

RAPPORT D'ACTIVITÉ 2019

Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaitre, évaluer, protéger



Présentation

Comptant trente-neuf personnes, le Laboratoire comprend 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, il 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 de son activité 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 du pays 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 et d'animaleries.

Les domaines de spécialisation du laboratoire sont :

→ la rage animale, pour laquelle l'activité du laboratoire est recon-

nue depuis plus de quarante ans. La surveillance est renforcée sur la rage des chiroptères ;

→ 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 référence sont :

→ laboratoire national de référence (LNR) pour l'échinococcose et pour la rage ;

→ deux laboratoires de référence de l'Union Européenne (LRUE) pour la rage et la sérologie rage ;

→ laboratoire de Référence de l'Organisation internationale pour la santé animale (OIE) pour la rage ;

→ centre Collaborateur de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la lutte contre les zoonoses ;

→ laboratoire Officiel de Contrôle des Médicaments (OMCL).

« Le laboratoire contribue à la connaissance nationale de l'état sanitaire de la faune sauvage qui peut être le réservoir de zoonoses. »

ÉPIDÉMIOLOGIE DE L'ÉCHINOCOCCOSE DANS LE MONDE

→ L'étude de la diversité génétique d'*E. multilocularis*, responsable de l'échinococcose, en Europe de l'Ouest par le microsatellite EmsB a permis de décrire une transmission du parasite basée sur un système île-continent entre les régions périphériques et le foyer historique de l'arc alpin. L'émergence du parasite en Europe de l'Est pose question quant aux influences relatives du foyer historique européen et de l'Asie, principal foyer mondial.

L'analyse de 524 échantillons d'*E. multilocularis* provenant de Slovaquie, d'Estonie, de Hongrie, de Lettonie, de Tchéquie, d'Ukraine, de Serbie et de Croatie a permis d'identifier trente-huit profils exclusivement européens dont trente-cinq déjà connus. Les faibles valeurs de diversité génétique en Europe de l'Est sont similaires à celles des zones périphériques du foyer historique. Les profils obtenus des échantillons de Slovaquie, de Hongrie et de Tchéquie apparaissent regroupés tout comme ceux obtenus pour l'Estonie et la Lettonie, soulignant la forte influence de la proximité géographique dans la transmission.

L'analyse de trente-quatre échantillons de Turquie et de Russie a révélé la présence de trois profils européens et essentiellement asiatiques ainsi que d'Amérique du Nord et de Mongolie pour la Russie.

Hormis une observation précédente mineure de profils asiatiques en Pologne, l'expansion en Europe de l'Est d'*E. multilocularis* initiée il y a plusieurs décennies par la dispersion de proche en proche des renards a pour origine exclusive le foyer historique européen.

Contexte

La modification de l'orientation de l'unité *Surveillance et éco-épidémiologie des animaux sauvages* du Laboratoire décidée en 2016 lors d'une évaluation collective, est désormais effective. L'unité se concentre désormais sur la surveillance et l'étude du rôle des animaux sauvages dans la circulation des dangers sanitaires, essentiellement des agents pathogènes zoonotiques ou partagés avec les animaux domestiques, dans un objectif de prévention et/ou de lutte.

La thématique de l'épidémiologie des maladies à tiques en lien avec le réservoir des micromammifères et des autres espèces de la faune sauvage, déjà présente au sein de l'unité, va quant à elle prendre de l'ampleur.

Pour l'unité des lyssavirus, les grandes orientations déjà initiées les années précédentes, et reconnues lors de deux évaluations collectives des laboratoires se sont maintenues. Les activités prioritaires de l'unité

sont liées à ses mandats de référence associées à des activités de recherche à visée appliquée. L'unité reste très réactive au contexte sanitaire sur la rage. Les activités sont variées et partagées entre épidémiologie, pathogénie, immunologie et virologie classique et biomoléculaire. Les missions prioritaires à assurer en matière de rage sont celles dévolues à la reconnaissance internationale du Laboratoire, c'est-à-dire celles liées aux mandats internationaux.

« La thématique de l'épidémiologie des maladies à tiques en lien avec le réservoir des micromammifères et des autres espèces de la faune va prendre de l'ampleur. »

TUBERCULOSE BOVINE : DÉVELOPPEMENT DE MODÈLES D'INFECTION EXPÉRIMENTALE CHEZ FURETS ET RENARDS

→ En Europe y compris en France, l'infection des blaireaux et d'autres animaux sauvages par *Mycobacterium bovis*, l'agent principal de la tuberculose bovine, limite l'éradication en élevage de cette zoonose à impacts économiques importants.

Pour limiter ce risque, la vaccination orale des blaireaux contre *M. bovis* avec des appâts est un outil prometteur en complément des mesures de lutte actuelles, pour un déploiement plus large que le BCG injectable déjà disponible. Le développement d'un vaccin oral est long et complexe et les études d'efficacité vaccinales requièrent un modèle infectieux expérimental standardisé pour comparer les réponses immunitaires et la protection induites par différents vaccins. Après plusieurs contributions à des projets expérimentaux chez les blaireaux, le Laboratoire, en lien avec le laboratoire national de référence et des collaborateurs internationaux, développe depuis 2018 le modèle expérimental *Furet, mustélidé de laboratoire* présentant une infection expérimentale à *M. bovis* similaire à celle des blaireaux.

Par ailleurs, des études récentes montrent des taux d'infection par *M. bovis* chez les renards semblables à ceux des blaireaux dans certaines zones d'enzootie en France et une possibilité de disséminer la bactérie dans leur fèces. Aussi le laboratoire développe des projets d'infection expérimentale orale par *M. bovis* sur renards afin de mesurer l'excrétion bactérienne et à terme envisager le développement d'un vaccin pour cette espèce sauvage.

Travaux réalisés et faits marquants

L'activité de l'unité Lyssavirus (nom de genre des virus de la rage) est essentiellement tournée vers ses missions de référence et d'expertise. À ce titre, elle effectue :

- les titrages des anticorps antirabiques pour les mouvements internationaux des carnivores domestiques et pour des protocoles de recherche ;
- les diagnostics de rage ;
- 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 ;
- l'épidémiosurveillance de la rage, la préparation et l'évaluation de programmes de contrôle en tant qu'expert dans plusieurs pays ;
- l'organisation d'essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) sur les techniques de diagnostic de la rage, de la sérologie rage et de détection de tétracycline dans les dents de renards ;
- le contrôle d'activité des vaccins antirabiques vétérinaires dans le cadre de la libération officielle de lots et pour des conventions de recherche ;
- le développement et la standardisation de nouvelles méthodes pour le diagnostic et la sérologie de la rage ;
- l'évaluation de nouveaux tests rapides pour la sérologie antirabique et pour le diagnostic de la rage.

Les thèmes de recherche découlent pour partie de ces activités.

PROTECTION CROISÉE D'UN VACCIN ANTIRABIQUE À USAGE VÉTÉRINAIRE

Les vaccins antirabiques à usage vétérinaire ou humain sont principalement élaborés à partir de la souche originale isolée par Pasteur en 1885 ou de souche dérivées. Ces vaccins, et plus particulièrement ceux à usage humain HDCV (*human diploid cell vaccine*) et PVRV (*purified vero rabies vaccine*) offrent une protection partielle à totale (entre 20 % et 100 % selon la voie d'inoculation) contre les lyssavirus de chauve-souris du phylogroupe 1 (*European bat lyssavirus 1* ou EBLV-1b, EBLV-2 et *Bokeloh bat lyssavirus* ou BBLV), mais peu de protection, voire aucune, contre ceux des phylogroupes 2 et 3. Bien qu'ils soient également préparés à partir de souches PV, les vaccins à usage vétérinaire n'ont été jusqu'ici que peu évalués dans des études de protection-neutralisation croisée vis-à-vis des lyssavirus de chiroptères. Avec la découverte régulière de nouveaux lyssavirus de chauves-souris en Europe, les propriétaires d'animaux domestiques et les vétérinaires praticiens s'interrogent sur la capacité des vaccins antirabiques à protéger les chiens/chats contre ces lyssavirus. Afin d'apporter des éléments de réponse à cette question, des souris ont été vaccinées puis infectées expérimentalement avec différents lyssavirus rencontrés en Europe. : EBLV-1b, EBLV-2 et BBLV. Pour chaque lyssavirus, nous avons étudié l'efficacité de deux doses vaccinales contre deux doses virulentes administrées soit par voie périphérique (intramusculaire) soit par voie centrale (intracérébrale). En parallèle un suivi sérologique a été mené afin d'évaluer la séroconversion (taux en anticorps neutralisants) des animaux vaccinés.

Les résultats de l'étude ont montré que les trois lyssavirus étaient hautement pathogènes, même à faible dose, lorsqu'ils étaient administrés par voie centrale, mais moins pathogènes lors d'une injection périphérique. Le vaccin utilisé a permis d'apporter une protection croisée significative (43 à 100 %) contre les souches EBLV-1b et EBLV-2 inoculées par voie périphérique et contre la souche BBLV en voie centrale. De forts taux en anticorps antirabiques neutralisants induits par le vaccin ont pu être mis en évidence sans pour autant noter de différences significatives entre une immunisation à 1 et 5 UI/dose. Cette étude souligne que la qualité des vaccins antirabiques vétérinaires revêt une importance cruciale pour optimiser la protection croisée vis-à-vis des lyssavirus de chauves-souris du phylogroupe 1.

L'unité surveillance et éco-épidémiologie des animaux sauvages (SEEPiAS) mobilise les approches complémentaires que sont l'épidémiosurveillance, la recherche en épidémiologie et le développement de méthodes innovantes de détection pour une meilleure compréhension des mécanismes de transmission et de maintien des pathogènes à l'interface entre la faune sauvage et les animaux domestiques ou l'Homme et pour pouvoir optimiser les moyens de lutte et de prévention contre les maladies qu'ils transmettent.

En lien avec des partenaires nationaux (Anses, Office français de la biodiversité, Direction générale de l'alimentation, Fédération nationale de la chasse, écoles vétérinaires), départementaux et internationaux (Grande-Bretagne, Espagne, Suisse), les travaux scientifiques de l'unité

portent en particulier sur la circulation des échinocoques, de l'agent de la tuberculose bovine, des coronavirus et d'agents pathogènes transmis par les tiques.

Dans les environnements où *Mycobacterium bovis*, l'agent de la tuberculose bovine, circule, l'unité étudie la contribution des populations d'animaux sauvages (blaireaux, renards, ongulés) au risque de retransmission aux bovins (prévalence, facteurs de risque d'infection) et l'apport de méthodes de lutte vaccinale par voie orale.

Concernant les coronavirus, les investigations portent sur la présence dans l'environnement de ces virus chez plusieurs espèces sauvages. Des coronavirus des genres alpha et beta ont été mis en évidence par biologie moléculaire en France chez les chiroptères, les lagomorphes, les rongeurs et le hérisson.

De la même manière, vu l'importance croissante des maladies à tiques en santé publique, des travaux d'estimation du risque pour l'Homme lié à la présence de

tiques ont été développés à plusieurs échelles spatiales. D'une part, la distribution du virus de l'encéphalite à tiques en France a été estimée en s'appuyant sur des enquêtes de séroprévalence chez les bovins. D'autre part, des travaux ont été développés afin d'estimer le risque de piqûre par une tique en fonction des milieux ou du type d'activité réalisés par l'homme dans la nature. Ainsi, les facteurs influençant ce risque ont été évalués lors d'une course d'orientation qui s'est déroulée en Moselle sur six jours début juillet 2019.

Dans le cadre de son mandat national de référence sur *Echinococcus spp.*, l'unité poursuit ses travaux concernant le diagnostic, la surveillance, l'épidémiologie et la prévention d'*E. multilocularis*, agent de l'échinococcose alvéolaire, et d'*E. granulosus sensu lato*, agent de l'échinococcose kystique dans le contexte national mais aussi international.

NOUVEAUX TESTS DE DIAGNOSTIC DE LA RAGE

→ Le chapitre rage du *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres* de l'OIE, au cours de ses révisions successives, s'est vu étoffé en 2018 de nouvelles techniques destinées à un usage de première intention (surveillance événementielle, programme d'éradication de la rage, confirmation de cas clinique, etc.). Ainsi le Laboratoire s'est engagé dans une série d'évaluations inter-laboratoires, regroupant la majorité des laboratoires nationaux de référence des États membres de l'Union européenne, afin d'étudier la performance technique de ces nouveaux tests de diagnostic de rage. Ces évaluations se concentrent autour de tests rapides immunochromatographiques (ou *lateral flow assay*) de détection de l'antigène rabique et d'un test d'immunohistochimie (*Direct Rapid Immunohistochemical Test*, DRIT). Ces méthodes sont appliquées par chaque participant soit sur des panels de prélèvements de cerveaux (issus d'animaux infectés expérimentalement) distribués par le LRUE rage, soit sur une collection propre de prélèvements de cerveaux issus d'animaux testés dans les différents laboratoires. L'objectif principal de ces évaluations est d'étudier la reproductibilité des résultats de ces nouveaux tests réalisés au sein des laboratoires. Elles donnent aussi l'opportunité aux laboratoires du réseau de se familiariser avec ces nouvelles méthodes recommandées par l'OIE. Ce travail a donné lieu à deux publications référencées du laboratoire, en collaboration avec plusieurs laboratoires européens.

Perspectives et projets engagés

PARASITOSE DES RATONS LAVEURS EN FRANCE

Baylisascaris procyonis, est un nématode intestinal zoonotique très présent chez les ratons laveurs (hôte définitif principal) en Amérique, région dont l'espèce est originaire (prévalence jusqu'à 70-80 %), mais aussi désormais en Europe. L'infection parasitaire de l'Homme est rare mais très invalidante, l'ingestion des œufs entraînant la libération de larves pouvant affecter le cerveau et les yeux. Le risque d'infection de l'Homme augmente lorsque les ratons vivent à proximité des zones d'habitations.

En France, les populations de raton laveurs sont en expansion, principalement à partir de trois noyaux de colonisation fondés à partir d'individus échappés de captivité ou relâchés (Champagne-Ardenne-Lorraine, Auvergne et Gironde) ou provenant de pays frontaliers du Grand-Est. En France, le parasite a été recherché chez une vingtaine de ratons prélevés près de Reims, tous négatifs. Depuis, dans le cadre d'un consortium, l'Université Champagne-Ardenne, le Groupe de recherche et d'étude pour la gestion de l'environnement, l'École nationale vétérinaire de Toulouse et le Laboratoire ont initié des études pour estimer les taux d'infection par *Baylisascaris procyonis* des différentes populations de ratons laveurs ; le Laboratoire (en collaboration avec l'Office français de la biodiversité et la Fédération nationale de la chasse, étudiant les populations du nord du Grand-Est frontalier de la Belgique et du Luxembourg, ainsi que les populations d'Auvergne ; les autres partenaires étudiant celles des Ardennes, de la Marne et de la Gironde, en incluant un volet complet d'étude de l'écologie des ratons. Des prélèvements issus des individus collectés dans toutes les zones permettront d'étudier l'infection par d'autres pathogènes.

CHAUVES-SOURIS ET MICRO-ORGANISMES

Une thèse de doctorat d'université actuellement en cours porte sur le rôle des chauves-souris autochtones dans le maintien et la transmission de certains microorganismes viraux et bactériens susceptibles de présenter un risque sanitaire pour l'Homme et l'animal en France. De nombreuses études menées chez les chauves-souris dans le monde ont en effet montré leur association avec plus de deux cents virus, bactéries et parasites.

La thèse co-dirigée par le Laboratoire de la rage et de la faune sauvage et le laboratoire des leptospires de VetAgroSup, vise à rechercher des leptospires et certains virus transmissibles par la voie oro-fécale. Les outils de biologie moléculaire ont été mis au point pour identifier les coronavirus (CoV), rotavirus (ROT), hépatite E (HEV), virus de la maladie de Carré (CDV) et lyssavirus dans le guano. Plusieurs types d'échantillons ont été collectés pour l'étude : carcasses de chauves-souris trouvées mortes, guano et écouvillons oropharyngés prélevés ponctuellement ou lors de suivi régulier de colonies. Les résultats préliminaires ont montré la présence d'ARN CoV, d'ARN ROT et d'ARN HEV chez les chauves-souris autochtones capturées et relâchées pendant la période de rassemblement automnaux pour la reproduction. Concernant les échantillons de guano de chauves-souris, l'ARN alpha-CoV a été détecté dans 13 échantillons des 98 (13,2 %) testés, l'ARN ROT a été détecté dans 4 des 43 échantillons (9,3 %) et l'ARN HEV a été détecté dans 4 des 55 échantillons (7,27 %). Les échantillons oropharyngés montrent la présence de l'ARN ROT chez 13 des 107 échantillons (12,14 %) testés et l'ARN HEV chez 12 des 107 échantillons (11,21 %) testés.

« *Baylisascaris procyonis*, est un nématode intestinal zoonotique très présent chez les ratons laveurs en Amérique, région dont l'espèce est originaire, mais aussi désormais en Europe. »

PRINCIPALES PUBLICATIONS

- Cross-Protection of Inactivated Rabies Vaccines for Veterinary Use against Bat Lyssaviruses Occurring in Europe. Servat A, Wasniewski M, Cliquet F. *Viruses*. 2019 Oct 11;11(10). pii: E936. doi: 10.3390/v11100936.
- L BOURNEZ, G UMHANG, E FAURE, JM BOUCHER, F BOUÉ, E JOURDAIN, M SARASA, F LLORENTE, MA JIMÉNEZ-CLAVERO, S MOUTAILLER, S LACOUR, S LECOLLINET, C BECK. Exposure of Wild Ungulates to the Usutu and Tick-Borne Encephalitis Viruses in France in 2009–2014: Evidence of Undetected Flavivirus Circulation a Decade Ago. (2020) *Viruses* 2020; doi:10.3390/v12010010
- Zero Endemic Cases of Wildlife Rabies (Classical Rabies Virus, RABV) in the European Union by 2020: An Achievable Goal.
- ROBARDET E, BOSNJAK D, ENGLUND L, DEMETRIOU P, MARTÍN PR, CLIQUET F. *Trop Med Infect Dis*. 2019 Sep 30;4(4). pii: E124. doi: 10.3390/tropicalmed4040124. Review.
- S GRECH-ANGELINI, C RICHOMME, C PEYTAVIN DE GARAM, JM BOUCHER, O MAESTRINI, F GRENOUILLET, F CASABIANCA, F BOUÉ, G UMHANG. Identification and molecular characterization of *Echinococcus canadensis* G6/7 in dogs from Corsica, France. (2019) *Parasitology Research* <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06261-6>
- RICHOMME C, COURCOUL A, MOYEN J-L, REVEILLAUD É, MAESTRINI O, CRUZ K DE, DRAPEAU A, BOSCHIROLI ML. 2019. Tuberculosis in the wild boar: Frequentist and Bayesian estimations of diagnostic test parameters when *Mycobacterium bovis* is present in wild boars but at low prevalence. *PLOS ONE*, 14, e0222661.
- LESELLIER, S., M.-L. BOSCHIROLI, J. BARRAT, C. WANKE, F. J. SALGUERO, W. L. GARCIA-JIMENEZ, A. NUNEZ, A. GODINHO, J. SPIROPOULOS, S. PALMER, D. DAVE, P. ANDERSON, J.-M. BOUCHER, K. DE CRUZ, S. HENAULT, L. MICHELET, S. GOWTAGE, G. A. WILLIAMS, A. K. NADIAN, E. MONCHÂTRE-LEROY, F. BOUÉ, M. A. CHAMBERS, AND C. RICHOMME. 2019. Detection of live *M. bovis* BCG in tissues and IFN- γ responses in European badgers (*Meles meles*) vaccinated by oropharyngeal instillation or directly in the ileum. *BMC veterinary research* 15:445. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2166-4>.



agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Connaître, évaluer, protéger

**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)