



anses



LABORATOIRE DE LA RAGE ET DE LA FAUNE SAUVAGE

Rapport d'activité 2020

PRÉSENTATION

Le laboratoire de la rage et de la faune sauvage comprend deux unités scientifiques et une station expérimentale. Au travers de collaborations multiples et d'études expérimentales et 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'épidémiosurveillance 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 et dans plusieurs parties du monde.

Une large partie des activités de laboratoire est réalisée en 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 reconnue depuis cinquante ans. La surveillance est renforcée depuis 2001 sur la rage des chiroptères.
- Certains agents zoonotiques de la faune sauvage, en particulier *Echinococcus spp.*, mais aussi *Mycobacterium bovis*, le virus de l'encéphalite à tiques, les orthohantavirus, les coronavirus...

Ses mandats de référence sont :

- Laboratoire national de référence pour *Echinococcus spp.* et pour la rage,
- Laboratoire de référence de l'Union européenne pour la rage,
- Laboratoire de référence de l'Union européenne pour 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 pour la lutte contre les zoonoses,
- Laboratoire officiel de contrôle des médicaments (OMCL).

Le contexte dans lequel évolue le laboratoire a fortement évolué en 2020. Fort de travaux antérieurs sur les coronavirus de la faune sauvage et de son expertise sur certains modèles animaux pertinents pour l'étude du SARS-CoV-2, le laboratoire a mobilisé ses ressources pour contribuer à la recherche liée à la pandémie de la Covid-19. Ainsi, au début de la pandémie, les activités du Laboratoire ont strictement concerné les projets SARS-CoV-2. Les activités de référence et de recherche auparavant en cours dans les deux unités et au sein de la station expérimentale ont ainsi repris au fur et à mesure de l'évolution de la situation sanitaire, tout en continuant d'intégrer la thématique SARS-CoV-2.

L'unité Surveillance et éco-épidémiologie des animaux sauvages a poursuivi la surveillance et l'étude du rôle des animaux sauvages dans la circulation 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, a continué son développement en valorisant un nombre important de travaux.

L'unité des lyssavirus (nom de genre des virus de la rage) a poursuivi ses activités sur la rage en lien avec ses mandats de référence et des activités de recherches à visée appliquée. Si l'unité reste très réactive au contexte sanitaire sur la rage, ses activités d'épidémiologie, de pathogénie, d'immunologie, de virologie classique et de biomoléculaire ont été élargies à d'autres virus de la faune sauvage.

TRAVAUX RÉALISÉS

LES ACTIVITÉS DE RÉFÉRENCE

Dans le cadre de ses missions de référence et d'expertise, l'unité Lyssavirus a effectué les titrages des anticorps antirabiques pour les mouvements internationaux des carnivores domestiques et pour des protocoles de recherche, les diagnostics de rage, la préparation et l'évaluation de programmes de contrôle dans plusieurs pays, l'organisation d'essais inter-laboratoires d'aptitude 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.

Dans le cadre de ses mandats de référence, l'unité contribue à l'épidémiologie de la rage animale en France et en Europe, notamment à la surveillance événementielle et programmée de l'infection des chauves-souris aux lyssavirus.

De son côté, dans le cadre du mandat de référence *Echinococcus spp.*, l'unité Surveillance et éco-épidémiologie des animaux sauvages a réalisé les diagnostics des échinocoques à partir des stades adultes (vers et œufs) et larvaire ; co-piloté avec l'Office de la faune sauvage l'épidémiologie de l'infection des chauves-souris aux lyssavirus d'*Echinococcus multilocularis* en France ; développé de nouvelles méthodes de diagnostic pour la recherche d'œufs de parasite sur des matrices environnementales (sol, végétaux).

En collaboration avec le laboratoire national de référence pour les tuberculoses animales¹, l'unité contribue à l'épidémiologie de la tuberculose bovine dans la faune sauvage en France dans le cadre du dispositif national dédié, Sylvatub. Elle contribue également à l'amélioration de la surveillance sanitaire de la faune sauvage par son implication au sein de la plateforme Épidémiologie en santé animale, et notamment via l'animation de la thématique faune sauvage de cette plateforme.

¹Laboratoire de la santé animale de l'Anses.

LE LABORATOIRE DANS LA PANDÉMIE

Dès avril 2020, le laboratoire a validé deux modèles animaux afin de pouvoir participer à la compréhension de la physiopathogénie de l'infection à SARS-CoV-2. Si aucun des deux modèles n'est le reflet parfait de la Covid-19, ils ont permis de mieux comprendre les phénomènes d'anosmie (perte d'odorat) et de « tempête cytokinique » (inflammation excessive délétère). Ainsi, l'anosmie est un des symptômes fréquemment rencontrés chez les patients infectés par le SARS-CoV-2. L'hypothèse était que le virus infectait les nerfs olfactifs dans le nez. Une étude en collaboration avec l'INRAE, a montré que chez le hamster, le virus infecte d'autres cellules de la muqueuse nasale, qui en dégénérant affectent les nerfs olfactifs. Par ailleurs, lors de l'infection à SARS-CoV-2, le système immunitaire est sollicité via les cytokines et peut surréagir.

Le laboratoire a également contribué à une étude sur les interférons (IFN) de type I, qui sont de petites protéines produites naturellement dans le corps en réponse à une infection virale. Un défaut de production de ces IFN par l'organisme serait associé aux formes sévères de la Covid-19 mais ils peuvent aussi provoquer une inflammation excessive délétère. L'étude menée en collaboration avec l'INRAE et l'École vétérinaire nationale de Toulouse a montré que l'administration de l'IFN est bénéfique seulement en préventif ou très précocement après infection.

De plus, ces modèles ont permis de tester des molécules déjà utilisées chez l'Homme pour d'autres affections et qui auraient pu avoir des effets bénéfiques sur l'infection à SARS-CoV-2.



ENQUÊTE SUR LE RISQUE DE CONTAMINATION DES VISONS

Les élevages de visons ont été contaminés par le Sars-CoV-2, d'abord au Danemark et au Pays-Bas, puis d'en d'autres pays européens et aux États-Unis. La question de l'infection des élevages français s'est donc rapidement posée. Le laboratoire, financé par l'OMS, a mis en œuvre une enquête dans les quatre élevages français, dont le statut d'infection était inconnu. La détermination du plan d'échantillonnage (permettant la détection d'une infection de 5 % ou plus de visons), la réalisation des prises de sang et des écouvillons oro-pharyngés puis la réalisation des analyses sérologiques par Elisa et séroneutralisation et des analyses des écouvillons par biologie moléculaire ont été effectuées par le laboratoire. Un de ces quatre élevages s'est révélé infecté, avec près de 97 % des prélèvements sanguins positifs et du génome viral détecté sur 35 % des écouvillons. L'analyse de la séquence du virus a révélé que celle-ci était différente de celle retrouvée dans les élevages contaminés des autres pays.

Le rôle des renards dans la transmission de la tuberculose bovine

L'infection des animaux sauvages par *Mycobacterium bovis*, l'agent principal de la tuberculose bovine, complique l'éradication en élevage du fait du risque de transmission aux bovins. Pour éclairer ce risque et mieux comprendre le rôle des renards dans la circulation de *Mycobacterium bovis* dans les zones infectées, deux types de travaux ont été pilotés par le laboratoire : des études de l'infection naturelle dans quatre populations de renards dans les zones où le pathogène infecte les bovins (trois en Nouvelle-Aquitaine et une en Côte-d'Or), et une étude expérimentale de l'infection chez des animaux captifs. Les études épidémiologiques mettent en évidence des taux d'infection par *Mycobacterium bovis* chez les renards en Nouvelle-Aquitaine semblables à ceux des blaireaux et une possibilité de disséminer la bactérie dans leur fèces, mais pas d'infection chez les renards en Côte-d'Or (Richomme et al., 2020). L'infection expérimentale orale des renards montre quant à elle une excrétion bactérienne chez certains animaux par voie fécale et oropharyngée durant les premiers trois mois de l'infection.

Ces nouvelles données, confrontées à celles d'études phylogénétiques récemment produites par le laboratoire de santé animale de l'Anses et aux données sur l'écologie du renard, ont permis de répondre à une saisine de la Direction générale de l'alimentation, sur le rôle du renard dans la transmission de la tuberculose bovine (Anses, 2021). Il a été conclu que cet animal a un rôle probablement moindre que celui du blaireau ou du sanglier. Des mesures de gestion, s'appliquant à la proximité immédiate des exploitations infectées ont été proposées.

² Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay



ANTIBIORÉSISTANCE CHEZ LE RENARD

La résistance aux antibiotiques est un problème sanitaire majeur qui limite dangereusement le traitement des infections bactériennes, et dont il faut contrôler les sources d'origine animale. Dans cette lutte globale typiquement « One Health », les bactéries résistantes sont de plus en plus fréquemment détectées chez les animaux sauvages. Ceux-ci jouent un rôle de réservoir (pouvant transmettre les pathogènes) ou de sentinelles (montrant l'infection de l'environnement), notamment à proximité d'élevages laitiers, souvent sources de bactéries porteuses de résistance. Dans ce cadre, les renards roux (*Vulpes vulpes*), qui vivent près de l'Homme et des animaux domestiques, et sont également fortement exposés car au sommet de la chaîne alimentaire, sont une espèce de choix pour étudier la persistance et l'excrétion de bactéries résistantes aux antibiotiques telles que *Escherichia coli* responsable d'infections digestives chez l'homme et de nombreux animaux. Une étude expérimentale conduite à Atton (Meurthe-et-Moselle), en collaboration avec le Laboratoire de Lyon et le Laboratoire d'hydrologie de Nancy, a testé la capacité des renards à être colonisés par une *E. coli* d'origine canine et porteuse d'une bêta-lactamase à spectre étendu plasmidique (BLSE), qui donne la capacité aux bactéries de résister à certains antibiotiques. Trois groupes de six renards roux captifs ont été inclus : le premier a consommé 9×10^8 colony-forming unit (CFU) par millilitres d'*E. coli* (inoculum classiquement délivrée dans des études expérimentales), le deuxième a consommé 9×10^5 CFU/ml d'*E. coli* (inoculum faible, compatible avec la charge bactérienne d'une proie avariée) et le groupe contrôle n'a pas ingéré de bactéries. Aucun animal n'était porteur de BLSE avant gavage. Pour chacune des deux doses, la quantité de bactéries BLSE retrouvée dans les fèces a tout d'abord légèrement augmenté (d'environ 1 logarithme décimal), par rapport à celui administré, puis a graduellement diminué à un niveau indétectable en 8 jours en moyenne pour la forte dose et 7 jours pour la faible dose. Dans le groupe qui a reçu la plus faible dose, un animal a excrété pendant 14 jours. Les bactéries excrétées ont été confirmées identiques à celles administrées et aucun transfert de plasmide, support de l'information génétique, n'a été détecté. Ce travail montre que le renard roux peut excréter temporairement des *E. coli* BLSE et être une sentinelle efficace d'infection pour suivre localement la dispersion des bactéries résistantes aux antibiotiques.

PERSPECTIVES ET PROJETS ENGAGÉS

JUMELAGE OIE SUR LA RAGE ENTRE LE LABORATOIRE DE LA RAGE ET DE LA FAUNE SAUVAGE ET L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

La rage canine continue de sévir dans le monde. En Afrique, environ 25 000 décès humains sont rapportés chaque année, la quasi-totalité ayant pour origine une morsure par un chien infecté.

Le Laboratoire entretenant de bonnes collaborations avec plusieurs équipes de pays du Maghreb, un projet de jumelage avec l'Institut Pasteur de Tunis a été soumis à l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE). Ce projet de trois ans a démarré en 2020 et son financement sera assuré par l'OIE et l'Institut Pasteur de Tunis.

Le projet comprend un volet purement laboratoire, avec le perfectionnement des tests de diagnostic et de détection de l'immunité et la mise sous assurance qualité (norme 17025) du diagnostic de rage. Des essais inter-laboratoires pour le diagnostic de rage seront organisés pour les pays du Maghreb, avec le souhait de créer un réseau pérenne de laboratoires référence. Une action sera conduite sur le terrain pour tenter d'améliorer et de suivre l'efficacité des campagnes de vaccination antirabique de masse des chiens. La démarche One Health « Zéro cas de rage humaine d'ici 2030 » impulsée en 2015 par l'OIE, l'OMS et la FAO sera ainsi facilitée. L'Afrique ayant un seul laboratoire anglophone de référence de l'OIE pour la rage, en Afrique du Sud, l'objectif serait que l'IPT accède à ce titre pour le bénéfice des pays francophones.



PROJET MEME

MEME est un projet collaboratif international lancé en janvier 2020 dans le cadre de l'European joint Programme One Health, visant à combler les lacunes de recherche mises en évidence par les agences internationales pour la détection et le contrôle des vers parasites *Echinococcus multilocularis* (Em) et *Echinococcus granulosus s.l.* (Eg).

Ce projet se concentre sur la normalisation, l'harmonisation et la validation des méthodes existantes, ainsi que sur le développement et l'évaluation comparative d'outils moléculaires innovants. La production de données épidémiologiques sur la présence d'œufs de ces parasites se concentre sur les légumes destinés à la consommation humaine, ainsi que sur les fèces canines dans certains pays endémiques.

Un an après le début du projet, toutes les procédures opérationnelles standardisées pour alimenter les tâches du projet ont été générées. Des résultats ont déjà été publiés sur des méthodes de détection, d'identification et de diagnostic. Le projet vise à harmoniser les procédures, améliorer la détection de ces parasites et définir des stratégies de contrôle.

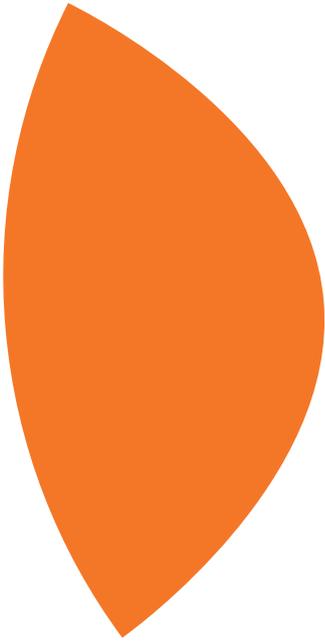
Épidémiologie de l'encéphalite à tiques en France

Le virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) est l'arbovirus le plus fréquent en Europe. 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. Les contaminations par ce virus en France sont surtout connues en Alsace, où il est responsable de quelques dizaines de cas d'encéphalite à tique chaque année. Dans la nature, le virus circule entre les tiques et les rongeurs. Afin de mieux comprendre l'épidémiologie du TBEV en Alsace, les laboratoires Anses de la rage et de la faune sauvage et de santé animale ont suivi de 2016 à 2018 la présence de ce virus dans les tiques et chez les rongeurs, sur un même site. Leur étude montre que le virus circule très peu : seulement de 0,03 % à 0,3 % des tiques sont porteuses et de 2 à 5 % des rongeurs possèdent des anticorps témoignant qu'ils ont été en contact avec le virus. Au cours de la période, le virus disparaît de la zone étudiée (Bournez et al. 2020). Les conditions météorologiques défavorables à la survie des larves et nymphes de tiques ou à une augmentation du nombre des cervidés sur lesquels les tiques vont se nourrir de préférence aux rongeurs sont des hypothèses explicatives.

Si jusqu'à présent toutes les contaminations humaines en France étaient dues à des piqûres de tiques infectées, un cluster de 44 personnes contaminées par des fromages de chèvres au lait cru a eu lieu en 2020 dans l'Ain, où la circulation du virus n'était pas connue. Une enquête conduite par plusieurs laboratoires de l'Anses dans l'élevage incriminé a montré que les chèvres avaient accès à un sous-bois en continuité avec une forêt où des tiques infectées ont été retrouvées à une prévalence du même ordre de grandeur qu'en Alsace. Un quart des chèvres présentaient des anticorps vis-à-vis du TBEV et le virus a été retrouvé dans le lait.

PRINCIPALES PUBLICATIONS

- Richomme C., E. Réveillaud, J.-L. Moyen, P. Sabatier, K. De Cruz, L. Michelet, M.L. Boschioli. 2020. "Mycobacterium bovis Infection in Red Foxes in Four Animal Tuberculosis Endemic Areas in France." *Microorganisms* 8, 1070. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071070>
- Umhang G., C. Richomme, V. Bastid, J-M. Boucher, C. Peytavin de Garam, S. Itié-Hafez, C. Danan, F. Boué. 2020. «National survey and molecular diagnosis of Echinococcus granulosus sensu lato in livestock in France, 2012". *Parasitology* 147(6):1-18. <https://doi.org/10.1017/S0031182020000190>
- Šimić I., T.M. Zorec, I. Lojkić, N. Krešić, M. Poljak, F. Cliquet, E. Picard-Meyer, M. Wasniewski, V. Zrnčić, A. Čukušić, T. Bedeković. 2020. "Viral Metagenomic Profiling of Croatian Bat Population Reveals Sample and Habitat Dependent Diversity". *Viruses* 12, 891. <https://doi.org/10.3390/v12080891>
- Bournez L., G. Umhang, M. Moinet, J-M. Boucher, J.-M. Demerson, C. Caillot, L. Legras, E. Devillers, Y. Hansmann, A. Velay, C. Richomme, S. Moutailler, F. Boué. 2020. «Disappearance of TBEV Circulation among Rodents in a Natural Focus in Alsace, Eastern France». *Pathogens*, 9, 930. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110930>
- Bryche B. , A. St Albin, S. Murri, S. Lacôte, C. Pulido, M. Ar Gouilh, S. Lesellier, A. Servat, M. Wasniewski, E. Picard-Meyer, E. Monchatre-Leroy, R. Volmer, O. Rampin, R. Le Goffic, P. Marianeau, N. Meunier. 2020. "Massive transient damage of the olfactory epithelium associated with infection of sustentacular cells by SARS-CoV-2 in golden Syrian hamsters". *Brain, Behavior, and Immunity* 89: 579-586, <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.06.032>.





anses

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

CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER