette coordination permet un ajustement de la thérapeutique au niveau national face à une situation épidémiologique nouvelle. Le CNRR s'attachera plus particulièrement au cours de la période 2018-2019 au travers de communications à convaincre les CAR français de modifier leur pratique et de diminuer le nombre de prophylaxies post-exposition chez les patients en contact sur le territoire métropolitain avec un animal domestique ou sauvage disparu.

8.5 Activités de recherche en lien avec le CNRR

Le CNRR poursuivra en 2018-2019 les thématiques de recherche décrites dans le Chapitre 6.1 (Travaux de recherche).

Annexe 1 : Missions et organisation du CNR

1. Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR

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

1. Expertise

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

2. Conseil

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

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

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

4. Contribution à l'alerte

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

L'activité de surveillance épidémiologique de la rage animale est confiée à l'Institut Pasteur au titre de l'article R22-36 du code rural, du décret 2003-768 du 1^{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.

Pour l'année 2017, une convention a été signée avec la DGS concernant une partie des charges des activités de conseil et d'expertise aux CAR. Elle s'ajoute ainsi à la subvention de Santé publique France.

2. Effectif et Qualification du personnel du CNRR

2.1. Organigramme général

Figure A1 : Organigramme général du CNRR (cf page 5).

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

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

2.2. Effectif par catégorie de fonction

Tableau A1: Effectif par catégorie de fonctions.

Abréviation : ETP = équivalent temps plein

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

2.3. Personnel technique

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

- Deux techniciens supérieurs titulaires d'un BTS
- Un technicien avec un diplôme d'opérateur de laboratoire
- Une assistante

2.4. Personnel cadre

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

3. Locaux et équipements du CNRR

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

3.1. Locaux

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

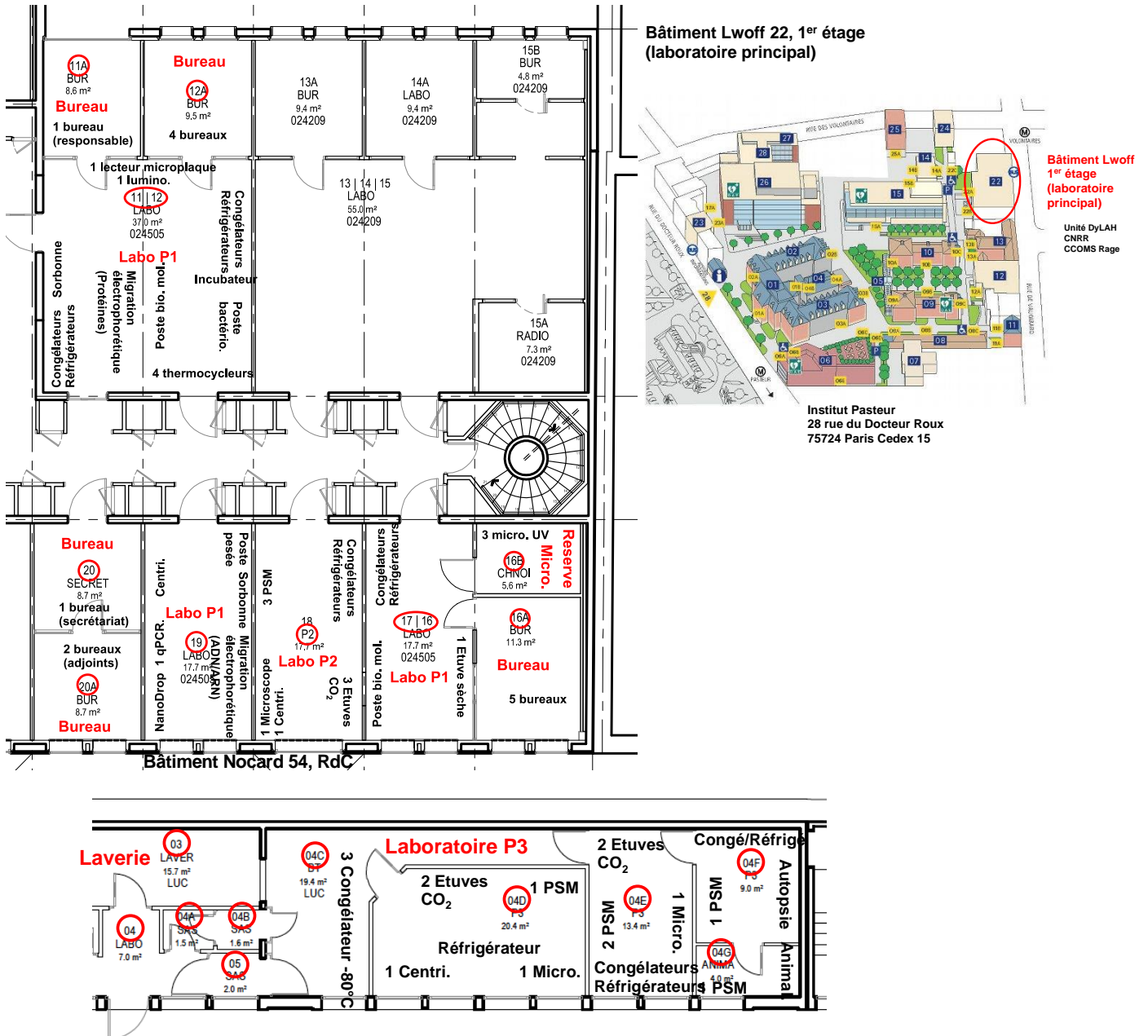
Locaux administratifs:

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

Laboratoires:

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

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



3.2. Matériel et équipement actuels de la structure

Matériel et équipement utilisés en partage avec l'unité DyLAH

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

Moyens extérieurs à la structure / Structures transversales

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

4. Collection de matériel biologique du CNRR

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

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

- à ce que l'utilisation envisagée du matériel biologique réponde à un objectif de santé publique ;

- à la mise en place de documents contractuels spécifiques.

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

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

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

En 2017, 2 souches de virus rabique (correspondant aux 2 cas humains) ont été incorporées à la collection du CNRR.

Total sérums au début du mandat actuel (2017-2021) du CNR, reçus dans le cadre d'une demande de dosage sérologique des anticorps antirabiques chez l'homme (hors cadre du diagnostic de rage humaine) : 1479 (recensés jusqu'à fin 2016)

Total des autres produits biologiques au début du mandat actuel (2017-2021) du CNR, reçus dans le cadre d'une demande de diagnostic de la rage chez l'homme : 1091 (recensés jusqu'à fin 2016)

5. Démarche Qualité au sein du CNRR

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

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

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

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

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

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

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

L'année qualité 2017 du CNR s'est organisée comme suit :

Etapes clés LRE-MS	Périodes de réalisation
Dépôt de la demande d'extension (RT-qPCR)	1 ^{er} avril 2016
Audit de surveillance S4	16 au 20 janvier 2017
Revue qualité	9 février 2017
Revue de direction LREMS et ajustement de la demande d'extension	16 mai 2017
Audits internes qualité et technique	12 septembre 2017 et 23 juin 2017
Finalisation des dossiers de validation de méthode pour les extensions et les ajouts	24 novembre 2017

Perspectives 2018 :

Etapes clés	Prévision de réalisation
Audit de surveillance S5 ET d'extension	23-25 janvier 2018
Revue qualité LRE	janvier-avril 2018
Audits internes qualité et technique	mai -juillet et septembre - novembre 2018
Revue de direction LRE-MS	16 mai 2018
Groupe de Travail MALDI TOF – Validation de méthode	juin ou octobre 2018
Portée d'accréditation complète	octobre 2020

Le CNRR est aussi accrédité par le Cofrac selon **le référentiel ISO 17025 depuis 2006** dans la section Laboratoire (diagnostic animal, accréditation N° 1-1692), pour les techniques de détection d'antigènes rabiques par immunofluorescence directe sur impressions de corne d'Ammon, de bulbe ou de cortex (FAT) et d'isolement du virus par culture cellulaire sur des neuroblastomes murins (RTCIT). Le dernier audit de surveillance a été réalisé en septembre 2016 et a permis de maintenir cette accréditation. En 2017, l'ensemble des diagnostics de rage animale a été réalisé en utilisant ces techniques accréditées (à l'exception des échantillons pour lesquels la demande de diagnostic s'est révélée impossible, de par l'absence de matière cérébrale notamment).

Le CNRR participe régulièrement à des **essais inter-laboratoires internationaux** pour l'ensemble des techniques qu'il met en œuvre. Il a ainsi réalisé en 2017 des essais en sérologie antirabique pour les techniques ELISA et RFFIT avec l'Unité du développement de laboratoire et du transfert de technologie de l'Agence de Santé publique de Suède (échange de 5 échantillons de sérum anonymisés) et également avec le Laboratoire de sérologie rabique de l'Université de l'Etat du Kansas aux USA, (analyse de 7 échantillons de sérum anonymisés). Il a également participé à l'essai inter-laboratoire organisé annuellement par l'Anses-Nancy pour les techniques FAT, RTCIT et RT-PCR (panel de 9 échantillons de cerveaux anonymisés). Les résultats des différentes techniques évaluées se sont **tous révélés conformes**.

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

6. Procédure d'alerte du CNRR

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

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

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

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

1. Liste des techniques de référence

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

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

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

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

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

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

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

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

1.3. Typage des isolats

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

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

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

1.4. Sérologie

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

2. Liste des techniques recommandées par le CCNR

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

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

3. Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Le CNRR dispose de bases de données centralisées contenant :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.4. Aspects réglementaires et légaux

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

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

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

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

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

Tableau All: Nombre de prélèvements par espèce reçus au CNRR en 2017.
(Tous ces animaux proviennent de France métropolitaine)

ESPECE	NOMBRE RECU	POSITIF	ANNULE
ANIMAUX DOMESTIQUES			
CHAT	565		
CHIEN	637		
EQUIN	1		
FURET	7		
ANIMAUX SAUVAGES			
BOVIN	3		
FOUINE	5		
RENARD	14		
INSECTIVORES			
CHAUVE-SOURIS	13		
RONGEURS et LAGOMORPHES			
ECUREUIL	5		
LAPIN	1		
RAT	1		
TOTAL	1 252		

Tableau AIII: Répartition des animaux provenant de France métropolitaine reçus au CNRR en 2017.

DEPARTEMENTS		ANIMAUX DOMESTIQUES			ANIMAUX SAUVAGES		
		NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS
01	AIN	21			1		
02	AISNE	16			1		
03	ALLIER	12					
04	ALPES DE HAUTE PROVENCE	5			2		
05	HAUTES-ALPES	2			2		
06	ALPES-MARITIMES	9					
07	ARDECHE*	6			2		
08	ARDENNES	6					
09	ARIEGE	1					
10	AUBE	6					
11	AUDE	6					
12	AVEYRON	4			2		
13	BOUCHES-DU-RHONE	20			1		
14	CALVADOS	20					
15	CANTAL	0					
16	CHARENTE	5					
17	CHARENTE MARITIME	3					
18	CHER	15					
19	CORREZE	2					
20	CORSE	4					
21	COTES D'OR	14					
22	COTES D'ARMOR	18					
23	CREUSE	2					
24	DORDOGNE	12					
25	DOUBS	3			1		
26	DROME	14					
27	EURE	9			1		
28	EURE & LOIR	6					
29	FINISTERE	35					
30	GARD	21					
31	HAUTE-GARONNE	32					
32	GERS	3					
33	GIRONDE	28			1		
34	HERAULT	29					
35	ILLE & VILAINE	18			1		
36	INDRE	7					
37	INDRE & LOIRE	20					
38	ISERE	19			3		
39	JURA	10			2		
40	LANDES	3					
41	LOIR & CHER*	13					
42	LOIRE	25					
43	HAUTE-LOIRE	6					
44	LOIRE ATLANTIQUE	23			3		

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

DEPARTEMENTS		ANIMAUX DOMESTIQUES			ANIMAUX SAUVAGES		
		NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS	NEGATIFS	IMPOSSIBLES	POSITIFS
45	LOIRET	15					
46	LOT	5					
47	LOT & GARONNE*	8					
48	LOZERE	2					
49	MAINE & LOIRE	14					
50	MANCHE	1					
51	MARNE	7					
52	HAUTE-MARNE	4					
53	MAYENNE	6					
54	MEURTHE-ET-MOSELLE	13					
55	MEUSE	9					
56	MORBIHAN	20					
57	MOSELLE	16			2		
58	NIEVRE	3			2		
59	NORD	27					
60	OISE*	18					
61	ORNE	8					
62	PAS-DE-CALAIS	14			1		
63	PUY-DE-DOME	14			2		
64	PYRENEES ATLANTIQUES	14					
65	HAUTES PYRENNES*	11					
66	PYRENEES ORIENTALES	9					
67	BAS-RHIN	26					
68	HAUT-RHIN	41					
69	RHONE	24			1		
70	HAUTE-SAONE	7					
71	SAONE & LOIRE	18					
72	SARTHE	10					
73	SAVOIE	9					
74	HAUTE-SAVOIE	21					
76	SEINE-MARITIME	17					
79	DEUX-SEVRES	5					
80	SOMME	6					
81	TARN	12					
82	TARN & GARONNE	6					
83	VAR	5			1		
84	VAUCLUSE	16					
85	VENDEE	19					
86	VIENNE*	6					
87	HAUTE-VIENNE	11					
88	VOSGES	15					
89	YONNE	6			1		
90	TERRITOIRE DE BELFORT	3					
	REGION PARISIENNE :						
75	PARIS	11					
77	SEINE & MARNE	22					
78	YVELINES	24					
91	ESSONNES	21					
92	HAUTS DE SEINE	13					
93	SEINE ST-DENIS	23			1		
94	VAL DE MARNE	24			3		
95	VAL D'OISE	22					
TOTAL		1 219	0	0	36		

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