



RAPPORT D'ACTIVITÉ 2018

LABORATOIRE DE LA RAGE ET DE LA FAUNE SAUVAGE DE NANCY

Les trente-neuf personnes qui composent le Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy se répartissent en deux unités de recherche et une station expérimentale. Au travers de collaborations multiples au sein de réseaux nationaux d'épidémiologie et d'études sur le terrain, le Laboratoire contribue à la connaissance nationale de l'état sanitaire de la faune sauvage qui peut être le réservoir de zoonoses ou de maladies transmissibles aux animaux domestiques. Un volet important est dédié à la rage animale à travers le réseau national d'épidémiologie et à un réseau international de collaborations, l'objectif étant de maintenir le statut indemne de la France et de contribuer à l'élimination de la rage en Europe.

La majeure partie des activités de laboratoire est réalisée dans la zone confinée de niveau 3 qui regroupe des zones de laboratoires L3 et d'animaleries A3.

Les domaines de spécialisation du laboratoire sont la rage animale, pour laquelle l'activité du laboratoire est reconnue depuis plus de 40 ans. La surveillance est renforcée sur la rage des chiroptères, ainsi que sur certaines zoonoses de la faune sauvage, l'échinococcose alvéolaire en particulier, mais aussi la maladie de Lyme, l'encéphalite à tiques, les hantaviroses, la tuberculose bovine.

Ses mandats de laboratoire de référence sont nationaux pour l'échinococcose et pour la rage, européens pour la rage et la sérologie rage et internationaux pour la rage (mandat OIE). Il est également centre collaborateur pour la lutte contre les zoonoses (mandat OMS) et Laboratoire officiel de contrôle des médicaments (OMCI).

CONTEXTE

Dans un objectif de prévention ou de lutte, l'unité Surveillance et éco-épidémiologie des animaux sauvages est pleinement dédiée à la surveillance et l'étude du rôle des animaux sauvages dans la circulation des dangers sanitaires, essentiellement d'agents pathogènes zoonotiques ou partagés avec les animaux

domestiques. Au sein de l'unité Lyssavirus, les grandes orientations initiées les années précédentes se sont poursuivies au cours de l'année 2018. L'unité reste très réactive au contexte sanitaire sur la rage. Ses missions prioritaires sont celles liées aux mandats nationaux et internationaux.

TRAVAUX RÉALISÉS ET FAITS MARQUANTS

L'activité du laboratoire est essentiellement tournée vers ses missions de référence et d'expertise. À ce titre, il effectue les titrages des anticorps antirabiques pour les mouvements internationaux des carnivores domestiques et pour des protocoles de recherche, les diagnostics de rage et d'échinococcose. Il réalise les analyses sérologiques des réservoirs et vecteurs de l'encéphalite à tiques, de la fièvre hémorragique à syndrome rénal, de la maladie de Lyme. Il effectue également la recherche du marqueur de la prise d'appâts vaccinaux contre la rage (tétracycline) dans les dents de renards, la surveillance événementielle et programmée de l'infection des chauves-souris aux lyssavirus, ainsi que l'épidémiosurveillance de la rage. Il prépare et évalue des programmes de contrôle en tant qu'expert dans plusieurs pays, organise des essais interlaboratoires d'aptitude sur les techniques de diagnostic de la rage, de la sérologie rage et de détection de tétracycline dans les dents de renards et contrôle l'activité des vaccins antirabiques vétérinaires dans le cadre de la libération officielle de lots ou pour des conventions de recherche. Enfin, le laboratoire développe et standardise de nouvelles méthodes pour le diagnostic et la sérologie rage et pour le diagnostic de l'échinococcose, évalue de nouveaux tests rapides pour la sérologie antirabique et pour le diagnostic de rage.

Les thèmes de recherche réalisés au sein du Laboratoire découlent de ces activités.

En étroite collaboration avec les chiroptérologues, le Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy est impliqué dans le suivi de certaines colonies de chauves-souris infectées par des Lyssavirus afin d'appréhender l'impact du virus sur la survie des animaux, le mode de contamination et déterminer la persistance du virus au sein des colonies.

Des recherches en épidémiologie chez les animaux sauvages sont menées sur des pathogènes comme ceux de l'encéphalite à tique ou de la maladie de Lyme (rongeurs principalement), ou encore sur les interactions domestiques et sauvages.

Enfin le Laboratoire travaille toujours activement sur la tuberculose bovine chez les animaux sauvages en lien avec les partenaires nationaux (Anses, ONCFS, DGAI, FNC), départementaux et internationaux (APHA-UK notamment) : surveillance nationale chez les sangliers, cervidés et blaireaux (Sylvatub), amélioration des outils diagnostiques chez les sangliers, rôle du chevreuil dans la circulation de la tuberculose bovine, modélisation dynamique chez les blaireaux pour tester l'efficacité des mesures de lutte, vaccinologie expérimentale chez les blaireaux.

PRINCIPALES PUBLICATIONS

Cliquet F., Guiot AL, Aubert M., Robardet E., Rupprecht CE, Meslin FX. 2018. Oral vaccination of dogs: a well-studied and undervalued tool for achieving human and dog rabies elimination. *Veterinary Research* 2018 Jul 13;49(1):61. doi: 10.1186/s13567-018-0554-6. Review. Erratum in: *Vet Res*. 2018 Aug 30;49(1):84.

Michelet, L., Cruz, K. De, Hénault, S., Tambosco, J., Richomme, C., Réveillaud, É., Gares, H., Moyon, J. L., Boschioli, M. L. (2018). *Mycobacterium bovis* Infection of red fox, France. *Emerging Infectious Diseases* 24(6).

Rupprecht, CE, Xiang, Z., Servat, A., Franka, R, Kirby, J., Ertl HJ. 2018. Additional Progress in the Development and Application of a Direct, Rapid Immunohistochemical Test for Rabies Diagnosis. *Veterinary Science* 2018 Jun 20;5(2). pii: E59. doi: 10.3390/vetsci5020059.

Umhang, G., Grenouillet, F., Bastid, V., M'Rad, S., Valot, B., Oudni-M'Rad, M., Babba, H., Boué, F. (2018). Investigating the genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* with new microsatellites. *Parasitology Research*, 117(9), 2743–2755.

PERSPECTIVES ET PROJETS ENGAGÉS

Mise en place d'un dispositif national de surveillance d'*Echinococcus multilocularis* en collaboration avec l'Office national de la chasse et de la faune sauvage

E. multilocularis est un parasite de la classe des Cestodes. En Europe, le cycle est essentiellement sylva-tique avec le renard roux comme hôte définitif principal responsable de la contamination environnementale et les micromammifères comme hôtes intermédiaires principaux. *E. multilocularis* est l'agent causal chez l'Homme de l'échinococcose alvéolaire, maladie rare mais mortelle si non traitée.

L'Office national de la chasse et de la faune sauvage en collaboration avec le laboratoire national de référence *Echinococcus spp.* a été mandaté par la Direction générale de l'alimentation et la Direction générale de la santé afin d'organiser une surveillance nationale. En effet, la présence potentielle du parasite est d'autant plus importante à objectiver que les études récentes ont démontrées, d'une part, que l'expansion géographique constatée s'étendait bien au-delà du foyer historique de l'Est et, d'autre part, qu'il ne s'agissait pas d'événements récents. De plus, aucune information n'est actuellement disponible pour la moitié du territoire français alors que, régulièrement, des cas humains localisés dans des zones non explorées sont identifiés par le centre national de référence. Un risque de santé publique se révèle dans ces zones non explorées où aucune sensibilisation des professionnels des secteurs médical et vétérinaire comme du grand public n'est à ce jour réalisée. Si les cas humains sont rares, la gravité de la maladie et les coûts de prise en charge justifient un dispositif de prévention adapté aux différents publics concernés.

En l'absence de possibilité d'obtention de données évènementielles, une surveillance programmée sera mise en place en 2019. Le renard, en tant qu'hôte définitif principal, apparaît comme la cible de choix pour la surveillance, car il est responsable de la très grande majorité de la contamination environnementale en œufs du parasite. La méthode retenue est non invasive et s'appuiera sur la collecte de fèces de renards, suivie par une analyse par biologie moléculaire. L'objectif principal de cette surveillance est de définir les limites de la zone d'enzootie réelle d'*E. multilocularis* en France pour une meilleure sensibilisation de tous les acteurs, professionnels et grand public.

Projet Sri Lanka

La rage canine est responsable de la quasi-totalité des 60000 décès humains chaque année. Au Sri Lanka, en dépit du caractère insulaire du pays et des campagnes de vaccination de masse des chiens, le nombre de cas animaux et humains demeure élevée (en 2015, 24 cas humains et 607 cas animaux). Les autorités s'interrogent sur l'efficacité des vaccins utilisés lors des campagnes de vaccination et également sur les méthodes de vaccination utilisées lors de ces campagnes, l'objectif étant d'optimiser le rapport coût/bénéfice des mesures de contrôle de la rage canine. Le Medical Research Institute du Sri Lanka a recruté un étudiant en thèse afin de déterminer l'immunogénicité et l'activité antigénique des vaccins antirabiques en conditions de laboratoire utilisés dans le pays, de sélectionner plusieurs vaccins à l'issue de cette étude pour les évaluer sur le terrain sur une population de chiens préalablement non vaccinée. La réponse immunitaire de tous les animaux suite à la vaccination sera réalisée à l'aide d'un test ELISA validé par le Laboratoire de l'Anses, à Nancy. Une étude est également prévue afin de mesurer par un test Elispot l'activité des cellules T (réponse cellulaire) des chiens vaccinés.

Le projet débutera en janvier 2019, avec la possible intégration de la personne recrutée en thèse dans l'unité Lyssavirus pour une formation sur le test d'activité des vaccins et le test ELISA. L'unité participera à l'interprétation des résultats et à leur valorisation. Ce projet s'inscrit dans l'approche One Health et répond à l'objectif de l'OMS, de l'OIE et de la FAO d'atteindre zéro cas humains en 2030 médiés par le chien, le volet vaccination tenant une grande place dans cette démarche.

RAGE ET IMMUNITÉ CELLULAIRE

Dans le cadre de la formation continue assurée à l'Anses, une des personnes du laboratoire a été inscrite à l'École pratique des hautes études (EPHE) et un travail de recherche lui a été confié sur l'immunité cellulaire du chien vacciné contre la rage. Le titre du mémoire présenté fin décembre à l'EPHE, qui a débouché sur l'obtention du diplôme, est « Étude de l'immunité cellulaire après vaccination antirabique chez le chien : mise au point d'une nouvelle méthode de qPCR ». L'objectif ultime de ces travaux vise à développer des outils relativement simples pour leur utilisation dans des pays où la rage canine sévit à partir de prélèvements issus du terrain.

Ces travaux s'inscrivent dans la continuité des activités de développement et d'amélioration de l'unité Lyssavirus en matière de sérologie, cet outil étant très utilisé aussi bien chez l'animal sauvage que domestique, et aussi chez l'Homme, comme indicateur de l'efficacité de la vaccination.

Le sujet était complètement novateur pour le laboratoire et outre les espaces et équipements du laboratoire qui ont été repensés et réorganisés, les protocoles et méthodes ont été entièrement conçus lors de ces travaux. Des outils ont été développés, notamment la faisabilité de mise en évidence de l'immunité à médiation cellulaire (expression quantifiée de certaines cytokines, interféron gamma et IL4) de chiens vaccinés. Des expériences ont été réalisées avec un test Elispot qui s'est montré à la fois sensible et spécifique. Ce test est apparu comme prometteur pour une application dans des conditions de terrain. Des qPCR ont été mises en point pour l'interféron gamma et pour l'IL4, ainsi que pour le gène de référence GAPDH. Un protocole expérimental sur animal a également été mis en œuvre sur des chiens en captivité vaccinés par voie orale, en collaboration avec l'Office national de sécurité sanitaire des produits alimentaires (Maroc). Les méthodologies développées devraient être optimisées et éprouvées sur le terrain, à travers des collaborations à tisser avec des laboratoires compétents et équipés de pays où la rage canine est endémique.

ÉTUDE DE LA DISTRIBUTION DU VIRUS DE L'ENCÉPHALITE À TIQUES ET AUTRES FLAVIVIRUS EN ALSACE ET LORRAINE VIA LA SÉROPRÉVALENCE CHEZ LES BOVINS

Le virus de l'encéphalite à tiques (TBE), appartenant au genre Flavivirus, est l'arbovirus le plus fréquent en Europe, circulant chez les micromammifères vectorisés par des tiques du genre Ixodes. Le sous-type circulant en Europe affecte le système nerveux central chez l'homme pouvant conduire à la mort dans 0,5 à 2 % des cas. L'homme peut être infecté de manière accidentelle par pique de tique infectée. En France, les cas humains de TBE ont été principalement recensés dans l'Est de la France et surtout en Alsace, mais sa distribution réelle est mal connue. L'objectif du projet est de cartographier les zones favorables à la présence du virus de la TBE en France. La réalisation d'enquêtes chez les rongeurs et les tiques à une large échelle étant lourde et coûteuse, se pose la question d'utiliser les bovins comme sentinelle de la présence du virus TBE. Notre étude conduite en Alsace et en Lorraine a pour objectif de déterminer si les bovins peuvent être utilisés comme sentinelle de la circulation du virus TBE et de cartographier à une plus fine échelle les zones de présence du virus. Une analyse des facteurs environnementaux et biotiques associées à la présence du virus sera conduite par modélisation statistique et sur la base de ces résultats sera produite une carte de prédiction des zones dont l'environnement est favorable à la présence du virus.

RAGE ET IMMUNITÉ SÉRIQUE

Les travaux réalisés pendant seize années au sein du Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy sur le virus rabique et la réponse immunitaire qu'il induit, ont fait l'objet d'une thèse intitulée « Apport des outils de détection de l'immunité adaptés au contexte épidémiologique pour le contrôle et la surveillance de la rage animale », soutenue en juin 2018.

La rage est une zoonose mortelle, susceptible d'atteindre autant les mammifères sauvages et domestiques que l'Homme. Elle est à l'origine d'environ 70 000 décès humains déclarés par an dans le monde, majoritairement des enfants dans les pays en développement. Le chien est à l'origine de 98 à 99 % de ces décès. La vaccination, associée à des mesures sanitaires, reste le meilleur outil de prévention et de contrôle de la maladie. À l'heure actuelle, seule la sérologie permet de contrôler l'efficacité de la vaccination antirabique, le développement des anticorps neutralisants étant le premier témoin d'une immunité protectrice.

Les travaux réalisés sont intervenus tout le long du processus d'évaluation de la réponse humorale, partant de la détermination de l'efficacité des vaccins jusqu'aux tests réalisés sur le terrain, en passant par l'évaluation de différents outils susceptibles de refléter la réponse protectrice antirabique participant ainsi à l'objectif global : œuvrer en vue de l'élimination de la rage dans le monde. Les travaux portant d'une part sur le développement et l'amélioration des outils sérologiques et d'autre part sur leur application sur le terrain se sont révélés très utiles pour la surveillance de la circulation des animaux domestiques, le suivi de l'efficacité de la vaccination et l'étude de la circulation virale, que ce soit dans les colonies de chiroptères présentes sur le territoire ou au sein de populations de carnivores domestiques et sauvages non vaccinées. Il est cependant nécessaire de les poursuivre pour améliorer les outils disponibles et d'en proposer de plus adaptés, afin d'atteindre l'ensemble des objectifs d'éradication, de la rage canine comme de la rage selvatique.



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy
Technopôle agricole et vétérinaire - Bâtiment H -
Domaine de Pixérécourt - CS 40009
54220 Malzéville
www.anses.fr
[@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)