

79 SG/12/CS2 B

Original : anglais  
Février 2011

## RAPPORT DE LA RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES BIOLOGIQUES DE L'OIE

Paris, 8 – 10 février 2011

Une réunion de la Commission des normes biologiques de l'OIE s'est tenue du 8 au 10 février 2011 au siège de l'OIE. Le Docteur Kazuaki Miyagishima, Chef du Service scientifique et technique de l'OIE a accueilli les membres de la Commission, à savoir, le Professeur Vincenzo Caporale, Président de la Commission, le Docteur Beverly Schmitt, Vice-président, le Docteur Mehdi El Harrak, Secrétaire général, ainsi que le Docteur Alejandro Schudel et le Docteur Paul Townsend, membres de la Commission, et un expert invité, le Docteur Peter Wright du Canada.

L'ordre du jour et la liste des participants figurent respectivement aux annexes I et II du présent rapport.

### 1. Laboratoires de référence et Centres collaborateurs de l'OIE

#### 1.1. Candidatures au statut de Laboratoire de référence ou de Centre collaborateur de l'OIE

La Commission a recommandé l'acceptation des deux candidatures suivantes au statut de Centre collaborateur de l'OIE :

*Centre collaborateur de l'OIE pour les programmes de réglementation des médicaments vétérinaires*  
Center for Veterinary Medicine (CVM), Food and Drug Administration (FDA), Department of Health and Human Services, 7519 Standish Place, HFV-1, Room 177, Rockville, Maryland 20855, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE  
Tél. : (+1-240) 276.90.25 ; E-mail : merton.smith@fda.hhs.gov;  
<http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/default.htm>  
Point de contact : Docteur Merton V. Smith

*Centre collaborateur de l'OIE pour l'épidémiologie et le diagnostic des maladies émergentes, ré-émergentes et transfrontalières des animaux en Amérique centrale et dans les Caraïbes*  
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apdo. 10, San José de las Lajas, CP 32700, Provincia Mayabeque, CUBA  
Tél. : (+53) 47.86.32.06 ; E-mail : lydia@censa.edu.cu;  
<http://www.censa.edu.cu>  
Point de contact : Docteure Lydia M. Tablada Romero

La Commission a accepté la candidature des deux centres en application du mandat et du règlement intérieur en vigueur. En raison des projets de modification de ces documents, la Commission a souhaité obtenir des garanties sur la viabilité des centres proposés. S'agissant de la candidature cubaine, la Commission régionale de l'OIE pour les Amériques serait invitée à prendre position sur l'éventuelle intégration de ce centre, pour des raisons d'efficacité, au Centre collaborateur existant de l'OIE pour les systèmes de surveillance zoonitaire, l'analyse des risques et la modélisation épidémiologique du Colorado, aux États-Unis d'Amérique.

Une candidature avait été déposée par les États-Unis d'Amérique pour un statut de Centre collaborateur pour la recherche et le diagnostic sur les agents pathogènes existants et émergents de la faune sauvage. Celle-ci a été laissée en suspens compte tenu de la proposition visant à désigner un seul centre par spécialité et par région (voir le paragraphe 2.1). Ce Centre pourrait être intégré à une date ultérieure au Centre collaborateur existant de l'OIE pour la surveillance et suivi, épidémiologie et gestion des maladies des animaux sauvages de Saskatoon, au CANADA.

Toutes ces propositions seraient soumises au Conseil.

La Commission a recommandé l'acceptation des deux candidatures suivantes au statut de Laboratoire de référence de l'OIE :

*Laboratoires de référence de l'OIE pour la grippe équine et la rhinopneumonie équine*  
Institute of Virology, Veterinary Medicine, Free University of Berlin, Philippstrasse 13, 10115 Berlin,  
ALLEMAGNE  
Tél. : (+49-30) 20.93.65.63; E-mail : borchers@zedat.fu-berlin.de  
Expert de référence désigné : Professeure Kerstin Borchers.

*Laboratoires de référence de l'OIE pour l'anaplasmose et la babésiose*  
Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA), Carretera Cuernavaca Cuautla #8534, Colonia Progreso, CB 62550, Jiutepec, Morelos, MEXIQUE  
Tél. : (+52-777) 3.19.02.02 / 3.20.43.62 ; E-mail : para.cen@senasica.sagarpa.gob.mx  
Expert de référence désigné : Docteur Fernando Parrodi López.

Un laboratoire situé en Europe avait fait acte de candidature au statut de Laboratoire de référence de l'OIE pour la grippe porcine. Bien que le dossier fasse état d'un niveau élevé d'expertise, il ne contenait aucune information sur les activités du laboratoire au niveau international. Dans la mesure où un Laboratoire de référence de l'OIE a pour vocation de proposer ses services à l'échelle mondiale, l'institut demandeur serait invité à fournir des informations sur ses activités internationales et les moyens qu'il comptait mobiliser pour exercer son mandat de Laboratoire de référence.

La Commission avait reçu un dossier de candidature au statut de Laboratoire de référence de l'OIE pour la babésiose équine dans les Amériques. Bien que le candidat ait été jugé techniquement compétent, le dossier ne contenait aucune indication attestant de l'exercice d'activités de diagnostic et d'analyse. Le candidat serait invité à fournir ces informations ainsi que des exemples spécifiques de formations d'une portée internationale, à l'exclusion de la prise en charge d'étudiants en doctorat.

Un laboratoire européen qui venait d'achever un projet de jumelage sur l'influenza aviaire et la maladie de Newcastle avait présenté sa candidature au statut de Laboratoire de référence de l'OIE. La Commission a décidé de solliciter un complément d'informations. Ce dossier, ainsi que celui d'un autre candidat des Amériques à la désignation de Laboratoire de référence de l'OIE pour la mycoplasmosse aviaire, a suscité une discussion sur la meilleure façon d'apporter un soutien efficace aux laboratoires qui briguaient le statut de Laboratoire de référence de l'OIE à l'issue d'un projet de jumelage achevé avec succès. Ces laboratoires n'étaient généralement pas impliqués dans des activités internationales, ce qui a été clairement identifié comme un handicap majeur à leur adhésion. Il a été proposé de créer un statut intermédiaire. Les laboratoires candidats seraient soumis à une évaluation individuelle. Un laboratoire qui aurait achevé un programme de jumelage et qui aurait démontré qu'il détenait toutes les compétences techniques requises pour assumer le rôle de Laboratoire de référence de l'OIE, à l'exception d'activités de portée internationale, se verrait conférer un « statut intermédiaire » (une liste de ces laboratoires serait annexée aux rapports des réunions de la Commission des normes biologiques). Pendant la période d'essai, le laboratoire serait encouragé à participer à un projet d'après jumelage conçu spécifiquement pour développer ses activités internationales. La Commission a soutenu cette proposition qui serait soumise au Conseil.

Une candidature de la Région Asie, Extrême-Orient et Océanie au statut de Laboratoire de référence de l'OIE pour la cachexie chronique et une candidature européenne pour la fièvre Q ont été laissées en suspens dans l'attente d'un complément d'informations sur leurs activités internationales. L'étude des dossiers a révélé une fois de plus que les candidats s'apparentaient davantage à des laboratoires nationaux compétents qu'à des Laboratoires de référence de l'OIE. Ces dossiers ont également donné lieu à une discussion sur l'intérêt de désigner des laboratoires pour des maladies non inscrites sur la Liste de l'OIE ou non reprises dans l'un des chapitres du *Code sanitaire pour les animaux terrestres*. La Commission consulterait le Conseil et les Délégués sur la question afin de parvenir à un accord sur un document d'orientation au niveau de l'organisation.

Voici un an, une candidature conjointe au statut de Laboratoire de référence transnational de l'OIE pour la maladie de la dourine avait été présentée par deux laboratoires situés en Europe. La Commission leur avait recommandé de s'accorder sur l'organisation de leurs activités pour permettre le dépôt d'une candidature unique par le laboratoire le plus expérimenté pour cette maladie. La Commission a examiné cette nouvelle candidature. Le laboratoire de référence serait établi dans l'un des pays et ferait appel aux compétences du laboratoire situé dans l'autre pays. La Commission a estimé que le premier laboratoire se trouvait dans une situation de dépendance excessive envers l'autre laboratoire dans la mesure où ce dernier détenait l'essentiel des compétences en matière de diagnostic. À la lumière de ce constat, la Commission a rejeté la candidature.

La Commission n'a pas examiné les candidatures en suspens d'un laboratoire situé en Europe au statut de Laboratoire de référence de l'OIE pour l'anaplasmose bovine et la piroplasmose (babésiose bovine) ; le statut quo serait maintenu jusqu'à la prochaine réunion de la Commission.

## **1.2. Changements d'experts dans la Liste des Laboratoires de référence**

L'OIE avait été informée des changements d'experts intervenus dans les Laboratoires de référence de l'OIE et repris ci-après. La Commission a recommandé d'accepter ces modifications :

### *Diarrhée virale bovine*

Docteur Oliver Lung en remplacement du Docteur Dirk Deregts à l'Agence canadienne d'inspection des aliments, Animal Diseases Research Institute, Lethbridge, Alberta, CANADA

### *Grippe équine et rhinopneumonie équine*

Docteure Debra Elton en remplacement de la Docteure Jenny Mumford à l'Animal Health Trust, Centre for Preventive Medicine, Suffolk, ROYAUME-UNI.

### *Leptospirose*

Docteure Jessica Petrakovsky en remplacement de la Docteure Gleyre Dorta De Mazzonelli au DILAB – SENASA, Martínez, Buenos Aires, ARGENTINE.

### *Influenza aviaire et maladie de Newcastle*

Mme Janice Pedersen en remplacement du Docteur Brundaban Panigraphy au National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE.

### *Peste bovine et peste des petits ruminants*

Docteur Michael Baron en remplacement du Professeur Tom Barrett à l'Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Surrey, ROYAUME-UNI.

### *Maladie d'Aujeszky*

Docteur André Jestin en remplacement du Docteur Philippe Vannier à l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, Laboratoire de Ploufragan, FRANCE.

### *Rage*

Docteure Christine Fehlner-Gardiner en remplacement du Docteur Alex Wandeler à l'Animal Diseases Research Institute, Nepean, Ontario, CANADA.

### *Leucose bovine enzootique*

Docteur Bhudipa Choudhury en remplacement du Docteur Chris Venables au VLA Weybridge, New Haw, Addlestone, Surrey, ROYAUME-UNI.

## **1.3. Rapports annuels d'activités des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE en 2010**

La Commission avait reçu les rapports de 149 Laboratoires de référence (sur 158) et de 32 Centres collaborateurs (sur 35) pour des maladies des animaux terrestres ou des domaines de compétence particuliers. La Commission a tenu à remercier les Laboratoires de référence et les Centres collaborateurs pour le soutien enthousiaste et l'expertise qu'ils ont apportés à l'OIE. Un CD-ROM contenant l'ensemble des rapports de 2010 serait distribué aux Délégués ainsi qu'à tous les Laboratoires de référence et Centres collaborateurs. Les activités internationales pertinentes pour l'OIE sont résumées dans les tableaux suivants :

### Laboratoires de référence

Activités	Pourcentage de Laboratoires concernés
<b>Activités générales</b>	
1 Épreuve(s) utilisée(s) ou disponible(s) pour la maladie considérée	99 %
2 Production et distribution de réactifs pour diagnostic	89 %
<b>Activités spécifiques de l'OIE</b>	
3 Harmonisation/normalisation internationale des méthodes	78 %
4 Préparation et fourniture de réactifs de référence internationaux	66 %
5 Recherche et développement de nouvelles procédures	89 %
6 Recueil, analyse et diffusion des données épizootiologiques	71 %
7 Mise à disposition de consultants	84 %
8 Formation scientifique et technique	75 %
9 Fourniture d'équipement de diagnostic	57 %
10 Organisation de réunions scientifiques internationales	28 %
11 Participation à des études scientifiques internationales	65 %
12 Présentations et publications	88 %
13 Inscription de kits de diagnostic au registre de l'OIE	0,01 %

### Centres collaborateurs

Activités	Pourcentage de Centres collaborateurs concernés
<b>Activités générales</b>	
1 Activités de centre de recherche, expertise, normalisation et diffusion de techniques	96 %
2 Proposition ou mise au point de procédures visant à faciliter l'harmonisation des réglementations internationales applicables à la surveillance et au contrôle des maladies animales, à la sécurité sanitaire des aliments et au bien-être animal	73 %
3 Mise à disposition de consultants auprès de l'OIE	88 %
<b>Activités spécifiques de l'OIE</b>	
4 Formations scientifiques et techniques destinées aux personnels des Pays et Territoires Membres de l'OIE	88 %
5 Organisation de réunions scientifiques pour le compte de l'OIE	24 %
6 Coordination d'études scientifiques et techniques en partenariat avec d'autres laboratoires ou institutions	85 %
7 Publication et dissémination de toute information pertinente pour les Pays et Territoires Membres de l'OIE	85 %

La Commission a proposé d'effectuer des visites occasionnelles dans certains Laboratoires de référence de l'OIE pour s'assurer que leurs rapports étaient le reflet fidèle de leurs activités et de leurs services. Par ailleurs, ces visites pourraient inciter les laboratoires à développer leurs activités. Cette proposition serait portée à l'attention du Directeur général. À propos des modalités d'évaluation systématique et objective des rapports annuels, un membre de la Commission s'est déclaré disposé à parcourir les rapports annuels la veille de la prochaine réunion du printemps et à consigner ses résultats dans un rapport qui serait examiné par la Commission.

#### 1.4. Examen des candidatures nouvelles et en suspens pour des projets de jumelage entre laboratoires

Le Docteur Keith Hamilton a présenté à la Commission un rapport actualisé sur le programme de jumelage. La Commission s'est prononcée en faveur d'un projet de jumelage entre la France et le Burkina Faso pour la trypanosomiase africaine. La Commission a toutefois demandé des éclaircissements sur plusieurs détails logistiques tels que l'état du laboratoire au Burkina Faso, le degré d'implication de l'expert venu de France et le renforcement des capacités d'assurance qualité. La Commission a également émis un avis favorable au

jumelage entre l'Allemagne et l'Inde pour la morve. Elle a toutefois souhaité obtenir des clarifications sur certains aspects techniques de la proposition. La Commission a demandé au secrétariat de transmettre ses commentaires aux laboratoires candidats aux jumelages en les priant de tenir compte de ces points dans leurs nouvelles propositions.

Tous les membres de la Commission ont été invités à l'atelier de retour d'expériences sur les jumelages qui se tiendrait du 30 au 31 mars 2011.

## **2. Groupes ad hoc**

### **■ Réunions précédentes des Groupes ad hoc**

#### **2.1. Rapport de la deuxième réunion du Groupe ad hoc de l'OIE chargé du partenariat scientifique**

Le Docteur Caporale, qui avait présidé le Groupe ad hoc, a présenté le rapport de cette réunion. Le Groupe a passé en revue le mandat et le règlement intérieur des Centres collaborateurs de l'OIE et déposé plusieurs propositions d'amendement. Il a également révisé les propositions d'amendement au mandat et au règlement intérieur des Laboratoires de référence de l'OIE qui avaient été déposées à la réunion précédente pour en accroître la cohérence. Le Professeur Caporale s'est dit une nouvelle fois convaincu de la nécessité de maintenir l'offre de conseils scientifiques et techniques sur les moyens de lutte contre les maladies dans le mandat des Laboratoires de référence de l'OIE. La Commission a reconnu que la lutte contre les maladies était l'une des responsabilités principales des Laboratoires de référence et a proposé au Conseil de retirer la rubrique suivante du mandat : « Sur demande, les Laboratoires de référence de l'OIE devront : ».

Le Groupe ad hoc avait proposé de ne conserver qu'un seul Centre collaborateur par région et par domaine. Dans l'éventualité du dépôt d'autres candidatures émanant de la même région, les centres seraient invités à travailler en réseau pour garantir un niveau de compétence identique dans tous les centres. La Commission a entériné cette approche et le concept d'une catégorisation des spécialités couvertes par les Centres collaborateurs (voir l'[annexe IV](#) du rapport de la réunion du Groupe ad hoc). À la différence des Laboratoires de référence, les Centres collaborateurs doivent être approuvés par la Commission régionale correspondante, avec consultation de la Commission spécialisée si possible en parallèle, puis par le Conseil.

En réponse à la proposition visant à désigner un expert suppléant, la Commission a proposé d'ajouter une mention au paragraphe de l'article 6bis du règlement intérieur précisant que, le cas échéant, l'expert désigné peut déléguer des responsabilités spécifiques à d'autres experts.

La Commission a adopté le rapport du Groupe ad hoc qui serait examiné par le Conseil de l'OIE. Le rapport a été versé à l'[annexe III](#) du présent rapport. Dans la mesure où ces textes faisaient partie des Textes fondamentaux de l'OIE, le Conseil de l'OIE soumettrait officiellement les propositions d'amendement à l'Assemblée mondiale des Délégués en mai 2011.

### **■ Prochaines réunions des Groupes ad hoc**

#### **2.2. Groupe ad hoc de l'OIE sur la qualité des vaccins contre la fièvre aphteuse**

Pour l'examen de cette question, le Docteur Yong Joo Kim du Service scientifique et technique s'est joint à la Commission. La Commission a pris connaissance du mandat spécifique du Groupe ad hoc. Le Professeur Caporale a expliqué que le Groupe aurait pour but principal de conseiller les Membres sur l'utilisation des vaccins contre la fièvre aphteuse au moment de leur achat. Cette assistance prendrait la forme d'une norme décrivant la production, le contrôle et la mise sur le marché des vaccins contre la fièvre aphteuse : mode de sélection d'une souche, signification des termes « sécurité », « efficacité » et « activité » et tests de contrôle de ces caractéristiques.

S'agissant de la composition du Groupe, le Professeur Caporale a réitéré son opposition à la nouvelle politique de l'OIE interdisant aux membres d'une Commission spécialisée de présider un Groupe ad hoc. En ce qui concerne la participation de représentants des producteurs de vaccins, la Commission s'est vue rappeler qu'un accord officiel avait été conclu entre l'OIE et l'IFAH<sup>1</sup> et que celle-ci avait été consultée lors de l'établissement de la liste des participants.

Le Groupe ad hoc devrait se réunir du 29 au 31 mars 2011 au siège de l'OIE.

---

1 IFAH : Fédération internationale pour la santé animale

### **2.3. Groupe ad hoc sur la validation des épreuves pour les animaux sauvages**

La Commission a examiné la proposition de mandat de ce Groupe. Le Professeur Caporale a confirmé sa participation et proposé d'inclure la validation des épreuves de diagnostic des maladies des camélidés dans le mandat de ce Groupe ad hoc ou du Groupe ad hoc pour les maladies des camélidés.

Le Groupe ad hoc devrait se réunir du 27 au 29 avril 2011 au siège de l'OIE.

#### **■ Nouveaux Groupes ad hoc proposés**

### **2.4. Groupe ad hoc sur la modernisation du *Manuel terrestre***

La Commission, ayant pris acte de la nécessité d'améliorer la qualité des informations présentées dans le *Manuel terrestre* et d'harmoniser le contenu des chapitres, a étudié plusieurs pistes pour réaliser cet objectif. Parmi celles-ci figure la proposition de prolonger les réunions de la Commission d'un ou deux jours pour lui permettre de se consacrer, avec la participation d'autres experts invités, à l'examen des projets de chapitres révisés préalablement choisis. La Commission a reconnu qu'il était nécessaire d'impliquer davantage de personnes dans la rédaction des chapitres du *Manuel terrestre* et de rendre le processus de mise à jour plus transparent. L'idée de créer un groupe « virtuel » dont les membres communiqueraient entre eux par voie électronique a été avancée pour traiter certains chapitres ou groupes de chapitres sur des maladies apparentées. La mise à jour des chapitres est actuellement assurée par un seul expert ou un nombre limité d'experts (choisis parmi les Experts de l'OIE en fonction des maladies relevant de leur spécialisation) ; le projet de texte est ensuite révisé par d'autres experts du Laboratoire de référence de l'OIE. Le Groupe ad hoc serait désormais chargé d'analyser et de réviser le *Manuel terrestre* avant de présenter ses propositions de modifications à la Commission pour examen et approbation. Le processus de mise à jour devrait être piloté par les Laboratoires de référence de l'OIE, plutôt que par des experts individuels. En conséquence, ils devraient être consultés régulièrement sur la nécessité d'une éventuelle actualisation du chapitre concernant leur maladie et, le cas échéant, être invités à identifier les parties les plus obsolètes. Le document de consensus élaboré à l'issue de la concertation de l'ensemble des experts l'OIE pour une maladie donnée serait transmis au Groupe ad hoc pour action. La participation du consultant/rédacteur devrait être sollicitée à nouveau étant donné l'importance de sa contribution.

Un éventail complet des possibilités sera bientôt présenté au Directeur général en vue d'une décision finale.

### **2.5. Groupe ad hoc sur les normes de biosécurité et de confinement biologique des laboratoires vétérinaires**

La Commission est revenue sur les avantages liés à la préparation, en collaboration avec l'OMS<sup>2</sup>, d'un guide pratique de l'OIE sur la biosécurité et la biosûreté dans les laboratoires vétérinaires. Le Docteur Beverly Schmitt pourrait contribuer à cet effort si le Groupe tenait sa prochaine réunion immédiatement après celle de la Commission. Le Professeur Caporale a indiqué que le Groupe devrait inclure des participants issus de l'ensemble des régions et ne pas se limiter aux seuls experts des pays qui auraient déjà adopté des lignes directrices en matière de biosécurité au niveau national. Cette démarche viserait à prendre en compte un maximum de besoins pour garantir ainsi la mise en œuvre des orientations finales.

### **2.6. Réunion du Groupe ad hoc sur les épreuves diagnostiques associées aux technologies nouvelles et émergentes**

Sur les conseils de l'expert de l'OIE, la Commission a pris contact avec un auteur pour la mise à jour du Chapitre 1.1.7 « Les biotechnologies dans le diagnostic des maladies infectieuses et le développement des vaccins » du *Manuel terrestre*.

---

2 OMS : Organisation mondiale de la santé

### 3. Normalisation et harmonisation internationales

#### ■ Tests de diagnostic

#### 3.1. État d'avancement des programmes de normalisation des réactifs (à des fins d'harmonisation des tests diagnostiques)

La Commission a pris acte du rapport technique soumis par le Laboratoire de référence de l'OIE pour la rage de Nancy, en France (Expert de l'OIE : Docteur F. Cliquet), relatif à la réalisation d'un test inter-laboratoires visant à déterminer le titre d'un nouveau lot de sérums de référence positifs antirabiques d'origine canine. La Commission a également été informée qu'une nouvelle série de sérums de référence de l'OIE serait produite dans l'année en remplacement de la série précédente. La Commission a examiné le protocole de production proposé pour cette deuxième série et n'a soulevé aucune objection par rapport aux principes décrits. Elle a toutefois invité le Docteur Cliquet à consulter les autres Laboratoires de référence de l'OIE pour la rage sur cette question.

#### 3.2. Registre des épreuves de diagnostic de l'OIE : examen des soumissions

Le Docteur François Diaz a fait rapport à la Commission sur les dossiers de soumission présentés dans le cadre de la Procédure de l'OIE pour la validation et la certification des épreuves de diagnostic. À l'issue d'un examen approfondi, la Commission a reconnu que l'un des kits de diagnostic ne répondait pas aux normes et prescriptions et a décidé, par conséquent, qu'il ne serait pas proposé à l'Assemblée pour adoption. Le demandeur sera informé de la décision et de la possibilité de faire appel par lettre officielle.

Un autre kit pour le typage de Salmonella a été examiné dans le cadre de la procédure d'appel. Suite à l'obtention de données supplémentaires et au resserrement du domaine d'application proposé, la Commission a décidé de présenter le kit à l'Assemblée pour adoption en mai 2011 sur la base de l'évaluation de ces nouvelles informations par les experts.

#### 3.3. Courrier du Délégué de Cuba à l'OIE

Le Délégué de Cuba avait adressé un courrier concernant la validation, au sein même des laboratoires vétérinaires, des méthodes diagnostiques décrites dans le *Manuel terrestre*. Le Groupe ad hoc sur la validation des épreuves de diagnostic avait récemment présenté à la Commission une nouvelle version du chapitre sur la validation des épreuves de diagnostic et des annexes sur « les bonnes pratiques ». La Commission a décidé qu'elle se prononcerait sur la réponse à donner aux préoccupations du Délégué lors de sa réunion de septembre, après avoir étudié le dossier.

#### ■ Matériel de référence

#### 3.4. Discussion générale sur les moyens requis pour accroître la disponibilité des réactifs de référence

La Commission a constaté que le mandat actualisé des Laboratoires de référence de l'OIE, qui serait proposé à l'adoption en mai 2011 (voir le paragraphe 2.1), prévoyait l'obligation pour ces derniers de préparer le matériel de référence conformément aux exigences de l'OIE. La Commission a estimé que cette obligation faisait partie intégrante des responsabilités d'un Laboratoire de référence et a examiné différents moyens pour renforcer cette exigence dans le nouveau mandat. Les Laboratoires de référence de l'OIE seraient dûment informés des changements dès l'adoption du nouveau mandat par l'Assemblée. Dans l'immédiat, un bref questionnaire pourrait leur être adressé pour établir un état des lieux et définir les mesures qui s'imposeraient : identification des laboratoires engagés dans la préparation de réactifs de référence, avec indication de leur nature et des quantités produites, existence de collaborations éventuelles avec d'autres Laboratoires de référence pour la préparation des réactifs...

### 4. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres

Pour l'examen de cette question, le Professeur Steve Edwards, consultant/rédacteur du *Manuel terrestre*, s'est joint à la Commission.

#### 4.1. Examen du rapport du consultant/rédacteur sur le *Manuel terrestre*

Comme convenu lors de la réunion précédente de la Commission, le consultant/rédacteur avait examiné la structure générale et le contenu des chapitres du *Manuel terrestre* et remis son rapport à la Commission. Les recommandations principales étaient les suivantes :

- Il conviendrait d'adopter un style et un contenu plus uniformes par le biais de consignes aux auteurs et d'intitulés normalisés au niveau des sous-rubriques.
- Les résumés ne devraient être qu'une courte synthèse des principaux points du chapitre principal (ensemble des sections). Le résumé ne devrait contenir aucune information ne figurant pas dans le corps du chapitre.
- L'introduction devrait se composer de 300 à 600 mots. Elle devrait donner une description de l'agent responsable, des hôtes, des signes cliniques, de la pathologie et de l'épidémiologie (y compris la répartition géographique), et préciser la nature des risques zoonotiques éventuels en évitant des détails excessifs et superflus. Elle devrait aussi fournir des informations sur le niveau de biosécurité auquel l'agent pathogène doit être maintenu.
- Il conviendrait d'insister auprès des auteurs des sections relatives aux techniques de diagnostic pour qu'ils utilisent un cadre cohérent s'appuyant sur des sous-rubriques clairement définies.
- La section pourrait s'ouvrir sur une courte introduction concernant les épreuves disponibles, suivie d'un tableau reprenant les épreuves adaptées à chacun des emplois définis dans le modèle de validation de l'OIE. Les emplois pourraient être présentés sous une forme abrégée, par exemple, « déplacement d'animaux », « diagnostic », « surveillance »...
- Le concept des Épreuves prescrites devrait être soutenu. Il conviendrait de maintenir le dialogue constant avec la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres pour que l'introduction par cette dernière de nouvelles exigences en matière d'épreuves entraîne l'inclusion d'une épreuve adéquate dans le *Manuel terrestre*.
- Les épreuves bien établies, fondées sur des technologies plus anciennes, devraient être conservées dans le *Manuel terrestre* dans l'intérêt des laboratoires qui ne possèdent pas les infrastructures nécessaires à la mise en œuvre des méthodes de haute technologie ; toutefois, les limites de ces épreuves devraient être clairement indiquées.
- La description des épreuves devrait être suffisamment détaillée pour permettre leur emploi ou leur validation par un laboratoire pour un usage local.
- Il conviendrait, pour chaque épreuve, de fournir des informations sur les caractéristiques de performance et l'aptitude à divers emplois.
- La restructuration de la section C « Spécifications applicables aux vaccins » devrait se poursuivre sur la base des recommandations du Groupe ad hoc sur les vaccins associés aux technologies nouvelles et émergentes de l'OIE.
- De nombreux chapitres présentent un manque patent de références bibliographiques. Les auteurs devraient se limiter aux ouvrages apportant des compléments d'informations et éviter de transformer les chapitres en revues bibliographiques exhaustives.

La Commission a approuvé les recommandations du consultant/rédacteur.

Le Professeur Caporale a proposé que le texte conçu pour les chapitres du *Manuel terrestre* soit également utilisé pour les Fiches techniques de l'OIE et le nouvel Atlas des maladies animales transfrontalières. Il a également avancé l'idée de n'inclure aucune nouvelle épreuve dans le *Manuel terrestre* qui n'aurait pas été validée conformément aux normes de l'OIE pour l'emploi déclaré. Il a demandé que cette obligation soit reprise dans les consignes aux auteurs.

#### **4.2. Examen, avant diffusion aux Membres, des chapitres présentés pour adoption en mai 2011**

Le chapitre sur la rage avait été mis à jour avec l'accord unanime des Experts de l'OIE pour cette maladie. Sa diffusion l'an dernier avait suscité de nombreuses réactions de la part des Membres, notamment la section sur les vaccins. Les Experts s'étaient efforcés de prendre tous les commentaires en considération, mais la Commission n'a pas eu la possibilité d'examiner attentivement leur document en raison de sa réception tardive. Dès lors, il a été convenu de diffuser le chapitre contenant la nouvelle version de la section relative aux épreuves diagnostiques mais avec l'ancienne version de la section sur les vaccins, reconnaissable à la mention « à l'étude ». Le consultant/rédacteur poursuivrait sa collaboration avec les auteurs de la section sur les vaccins.

Le chapitre figure à l'annexe IV du présent rapport pour commentaires de la part des Membres. Il serait proposé à l'adoption par l'Assemblée en mai 2011.

Le chapitre sur la peste équine avait fait l'objet de remaniements importants de la part du Groupe ad hoc sur la peste équine. Il a été jugé que les nouvelles épreuves proposées n'avaient pas encore été validées conformément aux normes de l'OIE. La Commission a décidé de surseoir à la proposition d'adoption de ce chapitre jusqu'à l'obtention de données de validation supplémentaires.

#### **4.3. Examen de la liste d'auteurs et de réviseurs**

Voir le paragraphe 2.5 sur la modernisation du *Manuel terrestre*.

#### **4.4. Examen des chapitres en instance de diffusion et sélection de chapitres supplémentaires à proposer en mai 2012**

La Commission a examiné les chapitres actualisés repris plus bas. La diffusion des projets de chapitres mis à jour devrait commencer prochainement. Conformément à la nouvelle procédure de production, les chapitres seraient diffusés une seconde fois pour donner la possibilité aux Membres de vérifier la prise en compte des commentaires préalablement à la présentation de leur version amendée finale pour adoption (en mai 2012) :

- 1.1.3. Gestion de la qualité dans les laboratoires de diagnostic vétérinaire
- 1.1.6. Méthodes de laboratoire utilisées pour les essais d'antibiorésistance
- 2.1.2. Maladie d'Aujeszky
- 2.1.16. Trichinellose
- 2.1.17. Infections à *Trypanosoma evansi* (y compris le Surra)
- 2.3.7. Peste du canard
- 2.3.14. Maladie de Newcastle
- 2.4.1. Anaplasmose bovine
- 2.4.11. Leucose bovine enzootique
- 2.4.12. Septicémie hémorragique
- 2.4.17. Trichomonose
- 2.5.7. Grippe équine
- 2.8.1. Peste porcine africaine

La Commission avait sélectionné les chapitres suivants qui devraient être révisés et si possible présentés pour adoption en mai 2012. Leur mise à jour serait effectuée à la lumière des nouvelles consignes aux auteurs.

- Nouveau chapitre sur la maladie épizootique hémorragique
- 2.1.1. Fièvre charbonneuse
- 2.1.8. Leishmaniose
- 2.1.11. Paratuberculose (maladie de Johne)
- 2.1.14. Fièvre de la Vallée du Rift
- 2.1.15. Peste bovine
- 2.3.11 Typhose et Pullorose
- 2.4.3. Brucellose
- 2.4.9. Péripneumonie contagieuse bovine
- 2.5.2. Métrite contagieuse équine
- 2.7.11. Peste des petits ruminants
- 2.8.3. Peste porcine classique

#### **4.5. Recommandations de l'atelier du GF-TADs<sup>3</sup> intitulé « Le vaccin contre la fièvre de la Vallée du Rift - mise au point, avancées et contraintes » (Rift Valley Fever Vaccine - Development, Progress and Constraints), 19–21 janvier 2011**

La nécessité d'actualiser le chapitre sur la fièvre de la vallée du Rift et notamment la section relative aux vaccins avait été évoquée lors de l'atelier du GF-TADs. Après avoir pris acte du départ à la retraite de l'auteur du chapitre, la Commission a proposé au Directeur général de convoquer la réunion d'un Groupe ad hoc pour examiner cette question.

---

3 GF-TADs : Plan-cadre mondial pour la lutte progressive contre les maladies animales transfrontalières

#### **4.6. Peste bovine – Modification du chapitre du *Manuel terrestre* suite à son éradication mondiale**

La déclaration imminente de l'absence de peste bovine à l'échelle mondiale devrait entraîner quelques modifications dans le chapitre du *Manuel terrestre* consacré à cette maladie. La Commission a noté que les auteurs du chapitre avaient participé aux travaux du Comité conjoint FAO/OIE sur l'éradication de la peste bovine et connaissaient la nature des changements à apporter.

#### **4.7. Le devenir des chapitres du *Manuel terrestre* et des Laboratoires de référence pour les maladies retirées de la liste**

Des divergences d'opinions sont apparues sur le devenir des chapitres du *Manuel terrestre* relatifs à une maladie donnée après son retrait de la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'OIE. Certains membres ont fait valoir que l'intérêt pour la maladie, pour son diagnostic et son contrôle ne disparaissait pas pour autant et que, par conséquent, les chapitres du *Manuel terrestre* la concernant devaient être conservés. D'autres membres, qui redoutaient que l'on donne une importance excessive à ces maladies en conservant leurs chapitres dans le *Manuel terrestre*, ont proposé de publier ces chapitres dans un ouvrage distinct, sans lien avec les normes de l'OIE. Le Président de la Commission a décidé de solliciter l'avis du Conseil et des Membres de l'OIE sur cette question en vue d'élaborer un document d'orientation au niveau de l'organisation qui s'appliquerait à la fois au *Manuel terrestre* et au *Manuel aquatique*.

Lors d'une discussion sur un point connexe, plusieurs membres de la Commission ont exprimé leurs préoccupations quant à certaines maladies proposées à la radiation. Il a été jugé que la Commission devrait avoir la possibilité de réagir au rapport du Groupe ad hoc sur la notification des maladies animales et des agents pathogènes ayant procédé à l'évaluation des maladies sur la base des critères d'inscription sur la liste.

### **5. Résolutions**

#### **5.1. Examen des Résolutions à soumettre en mai 2011**

La Commission a pris note des résolutions suivantes, dont l'adoption sera proposée lors de la Session générale de mai 2011 :

- une résolution proposant l'adoption d'un projet de chapitre pour le *Manuel terrestre* (chapitre sur la rage à l'exclusion de la section sur les vaccins) ;
- une résolution proposant un nouveau kit pour le Registre de l'OIE.

### **6. Conférences, ateliers, réunions**

#### **6.1. Réunion des consultants OIE/FAO/AIEA en vue de l'élaboration d'une feuille de route pour la mise en œuvre des principes et méthodes de l'OIE pour la validation des épreuves diagnostiques**

La Commission a donné son accord de principe à la préparation d'un programme de formation sur la validation s'inspirant du projet de chapitre du *Manuel terrestre* de l'OIE et des annexes sur les « meilleures pratiques ». La Commission avait récemment obtenu le projet de texte pour ce chapitre et ses annexes. Elle a accepté de discuter de la meilleure façon de faire avancer ce projet lors de sa réunion de septembre, après avoir examiné les documents. La convocation des Groupes ad hoc spécialisés constitue l'une des pistes envisagées.

#### **6.2. Le point sur le réseau OFFLU**

Le réseau OFFLU, qui avait connu un essor considérable depuis son lancement en 2005, rassemblait une soixantaine d'experts internationaux des gripes animales dans le cadre de ses divers projets. Il comptait de nombreuses réalisations à son actif : le renforcement d'une collaboration opérationnelle avec le secteur de la santé publique, le développement des capacités des laboratoires dans plusieurs pays et sur tous les continents, la diffusion à grande échelle d'orientations sur la surveillance, le contrôle et la biosécurité, l'élaboration d'un calendrier de recherche sur les gripes animales et l'intensification du partage de données et de matériels biologiques. Au cours de l'année, l'OFFLU avait tenu une réunion technique, en novembre 2010, à Rome, ainsi que des rencontres de gestion semestrielles. L'OIE et la FAO avaient signé un accord de coopération OFFLU-OMS officialisant la contribution de l'OFFLU au processus de sélection de souches vaccinales de l'OMS. Lors de la réunion OFFLU-OMS de février 2011 sur la composition des vaccins, l'OFFLU avait présenté des données antigéniques et génétiques qui avaient été intégrées dans les recommandations sur les candidats vaccins destinés à la protection contre les virus H5N1 et H9N2. Le rapport d'activités de l'année 2010 est disponible à l'adresse : [http://www.offlu.net/OFFLU%20Site/OFFLU\\_Annual\\_Report\\_2010.pdf](http://www.offlu.net/OFFLU%20Site/OFFLU_Annual_Report_2010.pdf).

### 6.3. Conférence de la WAVLD<sup>4</sup>, 6–8 juin 2013, Berlin, Allemagne

La Commission a été informée des dates et du lieu de la prochaine réunion de la WAVLD. Comme le veut la tradition, la première journée du programme serait réservée au Symposium de l'OIE organisé par la Commission. La validation des épreuves pourrait figurer parmi les thématiques abordées.

## 7. Relations avec les autres Commissions

### 7.1. Commission scientifique pour les maladies animales

*Points présentés à la Commission des normes biologiques pour examen ou information :*

*Questions en suspens depuis la dernière réunion de la Commission des normes biologiques :*

Point d'actualisation sur la brucellose et les camélidés

Le Docteur Medhi El Harrak a présenté à la Commission un rapport actualisé sur la situation de la brucellose chez les camélidés. Une étude effectuée dans les Émirats Arabes Unis avait imputé la responsabilité d'une maladie touchant les dromadaires (à l'exclusion des camélidés du Nouveau Monde) à *Brucella melitensis*, malgré des signes cliniques différents de ceux observés chez les bovins. Il n'existait encore aucun protocole de vaccination. Toutefois, le Groupe ad hoc n'avait pas encore préconisé l'introduction d'un chapitre sur la brucellose des camélidés en raison de notre manque de connaissances.

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo : besoin de méthodes de diagnostic

La Commission a reconnu que les Membres avaient besoin d'orientations sur les méthodes de diagnostic et de surveillance de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo. La collaboration du Laboratoire de référence situé en France et des experts d'Afrique du Sud et des Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis d'Amérique sera sollicitée en vue de la préparation d'un texte adapté.

La rage : unité de seuil

Les commentaires du Groupe ad hoc et de la Commission scientifique à propos du chapitre du *Manuel terrestre* sur la rage seraient portés à l'attention de ses auteurs.

*Requêtes de dernière minute :*

Problèmes liés aux vaccins contre la peste porcine classique

La Commission a accepté la proposition du Groupe ad hoc sur la peste porcine classique visant à supprimer toutes les références aux stratégies DIVA dans le chapitre du *Manuel terrestre*. Par ailleurs, la Commission a pris acte du déficit d'informations concernant les stratégies de vaccination.

*Prochains Groupes ad hoc présentant un intérêt éventuel pour la Commission des normes biologiques :*

La Commission a pris note des prochaines réunions suivantes.

- Groupe ad hoc sur la maladie épizootique hémorragique (mars 2011)
- Groupe ad hoc sur la peste des petits ruminants (28-30 juin 2011)
- Groupe ad hoc sur la brucellose (juillet 2011)

### 7.2. Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres

Lors de la Session générale de mai 2010, un Membre avait proposé que le test à l'interféron gamma soit désigné en tant qu'épreuve prescrite pour la tuberculose bovine. La Commission des normes biologiques s'était saisie de la question en 2007-2008. À l'époque, la Commission avait pris la décision suivante :

« La Commission avait demandé l'avis des experts des Laboratoires de référence de l'OIE quant à la pertinence de proposer le test à l'interféron gamma en tant qu'épreuve prescrite pour la tuberculose bovine. Sur la base des réponses reçues, la Commission recommande que ce test soit considéré pour l'instant comme épreuve de substitution pour les échanges internationaux. Étant donné que ce test n'existe que sous forme de trousse commerciale, le fabricant est invité à faire les démarches nécessaires pour inscrire sa trousse au registre de l'OIE, ce qui permettrait de procéder à une évaluation plus complète des données de validation du test. L'interféron gamma est néanmoins

---

4 WAVLD: Association mondiale des spécialistes des laboratoires de diagnostic vétérinaire

largement utilisé pour les besoins du diagnostic et de la surveillance ; la Commission fait observer que cette épreuve est plus sensible mais moins spécifique que le test à la tuberculine, et qu'il conviendrait de l'utiliser pour le dépistage, le test à la tuberculine servant alors de test de confirmation. À l'heure actuelle, c'est l'inverse qui est pratiqué, ce qui semble inapproprié. Il est toutefois important de tenir compte de considérations pratiques telles que la plus grande habitude de réaliser le test à la tuberculine et, dans certains pays, la difficulté d'envoyer les prélèvements sanguins au laboratoire dans des délais préservant la viabilité des lymphocytes, ce qui est un aspect essentiel du test ».

La présente Commission a considéré qu'il n'existait aucune nouvelle information justifiant un changement de sa position.

## **8. Informations sur diverses questions pertinentes**

### **8.1. Groupe d'experts chargé de la surveillance des vaccins contre la grippe équine - Conclusions et recommandations**

La Commission a pris acte du rapport du groupe d'experts qui s'était réuni le 24 janvier 2011 au siège de l'OIE. Les recommandations relatives aux souches virales à intégrer dans le vaccin seraient publiées dans le *Bulletin* de l'OIE.

### **8.2. Activités diverses en matière de biosûreté/biosécurité**

La Commission a pris acte de l'initiative du Groupe de travail visant à assurer une meilleure coordination de la formation en matière de biosécurité et de biosûreté. Les documents seraient transmis au Groupe ad hoc sur les normes de biosécurité et de confinement biologique des laboratoires vétérinaires (paragraphe 2.5)

## **9. Questions diverses**

### **9.1. Programme de travail et activités (à partir du 11 février 2011)**

Voir l'[annexe V](#).

### **9.2. Dates de la prochaine réunion de la Commission des normes biologiques**

La Commission a proposé de tenir sa prochaine réunion du 12 au 16 septembre 2011, sous réserve de confirmation.

### **9.3. Possibilité de faire des présentations aux Conférences des Commissions régionales**

Le Directeur général de l'OIE s'était prononcé en faveur de l'invitation de membres de la Commission aux conférences des Commissions régionales de l'OIE, dans les limites des ressources disponibles et de l'accord des Présidents des Commissions régionales.

### **9.4. Critères de référencement du site Internet d'un réseau sur le site de l'OIE**

La Commission a examiné et validé les critères proposés pour l'insertion d'un lien, sur le site Internet de l'OIE, vers les sites Internet gérés par un réseau de Laboratoires de référence de l'OIE ou de Centres collaborateurs. Le Siège de l'OIE adresserait un courrier au réseau pour la fièvre catarrhale du mouton, qui avait introduit cette demande d'inclusion, afin de déterminer si le réseau s'engagerait à respecter les critères. En cas de réponse positive, un lien vers ce réseau serait placé sur le site Internet de l'OIE.

La Commission a convenu d'élaborer des orientations sur le mode de fonctionnement idéal d'un réseau de Centres de référence de l'OIE qui s'inspirerait dans un premier temps des critères présentés plus haut.

### **9.5. Questions diverses**

Les membres de la Commission ont reconnu qu'ils n'avaient pas besoin des documents de travail imprimés et qu'ils pouvaient travailler sur la version électronique de ces documents sur leur ordinateur portable. En conséquence, les documents de travail ne seraient pas imprimés lors de la prochaine réunion.

---

.../Annexes

## RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES BIOLOGIQUES DE L'OIE

Paris, 8 – 10 février 2011

---

### Ordre du jour

#### 1. Laboratoires de référence et Centres collaborateurs de l'OIE

- 1.1. Candidatures au statut de Laboratoire de référence ou de Centre collaborateur de l'OIE
- 1.2. Changements d'experts dans la Liste des Laboratoires de référence
- 1.3. Rapports annuels d'activités des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE en 2010
- 1.4. Examen des candidatures nouvelles et en instance pour des projets de jumelage entre laboratoires

#### 2. Groupes ad hoc

##### Réunions précédentes des Groupes ad hoc

- 2.1. Rapport de la deuxième réunion du Groupe ad hoc de l'OIE chargé du partenariat scientifique

##### Prochaines réunions des Groupes ad hoc

- 2.2. Groupe ad hoc de l'OIE sur la qualité des vaccins contre la fièvre aphteuse
- 2.3. Groupe ad hoc sur la validation des épreuves pour les animaux sauvages

##### Nouveaux Groupes ad hoc proposés

- 2.4. Groupe ad hoc sur la modernisation du *Manuel terrestre*
- 2.5. Groupe ad hoc sur les normes de biosécurité et de confinement biologique des laboratoires vétérinaires
- 2.6. Réunion du Groupe ad hoc sur les épreuves diagnostiques associées aux technologies nouvelles et émergentes

#### 3 Normalisation et harmonisation internationales

##### a) Tests de diagnostic

- 3.1. État d'avancement des programmes de normalisation des réactifs (aux fins d'harmonisation des tests diagnostiques)
- 3.2. Registre des épreuves de diagnostic de l'OIE : examen des soumissions
- 3.3. Courrier du Délégué de Cuba à l'OIE

##### b) Matériel de référence

- 3.4. Discussion générale sur les moyens requis pour accroître la disponibilité des réactifs de référence

#### 4. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres

- 4.1. Examen du rapport du consultant/rédacteur sur le *Manuel terrestre*
- 4.2. Examen, avant diffusion aux Membres, des chapitres présentés pour adoption en mai 2011
- 4.3. Examen de la liste d'auteurs et de réviseurs
- 4.4. Examen des chapitres en instance de diffusion et sélection de chapitres supplémentaires à proposer en mai 2012
- 4.5. Recommandations de l'atelier du GF-TADs intitulé « Le vaccin contre la fièvre de la Vallée du Rift - mise au point, avancées et contraintes » (Rift Valley Fever Vaccine - Development, Progress and Constraints), 19–21 janvier 2011
- 4.6. Peste bovine – Modification du chapitre du *Manuel terrestre* suite à son éradication mondiale
- 4.7. Le devenir des chapitres du *Manuel terrestre* et des Laboratoires de référence pour les maladies retirées de la liste

## **5. Résolutions**

- 5.1. Résolutions à soumettre en mai 2011

## **6. Conférences, ateliers, réunions**

- 6.1. Réunion des consultants OIE/FAO/AIEA en vue de l'élaboration d'une feuille de route pour la mise en œuvre des principes et méthodes de l'OIE pour la validation des épreuves diagnostiques  
6.2. Le point sur le réseau OFFLU  
6.3. Conférence de la WAVLD, 6-8 juin 2013, Berlin, Allemagne

## **7. Relations avec les autres Commissions**

- 7.1. Commission scientifique pour les maladies animales

*Points présentés à la Commission des normes biologiques pour examen ou information:*

*Questions en suspens depuis la dernière réunion de la Commission des normes biologiques:*

Point d'actualisation sur la brucellose et les camélidés

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo : besoin de méthodes de diagnostic

La rage : unité de seuil

*Requêtes de dernière minute :*

Problèmes liés aux vaccins contre la peste porcine classique

*Prochains Groupes ad hoc présentant un intérêt éventuel pour la Commission des normes biologiques:*

Groupe ad hoc sur la maladie épizootique hémorragique (mars 2011)

Groupe ad hoc sur la peste des petits ruminants (28-30 juin 2011)

Groupe ad hoc sur la brucellose (juillet 2011)

- 7.2. Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres

Test à l'interféron gamma pour la tuberculose bovine

## **8. Informations sur diverses questions pertinentes**

- 8.1. Groupe d'experts chargé de la surveillance des vaccins contre la grippe équine - Conclusions et recommandations  
8.2. Activités diverses en matière de biosûreté/biosécurité

## **9. Questions diverses**

- 9.1. Programme de travail et activités (à partir du 11 février 2011)  
9.2. Dates de la prochaine réunion de la Commission des normes biologiques  
9.3. Possibilité de faire des présentations aux Conférences des Commissions régionales  
9.4. Critères de référencement du site Internet d'un réseau sur le site de l'OIE  
9.5. Questions diverses
-

## RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES BIOLOGIQUES DE L'OIE

Paris, 8 – 10 février 2011

## Liste des participants

## MEMBRES

**Professeur Vincenzo Caporale**  
(Président)

Director, Istituto Zooprofilattico  
Sperimentale dell'Abruzzo  
e del Molise 'G. Caporale'  
Via Campo Boario, 64100 Teramo  
ITALIE  
Tél. : (39.0861) 33 22 33  
Fax : (39.0861) 33 22 51  
direttore@izs.it

**Docteur Beverly Schmitt**  
(Vice-président)

National Veterinary Services  
Laboratories, Diagnostic Virology  
Laboratory, P.O. Box 844, Ames,  
IA 50010 ÉTATS-UNIS  
D'AMÉRIQUE  
Tél. : (1-515) 663.75.51  
Fax: (1-515) 663.73.48  
beverly.j.schmitt@aphis.usda.gov

**Docteur Mehdi El Harrak**  
(Secrétaire général)

Chef Département Virologie, BP 4569,  
Avenue Hassan II, km2, Rabat-Akkari  
MAROC  
Tél.: (212-37) 69.04.54  
Fax : (212-37) 69.36.32  
elharrak\_m@hotmail.com

**Docteur Paul Townsend**  
(Membre)

Veterinary Laboratories Agency  
New Haw  
Addlestone  
Surrey KT15 3NB  
ROYAUME-UNI  
Tél.: (44 1932) 341 111  
Fax : (44 1932) 357 838  
p.townsend@vla.defra.gsi.gov.uk

**Docteur Alejandro Schudel**  
(Membre)

Urraca 1366  
Carilo, (7167)  
Partido de Pinamar  
Provincia de Buenos Aires  
ARGENTINE  
Tél. : (54) 2254 571563  
Fax : (54) 2254 571563  
alejandro.schudel@gmail.com

**Docteur Hualan Chen**  
(Membre) (Invité excusé)

National Avian Influenza Reference  
Laboratory, Animal Influenza  
Laboratory of the Ministry of  
Agriculture, Harbin Veterinary  
Research Institute, CAAS  
427 Maduan Street, Harbin 150001  
CHINE (RÉP. POPULAIRE DE)  
Tél. : (+86-451) 8593.5079  
Fax : (+86-451) 8273.3132  
hlchen1@yahoo.com

## EXPERT INVITÉ

**Docteur Peter Wright**

Fisheries and Oceans Canada,  
343 University Avenue, Moncton,  
New Brunswick, NB E1C 9B6  
CANADA  
Tél. : (1-506) 851.29.48  
Fax : (1-506) 851.20.79  
WrightPf@DFO-MPO.GC.CA

CONSULTANT/RÉDACTEUR DU  
MANUEL TERRESTRE**Professeur Steven Edwards**

c/o OIE 12 rue de Prony  
75017 Paris, FRANCE  
Tél. : (33-1) 44.15.18  
Fax : (33-1) 42.67.09  
steve-oie@cabanas.waitrose.com

## SIÈGE DE L'OIE

**Docteur Bernard Vallat**

Directeur général  
OIE 12 rue de Prony  
75017 Paris, FRANCE  
Tél.: (33-1) 44.15.18  
Fax : (33-1) 42.67.09  
oie@oie.int

**Docteur Kazuaki Miyagishima**

Directeur général adjoint  
Chef du  
Service scientifique et technique  
k.miyagishima@oie.int

**Docteure Elisabeth Erlacher-Vindel**

Adjointe au Chef du  
Service scientifique et technique  
e.erlacher-vindel@oie.int

**Mme Sara Linnane**

Secrétaire de rédaction,  
Service scientifique et technique  
s.linnane@oie.int

**Docteur François Diaz**

Secrétariat pour la validation, la  
certification et l'enregistrement des  
épreuves de diagnostic, Service  
scientifique et technique  
f.diaz@oie.int

**Docteur Keith Hamilton**

Coordinateur de l'OFFLU  
Service scientifique et technique  
k.hamilton@oie.int



**RAPPORT DE LA DEUXIÈME RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE  
CHARGÉ DU PARTENARIAT SCIENTIFIQUE ENTRE LES LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE  
ET LES CENTRES COLLABORATEURS DE L'OIE**

**Paris, 18-20 janvier 2011**

---

**1. Ouverture, désignation du président et du rapporteur, adoption de l'ordre du jour**

La deuxième réunion du Groupe ad hoc de l'OIE chargé du partenariat scientifique entre les Laboratoires de référence et les Centres collaborateurs de l'OIE s'est tenue au siège de l'OIE à Paris, du 18 au 20 janvier 2011. Le Docteur Kazuaki Miyagishima, adjoint du Directeur général de l'OIE et chef du Service scientifique et technique a accueilli les participants.

Le Docteur Miyagishima a fait le point sur les travaux accomplis jusqu'alors par le Groupe ad hoc et sur les échanges qui avaient eu lieu entre la Commission des normes biologiques et le Conseil de l'OIE, y compris sur les points de divergence entre ces deux entités. Il a expliqué que les propositions définitives d'amendements aux textes des mandats et règlements intérieurs respectifs des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE seraient présentées par le Conseil à l'Assemblée mondiale des Délégués en vue de leur adoption, ces documents faisant partie du recueil des Textes fondamentaux de l'OIE.

Le Professeur Vincenzo Caporale, Président de la Commission des normes biologiques, a précisé qu'il y avait (en mai 2010) 35 Centres collaborateurs de l'OIE couvrant plusieurs domaines d'expertise, mais que ces Centres ne travaillaient pas assez en réseau.

Le Professeur Caporale a présidé la réunion ; le Docteur Alf-Eckbert Füssel a été désigné rapporteur.

L'ordre du jour de la réunion a été adopté, mais le Groupe a pris note que la présente réunion serait essentiellement consacrée à l'examen du mandat et du règlement intérieur des Centres collaborateurs de l'OIE. L'ordre du jour de la réunion adopté sans modification et la liste des membres du Groupe ad hoc et des autres participants figurent aux annexes I et II du présent rapport.

**2. Examen du mandat de la réunion du Groupe ad hoc**

Le Groupe ad hoc avait adopté le mandat le concernant lors de sa première réunion ; celui-ci figure à l'annexe III du présent rapport.

**3. Mandat et règlement intérieur des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE**

Le Docteur Vallat, qui s'est joint à la réunion le mercredi 19 janvier, a rappelé que le principal objet du Groupe était de constituer une cellule de réflexion sur la meilleure manière de maintenir et d'améliorer le niveau de qualité des Centres collaborateurs de l'OIE et de développer leur capacité à travailler en réseaux. Compte tenu du nombre important de Centres déjà institués, et du nombre croissant de nouvelles candidatures, l'OIE a estimé nécessaire de fixer de nouvelles orientations en la matière et de mettre en place une politique de contrôle de la qualité. Le Groupe a été chargé de réviser le mandat et le règlement intérieur des Centres collaborateurs de l'OIE afin d'apporter des éclaircissements sur leurs méthodes de travail, leurs missions et leurs rôles respectifs, tout en préservant une certaine marge de flexibilité.

Le Docteur Vallat a confirmé que le Conseil avait recommandé de ne pas établir plus d'un Centre collaborateur par spécialité dans chaque région. Dans l'immédiat, cette politique ne devrait pas affecter le statut des Centres collaborateurs existants. Le Docteur Vallat a souligné la nécessité de développer le réseau de Centres collaborateurs et d'étendre leur distribution géographique dans les pays en développement. Les futures règles devront dissuader les candidatures communes intercontinentales en vue de former un seul Centre collaborateur, car cette démarche complique les procédures de suivi appliquées par le Siège de l'OIE.

Le Docteur Vallat a fait le point pour le Groupe sur la collaboration entre les Laboratoires de référence et les Centres collaborateurs de l'OIE et d'autres organisations : lors de la prochaine réunion tripartite FAO/OIE/OMS, l'OIE demandera aux deux autres organisations de tenter de prendre en compte les Laboratoires de référence et les Centres collaborateurs de l'OIE au moment de choisir leurs propres centres de référence.

Le Groupe a estimé que le mandat des Laboratoires de référence de l'OIE pourrait mentionner les activités de diagnostic ainsi que la fourniture d'assistance technique dans le domaine de la lutte contre les maladies.

Le Groupe a estimé que les Représentations régionales de l'OIE et, le cas échéant, sous-régionales, devraient être associées au processus d'approbation des Centres collaborateurs. De surcroît, le mandat des Centres collaborateurs a une portée mondiale, bien que les Centres soient approuvés à une échelle régionale. Après une discussion approfondie, le Groupe a finalement décidé que la désignation des Centres collaborateurs devrait être déterminée, en priorité, par le besoin plutôt que par l'offre.

Le Groupe a accepté le principe qu'un Centre collaborateur soit constitué de plusieurs institutions formant un réseau de compétences, à la condition que leurs responsabilités respectives soient clairement énoncées aux termes d'un accord entre ces institutions, et que celles-ci appartiennent à une même région.

Un examen de la liste actuelle des Centres collaborateurs a révélé que le mandat de certains Centres couvrait des domaines très larges, ce qui n'était pas toujours utile pour les personnes qui recherchent une assistance et un soutien dans un domaine particulier. Ne voyant aucune raison de limiter à une seule le nombre des désignations attribuées à une institution, le Groupe a néanmoins estimé nécessaire de scinder les thèmes trop vastes en plusieurs thèmes plus précis, ce qui se traduirait par la mise en place de plusieurs Centres collaborateurs au sein d'une même institution. Cette mesure facilitera la préparation des rapports annuels et la gestion des Centres collaborateurs.

Le Groupe a fait l'inventaire des domaines d'expertise et de compétence actuellement couverts par les Centres collaborateurs de l'OIE ; il en est ressorti que les catégories de spécialités couvertes sont au nombre de 13 (voir l'[annexe IV](#) jointe au présent rapport). Le projet d'inventaire n'est pas exhaustif et les spécialités sont susceptibles de varier ou d'être adaptées en fonction des besoins de l'OIE et des futures candidatures présentées par les institutions. Cet inventaire, destiné à faciliter l'analyse des écarts devra être affiné en consultation avec les Centres concernés.

A l'avenir, chaque candidature devra indiquer la catégorie thématique à laquelle elle prétend, le cas échéant, afin de faciliter l'harmonisation des intitulés des Centres et la mise en place de réseaux de Centres collaborateurs.

Compte tenu du volume de demandes qui visent des champs d'expertise bien précis, et de la nécessité de respecter la règle d'avoir un seul Centre par spécialité et par région, il sera peut-être judicieux de diviser certaines régions en sous-régions, en autorisant exceptionnellement la désignation de Centres collaborateurs dans ces sous-régions.

La Groupe a recommandé de ne pas révoquer les Centres existants, même dans les cas où certaines spécialités sont couvertes par plusieurs Centres collaborateurs dans une même région. En revanche, à l'avenir cet aspect devra être pris en compte lors de l'examen des nouvelles candidatures. L'OIE veillera toutefois à scruter avec régularité les activités des Centres collaborateurs.

### **Conclusions :**

Les conclusions du Groupe sont les suivantes :

- aucun argument ne s'oppose sérieusement à la désignation de plusieurs Centres collaborateurs au sein d'une même institution ;
- la possibilité d'un Centre collaborateur multinational devrait être envisageable au sein d'une même région ;
- l'établissement de Centres collaborateurs constitués par plusieurs sites devraient être possible ;

- les Centres collaborateurs désignés pour plusieurs thèmes devraient être scindés en plusieurs Centres collaborateurs traitant chacun d'un thème plus spécifique et précis (il conviendra de privilégier la désignation de Centres collaborateurs pour des thèmes spécifiques et bien définis) ;
- les désignations des Centres collaborateurs devraient être déterminées par le besoin et l'OIE devrait adopter une démarche proactive pour identifier les catégories de spécialités pour lesquelles il existe un besoin, ainsi que pour concevoir des réseaux de Centres collaborateurs regroupés en catégories de spécialités ;
- l'OIE devrait s'efforcer de répartir les Centres collaborateurs en recherchant un équilibre régional.

Le Groupe a révisé le texte du mandat des Centres collaborateurs actuellement en vigueur, en l'harmonisant autant que possible avec celui adopté pour les Laboratoires de référence et en introduisant les notions suivantes :

- les spécialités,
- le développement des réseaux, et
- la répartition régionale.

Le texte du mandat révisé des Centres collaborateurs figure à l'annexe V du présent rapport.

Le Groupe a révisé le texte du règlement intérieur actuel des Centres collaborateurs en l'harmonisant autant que possible avec celui adopté pour les Laboratoires de référence et en introduisant les notions suivantes :

- fonctionnement durable ;
- responsabilités du Délégué ;
- approbation des Directeurs des Centres collaborateurs ;
- centres répartis sur plusieurs sites ;
- possibilité d'accueillir plusieurs centres au sein d'une même institution ;
- catégorisation des thèmes ;
- désignation d'un seul centre par région / exceptionnellement par sous-région ;
- application de procédures transparentes et objectives pour approuver et révoquer les désignations.

Le texte du règlement intérieur révisé des Centres collaborateurs figure à l'annexe V du présent rapport.

En se basant sur les modifications apportées au mandat et au règlement intérieur, et sur le document de travail préparé par le Groupe de travail de l'OIE sur le bien-être animal intitulé « Centres collaborateurs pour le bien-être animal : vision, stratégie et critères d'éligibilité », le Groupe a corrigé les Recommandations pour les candidatures au statut de Centre collaborateur de l'OIE.

Le texte amendé des Recommandations pour les candidatures au statut de Centre collaborateur de l'OIE figure à l'annexe V du présent rapport.

Les corrections apportées aux documents relatifs aux Centres collaborateurs ont été reportées sur les textes équivalents applicables aux Laboratoires de référence, à savoir le mandat et le règlement intérieur des Laboratoires de référence et les Recommandations pour les candidatures au statut de Laboratoire de référence de l'OIE. En particulier, le Groupe a proposé d'introduire les changements suivants au texte du mandat des Laboratoires de référence :

1. pour indiquer que l'OIE pouvait demander au Laboratoire de référence de réaliser des études, et non seulement d'en assurer la coordination :  
«- **Réaliser et/ou coordonner des études** scientifiques et techniques en collaboration avec d'autres laboratoires, **centres** ou organisations ; »
2. pour tenir compte d'une recommandation relative à la validation des tests, émanant de la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques :  
«- de développer, **normaliser et valider conformément aux normes de l'OIE** de nouvelles méthodes de diagnostic et de contrôle **de ces agents pathogènes et maladies en rapport avec ces domaines** ; »

Le Groupe a manifesté sa préoccupation concernant les normes actuelles de l'OIE sur la validation, qui ne lui ont pas toujours paru adaptées au but recherché ; il a recommandé que ces normes soient révisées, en prenant davantage en compte les aspects pratiques, l'efficacité économique, la charge de travail, etc. associés à ces tests, plutôt que les seules performances des tests.

Le texte révisé du mandat et du règlement intérieur des Laboratoires de référence figurent à l'annexe VI du présent rapport.

Le Groupe a jugé que les « experts désignés de l'OIE » ne représentaient pas toujours l'ensemble des disciplines et des champs de compétences des Laboratoires de référence de l'OIE pour lesquels ils étaient désignés. Toutefois, la question de la désignation d'un « expert suppléant » relevait de la politique et des principes généraux de l'OIE et devrait être examinée par la Commission des normes biologiques.

#### **4. Autres points de l'ordre du jour**

Conformément à la décision prise lors de l'adoption de l'ordre du jour, le Groupe n'a pas examiné les autres points qui y étaient inscrits.

#### **5. Adoption du rapport**

Le Groupe n'a pas eu le temps de procéder à l'adoption du rapport de sa réunion. Il a décidé de terminer la rédaction du rapport par courrier.

---

.../ Annexes

**DEUXIÈME RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE CHARGÉ DU PARTENARIAT SCIENTIFIQUE  
ENTRE LES LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE ET LES CENTRES COLLABORATEURS DE L'OIE**

**Paris, 18-20 janvier 2011**

---

**Ordre du jour**

1. Ouverture, désignation du président et du rapporteur, adoption de l'ordre du jour
  2. Termes de référence de la réunion du Groupe ad hoc
  3. Mandat et règlement intérieur des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE
    - Examiner ces documents et proposer des mises à jour si nécessaire
  4. Questions diverses
  5. Adoption du rapport
-

Annexe II**DEUXIÈME RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE CHARGÉ DU PARTENARIAT SCIENTIFIQUE  
ENTRE LES LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE ET LES CENTRES COLLABORATEURS DE L'OIE**

Paris, 18–20 janvier 2011

---

**Liste des participants****MEMBRES**

---

**Prof. Vincenzo Caporale**

(Président de la Commission des normes  
biologiques de l'OIE)  
Directeur, Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale'  
Via Campo Boario, 64100 Teramo  
ITALIE  
Tél. : (39.0861) 33 22 33  
Fax : (39.0861) 33 22 51  
direttore@izs.it

**Dr Katsuaki Sugiura**

(Vice-Président)  
Food and Agricultural Materials Inspection  
Center  
Shin-toshin 2-1, Chuo-ku, Saitama-shi  
Saitama-prefecture, 330-9731  
JAPON  
Tél. : (81) 50 3797 1860  
Fax : (81) 48 600 2372  
katsuaki\_sugiura@nm.famic.go.jp

**Dr Francisco Javier Reviriego Gordejo**

Chef de secteur  
Commission européenne  
Direction générale Santé et protection des  
consommateurs  
DG SANCO/D1  
Rue Froissart 101-3/72  
1040 Bruxelles  
BELGIQUE  
Tél. : 32 (0) 2 298 47 99  
Fax : 32 (0) 2 295 31 44  
Francisco.reviriego-gordejo@ec.europa.eu

**Dr Kekgonne Edinton Baipoledi**

Deputy Director  
Veterinary Services  
Ministry of Agriculture  
Private Bag 0032  
Gaborone  
BOTSWANA  
Tél. : (267) 397 4235  
Fax : (267) 390 3744  
Portable : (267) 71 410 286  
kbaipoledi@gov.bw

**Dr Alf-Eckbert Füssel**

Adjoint au Chef d'Unité  
Commission européenne  
Direction générale Santé et protection des  
consommateurs  
DG SANCO/D1  
Rue Froissart 101-3/67  
1040 Bruxelles  
BELGIQUE  
Tél. : 32 (0) 2 295 08 70  
Fax : 32 (0) 2 295 31 44  
alf-eckbert.fuessel@ec.europa.eu

**Docteur Craig Carter**

Président de l'AAVLD 2011  
Directeur et Professeur d'épidémiologie  
Université du Kentucky  
Veterinary Diagnostic Laboratory  
P.O. Box 14125  
Lexington, KY 40512-4125  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE  
Tél. : (1.859) 257 8283  
Fax : (1.859) 255 1624  
craig.carter@uky.edu

**SIÈGE DE L'OIE**

---

**Dr Bernard Vallat**

Directeur général  
12, rue de Prony  
75017 Paris  
FRANCE  
Tél. : 33 - (0)1 44 15 18 88  
Fax : 33 - (0)1 42 67 09 87  
oie@oie.int

**Dre Elisabeth Erlacher-Vindel**

Adjointe au Chef du Service scientifique et technique  
e.erlacher-vindel@oie.int

**Mme Sara Linnane**

Secrétaire de rédaction scientifique  
Service scientifique et technique  
s.linnane@oie.int

**Dr Kazuaki Miyagishima**

Adjoint au Directeur général  
Chef du Service scientifique et technique  
k.miyagishima@oie.int

### **MANDAT DU GROUPE AD HOC**

- Examiner et si besoin réviser le mandat, le règlement intérieur et les règles de procédure des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE ;
  - Évaluer la nécessité d'établir des partenariats scientifiques entre laboratoires, et proposer des méthodologies (objectifs, résultats attendus, mesures incitatives) ;
  - Fournir des orientations pour la gestion de ces partenariats (leadership, règles et procédures applicables à la communication de rapports, adhésion, bonnes pratiques).
-

## Annexe IV

**Projet d'inventaire des 13 catégories de spécialités  
et répartition des Centres collaborateurs de l'OIE actuellement désignés**

*(Cet inventaire n'est pas exhaustif ; de nouvelles catégories pourront être ajoutées,  
et les catégories obsolètes pourront être supprimées)*

RÉGION	INSTITUTION	LUTTE CONTRE LES MALADIES	ÉPIDÉMIOLOGIE, SURVEILLANCE, ÉVALUATION DU RISQUE, MODÉLISATION	FORMATION, RENFORCEMENT DES CAPACITÉS	ZOONOSES	FAUNE SAUVAGE	MALADIES AVAIRES	ANIMAUX AQUATIQUES	BIEN-ÊTRE ANIMAL	DIAGNOSTIC, BIOTECHNOLOGIE ET LABORATOIRES	MÉDECINE VÉTÉRINAIRE	VACCINS	SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS	SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS DESTINÉS AUX ANIMAUX
Afrique	Onderstepoort (Afrique du Sud)	X												
Afrique	Université de Pretoria			X		X								
Afrique	Université de Dakar (Sénégal)			X	X					X				
Amériques	CEBASEV (Argentine)			X										
Amériques	ACIA (Canada)				X									
Amériques	CCWHC (Canada)					X								
Amériques	Université australe (Chili)								X					
Amériques	Cuba									X	X	X		
Amériques	Fort Collins (États-Unis)		X							X				
Amériques	NVSL-CVB-IICAB (Ames)									X		X		
Amériques	CDC (États-Unis)				X									
Amériques	Université de Géorgie (États-Unis)						X							
Amériques	Université du Minnesota (États-Unis)			X										
Asie/Océanie	Université Massey (Nouvelle-Zélande + Australie)								X					
Asie/Océanie	CSIRO (Jeggo) (Australie)	X												
Asie/Océanie	CSIRO (Daniels) (Australie)			X										
Asie/Océanie	Université d'Obihiro (Japon)	X												
Asie/Océanie	FAMIC (Japon)													X
Asie/Océanie	Université de Tokyo (Japon)												X	
Asie/Océanie	NIAH+NVAL (Japon)	X									X	X		
Europe	CERVA (Belgique)									X		X		
Europe	Université de Copenhague		X											
Europe	CIRAD/EMVT (France)	X												
Europe	Fougères (France)										X			
Europe	ENSV (France)			X										
Europe	Insel Riems (Allemagne)				X									
Europe	Teramo (Italie)		X	X					X				X	
Europe	IZS Padoue (Italie) (Marangon)						X							
Europe	IZS Padoue (Italie) Capua				X									
Europe	Moscou (Russie)	X											X	
Europe	Vladimir (Russie)	X												
Europe	Uppsala (Suède)									X				
Europe	Weymouth (Royaume-Uni)						X							
International	FAO/AIEA									X				
Amériques/Europe	Université PEI + Norvège						X							

## CENTRES COLLABORATEURS

MANDAT
--------

[Les] Le principal mandat des Centres collaborateurs de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) est ~~font pour~~ mandat principal] :

- de jouer le rôle de centres mondiaux de recherche, d'expertise, de normalisation de techniques et de diffusion des connaissances dans leur spécialité (à savoir, un domaine scientifique/une discipline/un thème central clairement défini) méthodologies applicables dans les domaines de leur compétence ;
- de proposer ou développer toutes méthodes et procédures facilitant l'harmonisation des normes et lignes directrices réglementations internationales applicables à la spécialité pour laquelle ils sont désignés à la surveillance et au contrôle des maladies animales ;
- d'établir et de maintenir un réseau avec d'autres Centres collaborateurs de l'OIE désignés pour la même spécialité, voire, si besoin, avec des Centres collaborateurs désignés pour d'autres disciplines ;
- de recenser et de préserver les compétences existantes, en particulier au sein de la région où ils sont établis ;
- de mettre à disposition de l'OIE des consultants experts.

Les Centres collaborateurs devront En outre, ils peuvent :

- fournir des services à l'OIE, en particulier au sein de la région où ils sont établis, dans la spécialité pour laquelle ils sont désignés, afin de soutenir la mise en œuvre des politiques de l'OIE ; chaque fois que nécessaire, ils collaboreront avec les Laboratoires de référence de l'OIE ;
- assurer la formation scientifique et technique de personnels des Membres de l'OIE dans leur spécialité leurs domaines de compétence ;
- organiser des réunions scientifiques et d'autres activités pour le compte de l'OIE et y participer ;
- réaliser et/ou coordonner des études scientifiques et techniques en collaboration avec d'autres laboratoires, centres ou organisations ;
- réunir, traiter, analyser, publier et diffuser toutes données et informations pertinentes dans leur spécialité de leur domaine de compétence qui soient utiles aux Pays Membres de l'Office.

## CENTRES COLLABORATEURS

**RÈGLEMENT INTÉRIEUR***Article premier*

Les candidatures au titre de Centre collaborateur de l'OIE doivent être adressées au Directeur général par le Délégué du Membre auquel appartient cet établissement, ou par la Commission régionale correspondante.

Les institutions candidates ne présenteront leur candidature qu'après avoir exploré toutes les possibilités de collaborer, le cas échéant, avec un Centre collaborateur de l'OIE déjà désigné dans la région, ou dans la sous-région, pour leur spécialité telle que définie par l'OIE.

*Article 2*

Les candidatures reçues sont présentées par le Directeur général au Conseil, afin que celui-ci procède à leur sélection, après avis de la Commission des normes biologiques ou la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques, selon le cas, spécialisée et de la Commission régionale concernée, à la Commission administrative à l'occasion de ses réunions. Les candidatures sont sélectionnées en respectant la règle de ne pas désigner, dans une même région ou exceptionnellement une sous-région, plus d'un Centre collaborateur par catégorie de spécialité telle que définie par l'OIE et en se basant sur la base de la seule compétence scientifique et technique de l'établissement candidat et sur l'engagement de celui-ci à poursuivre durablement ses activités en tant que « Centre collaborateur de l'OIE ».

*Article 3*

Les candidatures retenues par le Conseil sont présentées à l'approbation de l'Assemblée mondiale des Délégués de l'OIE.

*Article 4*

La désignation du Centre approuvé en tant que « Centre collaborateur de l'OIE » sera notifiée par le Directeur général au Délégué du Membre où est situé le Centre approuvé, ainsi qu'au Directeur de l'institution accueillant le Centre approuvé.

~~Après approbation par l'Assemblée, une notification est adressée, par le Directeur général, au Directeur du Centre collaborateur.~~

*Article 5*

Cette notification ~~confère~~ entraîne le droit, pour le Centre, d'utiliser l'intitulé ~~le nom~~ de "Centre collaborateur de l'OIE" et l'emblème de l'OIE sur tous documents établis à ses qualités par lui.

*Article 6*

Dès qu'il aura été approuvé par l'Assemblée mondiale des Délégués de l'OIE, le Directeur du Centre collaborateur désigné par le Directeur de l'institution accueillant le Centre sera responsable de la mise en œuvre de tous les aspects du mandat du Centre et sera le seul interlocuteur de l'OIE pour ce qui concerne les activités du Centre en tant que Centre collaborateur de l'OIE.

~~En contrepartie des droits cités à l'article 5, le Centre collaborateur s'engage à remplir son mandat avec conscience dans la mesure des moyens dont il dispose, et de fournir un rapport d'activités succinct au terme de chaque année civile. Ce rapport sera diffusé à tous les Membres de l'OIE.~~

*Article 7*

Le Centre fournira, au terme de chaque année civile, un rapport succinct de ses activités en tant que Centre collaborateur de l'OIE, rédigé en suivant le modèle préparé par le Siège de l'OIE. Une copie de ce rapport sera disponible pour l'information des Membres de l'OIE.

Article 87

Le Centre a, à tout moment, le droit de révoquer cette désignation.

Le non respect par un Centre des dispositions de son mandat et du présent règlement entraînera la révocation de sa la désignation en tant que du Centre collaborateur est valable pour quatre ans, aux termes desquels le Directeur général peut soumettre au Comité le renouvellement de cette désignation. Les deux parties ont, à tout moment, le droit de révoquer cette désignation. Dans ces cas, la révocation du Centre sera proposée par le Directeur général de l'OIE à l'Assemblée mondiale des Délégués, après avis de la Commission des normes biologiques ou de la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques, selon le cas et du Conseil.

La même procédure sera appliquée lorsque la désignation d'un Centre collaborateur est considérée comme obsolète.

Article 98

Toute modification importante intervenant au sein du Centre collaborateur ou affectant les dispositions budgétaires et légales encadrant ses activités et susceptible de réduire ses compétences (notamment la qualification du personnel et les moyens matériels ou financiers) doit être immédiatement signalée au Directeur général de l'OIE.

## RECOMMANDATIONS POUR LES CANDIDATURES AU STATUT DE CENTRE COLLABORATEUR DE L'OIE

Les demandes doivent être présentées conformément aux dispositions de l'article 1 du Règlement intérieur et doivent contenir les informations suivantes :

- Nom de l'institution candidate.
- Adresse postale.
- Nom du Directeur de l'institution.
- Nom de l'interlocuteur proposé du Directeur désigné du Centre collaborateur.
- Adresse e-mail et coordonnées téléphoniques.
- Site web (le cas échéant).
- Spécialité pour laquelle le candidat souhaite être désigné ~~Nom proposé du Centre collaborateur et domaine de compétence.~~
- Description ou organigramme du Centre collaborateur proposé et de l'institution qui l'accueille.
- Dispositions légales et budgétaires pertinentes destinées à garantir la pérennité et le bon fonctionnement du laboratoire.
- Récapitulatif des activités récentes relevant de sa spécialité ~~ses compétences~~ en tant que centre de recherche, d'expertise scientifique, de normalisation de techniques et de diffusion des connaissances techniques.
- Récapitulatif des activités récentes concernant le développement de méthodes et de procédures visant à faciliter l'harmonisation des normes et des lignes directrices internationales s'appliquant à la spécialité désignée ~~relevant de ses compétences en matière d'harmonisation de la surveillance et du contrôle international des maladies animales.~~
- Prestations d'experts récentes ou formation scientifique et technique destinée à l'OIE ou à des Membres de l'OIE autres que celui dans lequel est situé le Centre proposé.
- Réunions scientifiques internationales organisées par le Centre collaborateur proposé.
- Liste des activités actuelles relevant du mandat et de la spécialité du Centre, études scientifiques et techniques en cours réalisées en collaboration avec d'autres centres, laboratoires ou organisations.
- Liste des publications récentes de portée internationale dans la spécialité ~~le domaine de compétence~~ proposée.
- Information sur l'expérience professionnelle et les ~~Résumé de carrière~~ et compétences du Chef proposé du Centre et des scientifiques qui travailleront dans le Centre collaborateur proposé, démontrant leurs compétences dans cette spécialité.
- Lorsque plusieurs institutions ou groupes de recherche participent à l'établissement d'un Centre proposé, il conviendra de décrire les dispositions prises en vue de la bonne gouvernance du Centre et garantissant le fonctionnement de chaînes claires de communication et de responsabilité. Il est recommandé que le Membre de l'OIE prenne directement part aux dispositions relatives à la gouvernance, notamment en apportant un soutien financier approprié.

La demande sera traitée par l'OIE conformément aux dispositions des articles 2, 3 et 4 du Règlement intérieur.

## LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE

### MANDAT

~~[Les]~~ Le principal mandat des Laboratoires de référence de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) est ~~[ont pour mandat principal]~~ :

- de jouer le rôle de centres d'expertise de référence à l'échelle mondiale ~~[et de standardisation]~~ pour des agents pathogènes et des ~~[une ou plusieurs]~~ maladies ~~[précises ou certains domaines]-particulières~~ ;
- d'utiliser, de promouvoir et de diffuser des méthodes de diagnostic validées conformément aux normes de l'OIE ;
- de mettre au point des matériels de références conformes aux dispositions de l'OIE, et de mettre en œuvre et promouvoir l'application des normes de l'OIE ;
- de conserver et distribuer aux laboratoires nationaux des produits de référence biologiques ou tous autres réactifs utiles au diagnostic et au contrôle de ces agents pathogènes et ~~[cette ou ces]~~ maladies ~~[ou en rapport avec ces domaines]~~ ;
- de développer, normaliser et valider conformément aux normes de l'OIE de nouvelles méthodes de diagnostic et de contrôle de ces agents pathogènes et maladies ~~[de cette ou ces maladies ou en rapport avec ces domaines]~~ ;
- de recueillir, traiter, analyser et diffuser les données épizootologiques relevant de leur spécialité ;
- de mettre à disposition de l'OIE des consultants experts.

Les Laboratoires de référence de l'OIE devront :

- respecter les droits de propriété intellectuelle liés aux prélèvements qu'ils reçoivent et ne pas utiliser sans consentement les résultats obtenus à une autre fin que celle de déterminer les caractéristiques essentielles de l'agent pathogène, afin que le pays d'origine soit en mesure de réaliser une enquête épidémiologique et d'opter pour la stratégie de contrôle appropriée ;
- établir et maintenir un réseau avec les autres Laboratoires de référence de l'OIE désignés pour le même agent pathogène et la même maladie, et organiser régulièrement des épreuves d'aptitude inter-laboratoires afin de s'assurer que les résultats obtenus sont comparables ;
- en cas des résultats confirmés positifs pour une maladie de la liste de l'OIE, informer immédiatement le Délégué du Membre d'où proviennent les prélèvements ainsi que le siège de l'OIE ;

Sur demande, les Laboratoires de référence de l'OIE devront ~~[Ils peuvent également contribuer à]~~ :

- assurer la formation scientifique et technique des personnels des Membres de l'OIE ;
- recommander les épreuves ou les vaccins prescrits et de substitution ;
- mettre des services de diagnostic à disposition des Membres et leur fournir des recommandations scientifiques et techniques sur les mesures de lutte contre les maladies ;

~~[En cas des résultats confirmés positifs pour une maladie à déclaration obligatoire auprès de l'OIE, le Laboratoire de référence devra en informer immédiatement le Délégué du pays ou territoire Membre dont proviennent les prélèvements ainsi que le siège de l'OIE ;]~~

- organiser des ~~[Organisation de]~~ réunions scientifiques pour le compte de l'OIE et y participer ;

- réaliser et coordonner des études scientifiques et techniques en collaboration avec d'autres laboratoires, Centres ou organisations ;
  - organiser des épreuves d'aptitude avec d'autres laboratoires que les Laboratoires de référence de l'OIE pour les mêmes agents pathogènes et maladies, afin de s'assurer de l'équivalence de résultats ;
  - publier et diffuser toutes informations de leur domaine de compétence qui soient utiles aux Membres de l'OIE.
-

## LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE

### RÈGLEMENT INTÉRIEUR

#### Article 1

Les candidatures au titre de Laboratoire de référence de l'OIE doivent être adressées au Directeur général par le Délégué du Membre auquel appartient ce Laboratoire ~~[ou par la Commission régionale correspondante]~~.

#### Article 2

Les candidatures reçues sont présentées par le Directeur général au Conseil afin que celui-ci procède à leur sélection lors de ses réunions annuelles, après concertation avec la Commission des normes biologiques ou la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques selon le cas. Les candidatures sont sélectionnées sur la base de la seule compétence scientifique et technique des ~~[experts proposés par les]~~ Laboratoires candidats, en particulier leur engagement à jouer durablement leur rôle de Laboratoire de référence de l'OIE et l'excellence des experts proposés.

#### Article 3

Les candidatures retenues par le Conseil sont présentées à l'approbation de l'Assemblée mondiale de Délégués de l'OIE.

#### Article 4

Le Directeur général notifie au Délégué auprès de l'OIE du Membre auquel appartient le laboratoire retenu, ainsi qu'au responsable du [aux] Laboratoire[s] retenu[s-leur] sa désignation en qualité de « Laboratoire de référence de l'OIE ».

#### Article 5

Cette notification entraîne le droit, pour le Laboratoire, d'utiliser le titre de « Laboratoire de référence de l'OIE » et l'emblème de l'OIE sur tous documents établis en qualité par lui ~~[, et le droit pour le spécialiste désigné dans le Laboratoire de porter le titre d'expert de l'OIE].~~

#### Article 5 bis

Le responsable du laboratoire est chargé de la mise en œuvre effective du mandat.

#### Article 6

L'approbation de la désignation par la Commission des normes biologiques ou, le cas échéant, par la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques confère au spécialiste proposé par le Laboratoire le droit de porter le titre d'« expert de l'OIE ».

#### Article 6 bis

L'expert de l'OIE est responsable de la mise en œuvre des aspects techniques du mandat ; il est soumis au [Les experts de l'OIE exercent leurs activités dans le cadre du] « règlement applicable aux experts de l'OIE ». Les experts de l'OIE peuvent déléguer certaines responsabilités spécifiques à d'autres experts pour la maladie considérée, travaillant au sein du Laboratoire de référence.

#### Article 7

~~[En contrepartie des]~~ Les droits cités à l'article 5 et à l'article 6 supposent que ~~[, le Laboratoire et l'expert s'engagent à remplir avec conscience]~~ le mandat de Laboratoire de référence de l'OIE soit intégralement respecté. ~~[dans la mesure des moyens dont ils disposent,]~~ Le Laboratoire fournira ~~[fournir]~~ un rapport succinct ~~[d'activités]~~ de ses activités en tant que Laboratoire de référence de l'OIE, conformément au modèle établi par le siège de l'OIE, au terme de chaque année civile [de leur mandat]. Une copie de ce [Ce] rapport sera disponible pour l'information des [est diffusé à tous les] Membres de l'OIE.

Article 7 bis

Les Laboratoires de référence disposeront d'un système d'assurance qualité, de biosécurité et de biosûreté adapté à l'agent pathogène et à la maladie considérée.

Article 8

Le Laboratoire a [Les deux parties ont], à tout moment, le droit de révoquer cette désignation.

Tout Laboratoire de référence ne respectant pas les dispositions de son mandat et du présent règlement verra sa [La] désignation révoquée. Dans ce cas, est valable pour quatre ans, aux termes desquels le Directeur général de l'OIE, après concertation avec la Commission des normes biologiques ou, le cas échéant, avec la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques, et le Conseil, [peut] proposer à l'Assemblée mondiale des Délégués la révocation [le renouvellement] de cette désignation.

La même procédure sera appliquée lorsque la désignation d'un Laboratoire de référence est considérée comme obsolète.

Le Laboratoire a [Les deux parties ont], à tout moment, le droit de révoquer cette désignation.

Article 9

Toute modification importante intervenant au sein du Laboratoire ou affectant les dispositions budgétaires et légales encadrant ses activités et susceptible de réduire ses compétences (notamment le retrait de l'expert désigné) doit être immédiatement signalée au Directeur général de l'OIE.

---

## RECOMMANDATIONS POUR LES CANDIDATURES AU STATUT DE LABORATOIRE DE RÉFÉRENCE DE L'OIE

1. Nom de l'expert (insérer un ~~[bref et]~~ simple curriculum vitae ainsi que tout élément d'information susceptible de démontrer la reconnaissance internationale de ses compétences : publications dans des revues à comité de lecture, prix et récompenses, appartenance à des conseils universitaires de haut niveau, par exemple).
2. Nom et adresse du laboratoire (numéros de téléphone et de télécopie, adresse électronique, site Internet).
3. Nom du responsable du laboratoire (Chef de laboratoire) ~~[Directeur]~~.
- 3a. Dispositions légales et budgétaires pertinentes destinées à garantir la pérennité et le bon fonctionnement du laboratoire.
4. Expérience dans les épreuves de diagnostic pour la maladie en conformité avec les normes de l'OIE (indiquer le nombre approximatif d'épreuves réalisées annuellement pour chaque technique).
5. Compétences additionnelles[;] en matière de techniques diagnostiques ~~[par exemple dans les]~~ (techniques de caractérisation de l'agent de la maladie, techniques moléculaires, techniques d'anticorps monoclonaux, etc.), d'épidémiologie et de lutte contre la maladie.
6. Expérience dans la normalisation et la validation des épreuves de diagnostic.
7. Capacité de production de réactifs (indiquer le détail des stocks actuels de réactifs pour la maladie).
8. Capacité de réception et d'expédition internationale des prélèvements en temps voulu conformément aux spécifications en matière de transport et d'emballage des matériaux biologiques exposées au chapitre 1.1.1 du dans le Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE [sixième édition, 2008], ainsi que dans le Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE et le Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'OIE.
- 8a. Garanties visant le respect par le personnel du caractère confidentiel de certains sujets, résultats ou communications.
9. Projets en cours et réalisés de recherches et de mise au point de méthodes appliqués à la maladie, y compris une liste des publications sur la question.
10. Formation et expérience en matière de consultation pour la maladie dans les deux dernières années (cours proposés, nombre de personnes formées, exemples de consultations internationales).
11. Contribution à l'élaboration ou à la critique de documents de référence (chapitres pour le *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les maladies des animaux terrestres*, *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques*, fiches techniques, etc.).

La demande sera traitée par l'OIE conformément aux dispositions des articles 2, 3 et 4 du Règlement intérieur.



## CHAPTER 2.1.13.

## RABIES

## SUMMARY

Rabies is a major zoonosis for which diagnostic techniques have been standardised inter-nationally. As there ~~is no~~ are neither gross pathognomonic lesions nor specific and constant clinical signs for rabies, accurate diagnosis can only be made in the laboratory. Laboratory techniques are preferably undertaken ~~conducted~~ on central nervous system (CNS) tissue removed from the cranium (specifically, brain stem, Ammon's horn, thalamus, cerebral cortex and medulla oblongata ~~and the cerebellum~~). A composite of CNS samples should be tested and the brain stem is the most important component of the sample.

**Identification of the agent:** Agent identification is preferably undertaken ~~done~~ using the fluorescent antibody test (FAT). A drop of purified immunoglobulin previously conjugated with fluorescein isothiocyanate (FITC) is added onto an acetone-fixed brain tissue smear, preferably made from several parts of the brain stem central nervous system. FAT provides a reliable diagnosis in 98–100% of cases for all rabies virus strains ~~serotypes~~ if a potent conjugate is used. For a large number of samples, as in an epidemiological survey, the polymerase chain reaction (PCR) ~~or immunoenzyme techniques~~ can provide rapid results in specially equipped laboratories.

Infected neuronal cells have been demonstrated by histological tests and these procedures will reveal aggregates of viral material ('Negri bodies') in the cytoplasm of neurones. However, the sensitivity of histological techniques is are much less sensitive than that of immunological methods, especially if there has been some autolysis of the specimen in the case of autolysed specimens. Consequently, histological techniques can no longer be recommended for primary diagnosis, ~~and should only be used for confirmatory purposes~~.

~~As a single negative test on fresh material does not rule out the possibility~~ In cases of infection, inconclusive results from FAT, or in all cases of human exposure, further tests (cell culture or mouse inoculation tests) on the same sample or repeat FAT on other samples are recommended ~~should be carried out simultaneously~~. A monolayer culture of susceptible cells is inoculated with a pool of several CNS tissues, including the brain stem. FAT undertaken ~~carried out~~ after appropriate incubation will demonstrate the presence or absence of viral antigen. Alternatively, newborn or 3–4-week-old mice may be inoculated intracerebrally with a similar pool of tissues and then kept under observation for 28-days. For any mouse that dies between 5 and 28-days post-inoculation, the cause of death should be confirmed by FAT. Wherever possible, virus isolation in cell culture should replace mouse inoculation tests.

The identification of the agent can be supplemented in specialised laboratories by identifying any variant virus strains through the use of monoclonal antibodies, specific nucleic acid probes, or the polymerase chain reaction followed by DNA sequencing of genomic areas. Such techniques can distinguish between field and vaccine strains, and identify the geographical origin of the field strains. These very sensitive tests should be used by well trained personnel in specialised laboratories.

**Serological tests:** Virus neutralisation (VN) assays in cell cultures are the prescribed tests for checking vaccination responses prior to international animal movement or trade. Results are expressed in International Units relative to an international standard antiserum. Alternatively, use may be made of a validated tests that is are known to correlate with these, notably an enzyme-linked immunosorbent assays using antibody to the G protein or the whole virus neutralisation test in mice. Results are expressed in International Units or equivalent units relative to an international standard antiserum.

45 **Requirements for vaccines:** Rabies vaccines for use in animals contain either live virus attenuated for  
 46 the target species (such as Flury low egg passage, Flury high egg passage, Street-Alabama-Dufferin or  
 47 Kelev), or virus inactivated by chemical or physical means, or recombinant vaccines. The virus is  
 48 cultivated in embryonated egg, or in cell cultures.

49 Rabies vaccines are usually lyophilised, but inactivated virus vaccines, preferably with an adjuvant, may  
 50 be stored in liquid form.

51 Before newly developed vaccines can be licensed, the duration of immunity resulting from their use  
 52 should be determined in vaccinated animals of the target species. Vaccines should confer protective  
 53 immunity for at least 1 year.

54 For live virus vaccines, the minimum virus content that will elicit an adequate a protective immune  
 55 response must be established.

56 The potency of inactivated virus vaccines is established and controlled by mouse vaccination followed by  
 57 intracerebral challenge using tests formulated by the United States Department of Agriculture in the  
 58 United States of America or the European Pharmacopoeia elsewhere. The final products of both types of  
 59 vaccine are subjected to tests for innocuity and absence of toxicity.

60 For live vaccines that are prepared for oral vaccination of wild (or domestic) animals, safety and efficacy  
 61 in target animals and safety in non-target species must be demonstrated.

## 62 A. INTRODUCTION

63 Rabies is caused by a neurotropic viruses of the genus *Lyssavirus* in the family Rhabdoviridae, and is transmissible to  
 64 all mammals. As the viruses it is are transmissible to humans by inoculation or inhalation of infectious virus, all  
 65 suspected infected material must be handled under the appropriate safety conditions specified by the World Health  
 66 Organization (WHO, 1996).

67 Seven Eleven distinct genetic lineages species can be distinguished within the genus, *Lyssavirus* by cross-protection  
 68 tests and molecular biological analysis (Bourhy *et al.*, 1993) namely classical rabies virus itself (RABV, genotype 1,  
 69 serotype 4), Lagos bat virus (LBV, genotype 2, serotype 2), Mokola virus (MOKV, genotype 3, serotype 3), Duvenhage  
 70 virus (DUVV, genotype 4, serotype 4), European bat lyssaviruses type-1 subdivided into two biotypes (EBLV1, genotype  
 71 5) and type-2 (EBLV2, genotype 6), and Australian bat lyssavirus (ABLV, genotype 7) and four lyssaviruses (Aravan  
 72 virus [ARAV], Khujand virus [KHUV], Irkut virus [IRKV], and West Caucasian bat virus [WCBV]), which have been  
 73 isolated from Eurasian bats, and have recently been ratified as new lyssavirus species (ICTV). In addition, a newly  
 74 identified lyssavirus (Shimoni bat virus) has been isolated from a bat in Kenya (Kuzmin *et al.* 2010) and is awaiting  
 75 official classification. isolated in Australia (30), are also members of the *Lyssavirus* genus, but are not yet classified into  
 76 serotypes. Viruses of serotypes 2–4, EBLV and ABLV are known as rabies-related viruses.

77 The use of monoclonal antibodies (MAbs) directed against viral nucleocapsid or glycoprotein antigens, and the  
 78 sequencing of defined genomic areas has made possible the definition of numerous subtypes within each serotype.  
 79 Lyssaviruses RABV is found worldwide, and is responsible for the overwhelming majority of reported animal and human  
 80 rabies cases. Other lyssaviruses appear to have more restricted geographical and host range, with the majority having  
 81 been isolated from bats. However, all lyssaviruses tested to date cause clinical disease indistinguishable from classical  
 82 rabies. Conserved antigenic sites on the nucleocapsid proteins permit recognition of all lyssaviruses with modern  
 83 commercial preparations of anti-rabies antibody conjugates used for diagnostic tests on brain tissue.

84 There exist two The Lyssaviruses have been divided into two phylogroups with distinct pathogenicity and  
 85 immunogenicity (Badrane *et al.*, 2001). For RABV, DUVV, EBLV and ABLV, conserved antigenic sites on the surface  
 86 glycoproteins allow cross-neutralisation and cross-protective immunity to be elicited by rabies vaccination. A reduced  
 87 protection with pre-exposure vaccination and with conventional rabies post-exposure prophylaxis was observed against  
 88 IRKV, ARAV, and KHUV (Hanlon *et al.*, 2005) and all of the above-mentioned lyssavirus species were assigned to  
 89 phylogroup 1. Little or no cross-protection against infection with the members of phylogroup 2 (MOKV or and LBV) is  
 90 elicited by rabies vaccination and most anti-rabies virus antisera do not neutralise these lyssaviruses (Badrane *et al.*,  
 91 2001). WCBV does not cross-react serologically with any of the two phylogroups. Four new lyssaviruses rabies related  
 92 viruses (Aravan, Khujand, Irkut, and West Caucasian bat viruses) have been isolated recently from Eurasian bats, and  
 93 have been ratified as are described new putative lyssavirus species. There is a reduced protection with pre-exposure  
 94 vaccination and with conventional rabies post-exposure prophylaxis against all four new bat variants of rabies virus  
 95 (Hanlon *et al.*, 2005). In addition, newly identified bat lyssaviruses have been isolated from Africa and are awaiting  
 96 official classification (Centers for Disease Control and Prevention, [CDC], USA, unpublished data).

97

98 ~~Humans working with suspect material must be vaccinated against lyssaviruses or other pathogens that may be present~~  
 99 ~~in diagnostic samples. The laboratory~~ Laboratories working with lyssaviruses or suspect material must comply with  
 100 national biocontainment and biosafety regulations to protect staff from contact with pathogens and they should also  
 101 comply with the guidelines for Risk Group 3 pathogens in Chapter 1.1.2 Biosafety and biosecurity in the veterinary  
 102 microbiological laboratory and animal facilities.

103 The WHO recommends the preventive immunisation of all exposed staff handling infected or suspect material. The  
 104 immunisation protocol includes three injections, e.g. at days 0, 7, and 28. The serological evaluation of immunisation is  
 105 made 1–3 weeks after the last injection, and checked every 6 months in the case of laboratory workers or every 2 years  
 106 for other diagnosticians. Booster vaccination must be given when the titre falls below 0.5 International Units (IU) per ml.  
 107 In the absence of serological monitoring, the vaccination regimen should consist of a booster vaccination at 1 year and  
 108 thereafter every 1–3 years.

109 As no clinical sign or gross post-mortem lesion can be considered pathognomonic in domestic or wild animals, the  
 110 diagnosis of rabies has to rely on laboratory testing. Serological ~~testing evidence of infection~~ is rarely useful for ante-  
 111 mortem diagnosis because of late seroconversion and the high mortality rate of host species, but is very useful for  
 112 assessing sero-conversion following vaccination and for epidemiological studies ~~although such data may be used in~~  
 113 ~~some epidemiological surveys.~~

## 114 B. DIAGNOSTIC TECHNIQUES

### 115 1. Identification of the agent

116 Clinical observation may only lead to a suspicion of rabies because signs of the disease are not characteristic and may  
 117 vary greatly from one animal to another (43). The only way to ~~undertake~~ perform a reliable diagnosis of rabies is to  
 118 identify the virus or some of its specific components using laboratory tests.

119 As rabies virus is rapidly inactivated, refrigerated diagnostic specimens should be sent to the laboratory by the fastest  
 120 means available. Shipment conditions must be considered to be part of the 'rabies diagnostic chain' and should follow  
 121 international guidelines.

122 Several laboratory techniques may be used, and have been detailed and standardised in the fourth edition of the WHO's  
 123 *Laboratory Techniques in Rabies* (WHO, 1996). The methods vary in their efficiency, specificity and reliability. They are  
 124 classically applied to brain tissue, but they can also be applied with variable sensitivity and specificity though less  
 125 ~~effectively~~ to other organs (e.g. salivary glands). In the brain, rabies virus antigen is particularly abundant in the  
 126 thalamus, pons and medulla. ~~The hippocampus (Ammon's horn), cerebellum and different parts of the cerebrum have~~  
 127 ~~been reported to be negative in 3.9–11.1% of the positive brains. The structure of choice is the thalamus as it was~~  
 128 ~~positive in all cases.~~ It is recommended that a pool of brain tissues that includes the brain stem should be collected and  
 129 tested (Bingham & Van der Merwe, 2002). The most widely used test for rabies diagnosis is the fluorescent antibody  
 130 test (FAT), which is recommended by both WHO and OIE, and is sensitive, specific and cheap. ~~The fluorescent~~  
 131 ~~antibody test (FAT) is sensitive, specific and cheap. In cases of inconclusive results from FAT, or in all cases of human~~  
 132 ~~exposure, further tests on the same sample or repeat FAT on other samples are recommended. This is particular~~  
 133 ~~important where sample autolysis is confirmed or suspected.~~ To reach these parts of the brain, it is necessary to remove  
 134 ~~the entire organ after having opened the skull in a necropsy room. Under some conditions (e.g. in the field or when~~  
 135 ~~sampling for large epidemiological studies), a simplified method of sampling through the occipital foramen (11), or~~  
 136 ~~through the orbital cavity (32), can be used.~~

137 Precautions should be taken when handling central nervous system tissues from suspected rabies cases. Gloves  
 138 should always be worn and precautions must be taken to prevent aerosols. ~~The use of~~ Cutting tools, scissors and  
 139 scalpels, should be used with care to prevent injury and contamination.

#### 140 a**b**) Collection of brain samples

141 Usually the brain is collected following the opening of the skull in a necropsy room, and the appropriate samples  
 142 are collected preferably Ammon's horn, thalamus, cerebral cortex and medulla oblongata. Under some conditions  
 143 (e.g. in the field or when sampling for large epidemiological studies), this step may be impractical under certain  
 144 hazardous if laboratory technicians are not fully trained, or under field conditions. In such cases, there are two  
 145 possible methods of collecting some brain samples without opening the skull:

- 146 • **Occipital foramen route for brain sampling**

147 A 5 mm drinking straw (Barrat & Blancou, 1988) or a 2 ml disposable plastic pipette (47) is introduced into the  
 148 occipital foramen in the direction of an eye. Samples can be collected from the rachidian bulb, the base of the  
 149 cerebellum, hippocampus, cortex, and medulla oblongata. When using a straw it should be pinched between the  
 150 fingers to prevent material escaping when withdrawing. Bovine spongiform encephalopathy

(BSE) should be considered in the differential diagnosis of most cattle that are considered to be 'rabies suspect'. Sampling of Brain specimens for both diseases from cattle can also be done sampled using the 'brain scoop or tool' developed for bovine spongiform encephalopathy (BSE) tissue sampling rather than , yielding a sample suitable for diagnosis of both BSE and rabies straw or pipette. The resulting samples are relatively easily recognised as to the area of brain sampled.

156 • **Retro-orbital route for brain sampling**

157 In this technique (Montano Hirose *et al.*, 1991), a trocar is used to make a hole in the posterior wall of the eye  
158 socket, and a plastic pipette or straw is then introduced through this hole. The sampled parts of the brain are the  
159 same as in the former technique, but they are taken in the opposite direction.

160 **ba) Shipment of samples**

161 During the shipment of Suspect material should be shipped according to for diagnosis (animal heads, brain or  
162 other tissue samples), no risk of human contamination should arise: brains must be placed in a leak-proof rigid  
163 container (animal heads will be wrapped in absorbent material) as prescribed in the International Air Transport  
164 Association (IATA) Dangerous Goods Regulations. These regulations are summarised in Chapter 1.1.1. Collection  
165 and shipment of diagnostic specimens.

166 When it is not possible to send refrigerated samples, other preservation techniques may be used. The choice of  
167 the preservative is dependent on closely linked to the tests to be used for diagnosis:

- 168 • Formalin inactivates the virus, thus virus isolation tests cannot be used and diagnosis depends on using a  
169 modified direct fluorescent antibody test (FAT), polymerase chain reaction (PCR), (less sensitive than FAT  
170 these tests on fresh tissue), immunohistochemistry or histology (Warner *et al.*, 1997);
- 171 • Infectivity at room temperature may be extended for several days if brain material is kept in a mixture of 50%  
172 glycerol in phosphate buffered saline (PBS). Glycerol/PBS slows bacterial action and therefore protects  
173 against the chemical and biological effects of putrefaction. It does not protect against titre decline due to  
174 thermal conditions and therefore, because rabies is thermo-labile, the virus titre will decline during  
175 glycerol/PBS storage. Under normal transport conditions in the tropics, this protection may only be effective  
176 for a matter of several days. Therefore, whenever possible samples in glycerol/PBS saline should be kept  
177 refrigerated. As the virus is not inactivated by glycerol/PBS, all laboratory tests can be used on these  
178 samples.

- 179 • An alternative for the transport of samples for molecular techniques is the use of FTA Gene Guard system  
180 (Picard-Meyer *et al.*, 2007). The FTA paper preserves rabies virus RNA within the fibre matrix allowing the  
181 transport of samples at ambient temperature without specific biohazard precautions for further  
182 characterisation of rabies strains.

183 **c) Routine Laboratory tests**

184 **i) Immunochemical identification of rabies virus antigen**

- 185 • *Fluorescent antibody test*

186 The most widely used test for rabies diagnosis is the FAT, which is recommended by both WHO and OIE.  
187 This 'gold-standard' test may be used directly on a smear, and can also be used to confirm the presence of  
188 rabies antigen in cell culture or in brain tissue of mice that have been inoculated for diagnosis. The FAT gives  
189 reliable results on fresh specimens within a few hours in more than 95–99% of cases. The FAT is sensitive  
190 specific and cheap. The sensitivity of the FAT depends on the specimen (the degree of autolysis and how  
191 comprehensively the brain is sampled, see Section B.1) (Barrat & Aubert, 1995), on the type of lyssavirus and  
192 on the proficiency of the diagnostic staff. Sensitivity may be lower in samples from vaccinated animals due to  
193 localisation of antigen, which is confined to the brainstem. For direct rabies diagnosis, smears prepared from  
194 a composite sample of brain tissue, that includes the brain stem, are fixed in 100% high-grade cold acetone  
195 for at least 20 minutes, air dried and then stained with a drop of specific conjugate for 30 minutes at 37°C.  
196 Anti-rabies fluorescent conjugates may be prepared in the laboratory. These available commercially are  
197 either polyclonal or monoclonal antibodies (MAbs), specific to the entire virus or to the rabies nucleocapsid  
198 protein, conjugated to a fluorophore such as fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugates specific to the  
199 entire virus or specific to the rabies nucleocapsid protein, or they may be prepared from a mix of different  
200 MAbs. FAT slides should then be examined for specific fluorescence using a fluorescent microscope and filter  
201 appropriate for the wavelength of the fluorescent conjugate used, for instance FITC, the most commonly  
202 used, is excited at 490 nm and re-emits at 510 nm. Aggregates of nucleocapsid protein are identified by  
203 specific fluorescence of bound conjugate. It is recommended that two independent trained operators read  
204 each FAT slide. Fluorescent antibody conjugates may be made locally, but should be fully validated for  
205 specificity and sensitivity before use, including its ability to detect lyssaviruses other than rabies. This  
206 validation would need to include species of lyssavirus other than rabies before ruling out a lyssavirus infection  
207 on the basis of a negative FAT result. In the FAT, the specific aggregates of nucleocapsid protein are  
208 identified by their fluorescence. The specificity and sensitivity of these anti-rabies fluorescent conjugates for  
209 locally predominant virus variants should be checked before use.

210

211 The FAT may be applied to glycerol-preserved specimens after a washing step. If the specimen has been  
 212 preserved in a formalin solution, the FAT may be used only after the specimen has been treated with a  
 213 proteolytic enzyme (Warner *et al.*, 1997). However, the FAT on formalin-fixed and digested samples is always  
 214 less reliable and more cumbersome than when performed on fresh tissue (Barra, 1992).

215 In cases of inconclusive results from FAT, or in all cases of human exposure, further tests on the same  
 216 sample or repeat FAT on other samples are recommended. This is particularly important where sample  
 217 autolysis is confirmed or suspected.

218 • *Immunochemical tests*

219 The antibody may be conjugated to an enzyme such as peroxidase instead of fluorescein isothiocyanate  
 220 (FITC). This conjugate may be used for direct diagnosis. Immunoperoxidase methods can be used as an  
 221 alternative to FAT with the same sensitivity as FAT (Genovese & Andral, 1978; Lembo *et al.*, 2006), but  
 222 attention should be paid to the risk of nonspecific false-positive results. This risk is considerably reduced by  
 223 the thorough training of the technicians. It must also be emphasised that this technique needs one incubation  
 224 step more than the FAT.

225 Peroxidase conjugate may also be used on fresh brain tissue or sections of formalin-fixed tissue for  
 226 immunohistochemical tests.

227 • Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

228 An ELISA that detects rabies antigen is a variation of the immunochemical test. It is useful for large  
 229 epidemiological surveys (Xu *et al.*, 2007). The specificity and sensitivity of such tests for locally predominant  
 230 virus variants should be checked before use. In case of human contact these tests should be used in  
 231 combination with confirmatory tests such as FAT or virus isolation

232 • Rapid immunodiagnostic test (RIDT)

233 A rapid immunodiagnostic test (RIDT) was developed recently (Kang *et al.*, 2007). This simple test can be  
 234 used under field conditions and in developing countries with limited diagnostic resources.

235 Generally, tests other than the gold standard FAT should only be used after validation in multiple laboratories.

236 ii) **Detection of the replication of rabies virus after inoculation**

237 These tests detect the infectivity of a tissue suspension in cell cultures or in laboratory animals. They should be  
 238 used if the FAT gives an uncertain result or when the FAT is negative in the case of known human exposure.  
 239 Wherever possible, virus isolation on cell culture should be considered in preference to the mouse inoculation test  
 240 (MIT). They should be used if the FAT gives an uncertain result or when the FAT is negative in the case of known  
 241 human exposure. Cell culture tests are as sensitive as MIT (Rudd & Trimarchi, 1989) but are less expensive, give  
 242 more rapid results and avoid the use of animals.

243 • *Cell culture test*

244 Neuroblastoma cells lines, e.g. N2a, CCL-131 in the American Type Culture Collection (ATCC)<sup>1</sup> are highly  
 245 susceptible to infection with lyssaviruses is used for routine diagnosis of rabies. The cells are grown in  
 246 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) with 5% fetal calf serum (FCS), incubated at 36°C with 5%  
 247 CO<sub>2</sub>. Its sensitivity has been compared with that of Baby hamster kidney (BHK-21) cells (34) are also. This  
 248 cell line is sensitive to most street isolates without any adaptation step, but should be checked for  
 249 susceptibility to locally predominant virus variants before use (Rudd & Trimarchi, 1987). Presence of rabies  
 250 virus in the cells is revealed by the FAT. The result of the test is obtained after at least 18 hours (one  
 251 replication cycle of virus in the cells); generally incubation continues for 48 hours (10) or in some laboratories  
 252 up to 4 days. Cell culture tests may be undertaken in multi-well plastic plates, multi-chambered glass slides or  
 253 on glass cover-slips. The use of one 4-day passage in four wells of a 96-well microtitre plate has been shown  
 254 to have comparable sensitivity to MIT for rabies strains (Rudd & Trimarchi, 1989). However additional  
 255 passages could be considered to increase sensitivity. Cytotoxicity is a commonly reported factor limiting test  
 256 robustness. Techniques proposed to reduce cytotoxicity include adding antibiotics, reducing the time before  
 257 changing media (to as short as 35 minutes) and dilution of samples. Cell culture tests and their variations  
 258 should be fully validated before use.

259

1 American Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, Virginia 20108, United States of America (USA)

260 Suggested protocol in multiple wells of for a 96-well plate: 100 µl of clarified brain homogenate (20% in  
 261 phosphate buffered saline, 0.1 M, pH 7.4) is added to 200 µl of a  $2 \times 10^5$  cells/ml suspension, freshly  
 262 prepared from a sub-confluent flask in four wells of a 96-well plate. After 24 hours incubation at 5% CO<sub>2</sub> and  
 263 35–37°C, the supernatant from each well is removed and 200 µl of fresh medium is added to each well. After  
 264 a further 72 hours incubation the supernatant is removed by pipette and kept. The cells are fixed with 80%  
 265 acetone and stained with fluorescent antibody according to manufacturers recommendations. Variations  
 266 include staining after 24 or 48 hours, reduced incubation time before changing media to reduce cell toxicity,  
 267 the use of cell permeability agents (e.g. DEAE-dextran), and further passages. Up to three passages may be  
 268 considered to increase sensitivity. It is recommended that 24- and 72-hour supernatants are kept for further  
 269 passage.

270 This test is as sensitive as the mouse inoculation test. Once a cell culture unit exists in the laboratory, this  
 271 test should replace the mouse inoculation test as it avoids the use of live animals, is less expensive and gives  
 272 more rapid results.

273 It is often advisable to carry out more than one type of test on each sample, particularly when there has been  
 274 human exposure.

275 Suggested protocol for use in 8-chamber Lab-Tek® slides: 50 µl of clarified brain homogenate (20% in a  
 276 grinding substrate made of PBS, 0.1 M, pH 7.4 with heat-inactivated new-born calf serum) is added to 400 µl  
 277 of a  $10^5$  cells/ml suspension, freshly prepared from a subconfluent flask. After 24 hours incubation at 5% CO<sub>2</sub>  
 278 and 35.5°C, the supernatant from each chamber is removed and 400 µl of fresh medium is added to each  
 279 chamber. After a further 24 hours incubation (or more) the supernatant is removed, chamber structure  
 280 removed, cells layer dried and fixed with pure high grade cold acetone. The fixed cell layer is then stained  
 281 with fluorescent antibody according to laboratory procedures. Variations include incubation time, use of cell  
 282 permeability agents and further passages. Removed supernatants should be kept for possible further  
 283 passage.

#### 284 • Mouse inoculation test

285 Three Five-to-ten mice, 3–4 weeks old (12–14 g), or a litter of 2-day-old newborn mice, are inoculated  
 286 intracerebrally. The inoculum is the clarified supernatant of a 10–20% (w/v) homogenate of brain material  
 287 including brainstem (e.g. cortex, Ammon's horn, cerebellum thalamus, medulla oblongata) in an isotonic  
 288 buffered solution containing antibiotics. To reduce animal pain, Mice should be anaesthetised when  
 289 inoculated. The young adult mice are observed daily for 28 days, and every dead mouse is examined for  
 290 rabies using the FAT. For faster results in newborn mice, it is possible to check one baby mouse by FAT on  
 291 days 5, 7, 9 and 11 post-inoculation. Any deaths occurring during the first 4 days are regarded as nonspecific  
 292 (due to stress/bacterial infection etc.).

293 Once a validated and reliable cell culture unit exists in the laboratory, consideration should be given to  
 294 replacing the mouse inoculation test with cell culture whenever possible as it avoids the use of live animals, is  
 295 less expensive and gives more rapid results. However, advantages of MIT are that This *in-vivo* test should be  
 296 avoided when possible on animal welfare grounds. It is also expensive, particularly if SPF mice are used, and  
 297 does not give rapid results (compared with *in-vitro* inoculation tests), but when the test is positive, a large  
 298 amount of virus can be isolated from a single mouse brain for strain identification purposes and Another  
 299 advantage of this low-tech test is that it can be easily and practicably applied in situations where skills and  
 300 facilities for other tests (e.g. cell culture) are not available. MIT may also detect viruses other than rabies  
 301 virus.

#### 302 **iii) Molecular techniques**

303 Various molecular diagnostic tests, e.g. detection of viral RNA by reverse transcription PCR (RT-PCR), PCR-  
 304 ELISA, hybridisation *in situ* and real-time PCR are used as rapid and sensitive additional techniques for rabies  
 305 diagnosis (Fooks *et al.*, 2009). The principle of lyssavirus-specific PCRs is a reverse transcription of the target  
 306 RNA (usually parts of the N gene) into complementary DNA followed by the amplification of the cDNA by PCR.  
 307 Although those molecular tests have the highest level of sensitivity, their use is currently not recommended for  
 308 routine post-mortem diagnosis of rabies (WHO Expert Committee on Rabies, 2005) due to high levels of false  
 309 positive or false negative results without standardisation and very stringent quality control. Nevertheless, they are  
 310 useful for confirmatory diagnosis, as a first step in virus typing (see below).

#### 311 **iii) Histological identification of characteristic cell lesions**

312 Negri bodies correspond to the aggregation of viral proteins, but the classical staining techniques detect only an  
 313 affinity of these structures for acidophilic stains. These histological methods, especially the Techniques that stain  
 314 sections of paraffin embedded brain tissues (e.g. Mann's technique) are time consuming, less sensitive and more  
 315 expensive than FAT. Seller's method on unfixed tissues, can no longer be recommended because they have tissue  
 316 smears has a very low sensitivity and should be discarded is only suitable for perfectly fresh specimens. These  
 317 methods are no longer recommended for routine diagnosis. Immunohistochemical tests are the only histological  
 318 methods test specific to rabies.

319

320 ~~An unfixed tissue smear may be stained by the Seller's method, diagnosis is then obtained in under 1 hour.~~  
 321 ~~Generally, histological tests, such as Mann's test, are performed on fixed material after a paraffin embedding step,~~  
 322 ~~and the result of the test is obtained within 3 days. These techniques have the advantage that the laboratory~~  
 323 ~~equipment needed to perform them is inexpensive and any need to keep specimens cold after fixation is avoided.~~  
 324 ~~Whichever staining method is used, the evidence of infection is provided by intracytoplasmic acidophilic bodies.~~  
 325 ~~These histological methods, especially the Seller's method, can no longer be recommended because they have~~  
 326 ~~very low sensitivity and should be discarded/abandoned.~~

#### 327 d) Other identification tests

328 An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) that detects rabies antigen is a variation of the immunochemical  
 329 test. It is useful for large epidemiological surveys (Xu *et al.*, 2007). It should only be used after validation against  
 330 numerous samples in different laboratories. The specificity and sensitivity of these anti-rabies enzyme conjugates  
 331 for locally predominant virus variants should be checked before use. This test should be used in combination with  
 332 confirmatory tests by FAT or virus isolation.

333 The tests above describe methods to accurately diagnose rabies and to isolate and identify the virus. Typing of the  
 334 virus can provide useful epidemiological information and should be carried out/undertaken in specialised  
 335 laboratories (such as OIE or WHO Reference Laboratories). These techniques would include the use of MAbs,  
 336 nucleic acid probes, or the PCR, followed by DNA sequencing of genomic areas for typing the virus (Bourhy *et al.*,  
 337 1993). These characterisations enable, for instance, a distinction to be made between vaccine virus and a field  
 338 strain of virus, and possibly identify the geographical origin of the latter.

339 Participation in inter-laboratory proficiency testing is highly encouraged as part of quality assurance schemes; such  
 340 tests should be organised for Regional Laboratories by the National Reference Laboratories, while the latter in turn  
 341 should participate in international proficiency tests organised by OIE reference laboratories.

## 342 2. Serological tests

343 ~~Serological tests are rarely used in epidemiological surveys, due to late seroconversion and the low percentage of~~  
 344 ~~animals surviving the disease and therefore having post-infection antibodies. The main application of serology for~~  
 345 ~~classical rabies is to determine responses to vaccination, either in domestic animals prior to international travel, or in~~  
 346 ~~wildlife populations following oral immunisation of rabies reservoirs. In addition, serological surveys have been used to~~  
 347 ~~provide information on dynamics of lyssaviruses in bats (Turmelle *et al.*, 2009). In accordance with the WHO~~  
 348 ~~recommendations (WHO Expert Committee on Biological Standards, 1985), 0.5 IU per ml of rabies antibodies is the~~  
 349 ~~minimum measurable antibody titre considered to represent a level of immunity in humans that correlates with the ability~~  
 350 ~~to protect against rabies infection. The same measure is used in dogs and cats to confirm a satisfactory response to~~  
 351 ~~vaccination. As neutralising antibodies are considered a key component of the adaptive immune response against~~  
 352 ~~rabies virus (Hooper *et al.*, 1998) the gold standard tests are virus neutralisation (VN) tests. However, indirect ELISAs~~  
 353 ~~have been developed that do not require high-containment facilities and produce rapid results. Care should be taken~~  
 354 ~~when correlating results between virus neutralisation tests and ELISAs owing to the inherent differences between them.~~  
 355 ~~Multiple publications demonstrate a variable sensitivity and specificity for ELISAs in both humans and animals. Although~~  
 356 ~~VN tests are recommended where specific assessment of protection is required, both tests are useful for detecting~~  
 357 ~~responses to vaccination if appropriate cut-offs are used. Poor quality sera can cause cytotoxicity in VN tests, which~~  
 358 ~~could lead to false-positive results. For such samples, the use of an indirect ELISA has been shown to be as sensitive~~  
 359 ~~and specific as the VN test (Servat *et al.*, 2007). For follow-up investigations in oral vaccination campaigns, virus~~  
 360 ~~neutralisation (VN) tests in cell culture are preferred. However, if poor quality sera are submitted, the VN tests in cell~~  
 361 ~~culture are sensitive to cytotoxicity, which could lead to false-positive results. For such samples, the use of an indirect~~  
 362 ~~ELISA with rabies glycoprotein-coated plates has been shown to be as sensitive and specific as the VN test on cells~~  
 363 ~~(22).~~

364 Serological surveys have also been used to provide information on dynamics of lyssaviruses in bats although  
 365 standardisation of serological tests for bats is still needed.

#### 366 a) Virus neutralisation test in cell culture: fluorescent antibody virus neutralisation test (a prescribed test for 367 international trade)

368 The principle of the fluorescent antibody virus neutralisation (FAVN) test (Cliquet *et al.*, 1998) is the *in vitro*  
 369 neutralisation of a constant amount of rabies virus ('challenge virus standard' [CVS-11] strain adapted to cell  
 370 culture) before inoculating cells susceptible to rabies virus: BHK-21 C13 cells (ATCC number: CCL-10).

371

372 The serum titre is the dilution at which 100% of the virus is neutralised in 50% of the wells. This titre is expressed  
 373 in IU/ml by comparing it with the neutralising dilution of the OIE serum of dog origin under the same experimental  
 374 conditions. The WHO standard for rabies immunoglobulin [human]<sup>2</sup> No. 2, or an internal control calibrated against  
 375 the international control may be used. The WHO standard or internal control should only be used as a control in  
 376 the test and should not be used to calculate the IU/ml titre of the sera.

377 This microplate method uses 96-well plates, and is an adaptation of the technique of Smith *et al.* (1973),~~modified~~  
 378 ~~by Zalan *et al.* (47) and by Perrin *et al.* (33). Several publications (18, 21) have shown that.~~ The FAVN test and the  
 379 rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) give equivalent results (Cliquet *et al.*, 1998).

#### 380 • Essential equipment

381 Humidified incubator at 35°C/37°C with 5% CO<sub>2</sub>; dry incubator at 37°C; biocontainment cabinet; fluorescence  
 382 microscope suitable for FITC fluorescence equipped with ×10 eye-piece and ×10 objective. The global  
 383 magnification of the microscope ranges between ×100 and ×125 due to the extra magnification of some epi-  
 384 fluorescence systems.

#### 385 • Reagents and biologicals

386 PBS buffer, pH 7.2, without Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>, stored at 4°C;

387 Trypsin ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA);

388 High-grade acetone 80% (diluted with deionised water), stored at 4°C;

389 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) + 10% heat-inactivated FCS;

390 FITC anti-rabies conjugate;

391 *Cells*: BHK-21 C13 (ATCC CCL-10) maintained in GMEM with 10% FCS and antibiotics;

392 *Virus*: CVS-11 (previously ATCC reference VR 959) strain, which is available from the ATCC or the OIE Reference  
 393 Laboratory for Rabies, Nancy, France (see Table given in Part 3 of this *Terrestrial Manual*). Vials are stored at –  
 394 80°C;

395 OIE Standard Serum of dog origin (OIE Reference Laboratory for Rabies, Nancy, France [see Table given in Part 3  
 396 of this *Terrestrial Manual*] stored at +4°C and diluted to 0.5 IU/ml with sterile deionised or distilled water according  
 397 to the titre of the batch). This control serum may be used to calibrate an internal control that is used for regular  
 398 FAVN testing.

399 Naive serum: The pool of negative dog sera is stored at –20°C.

#### 400 • CVS production

401 i) *Cell growth*: the BHK-21 C13 cells (ATCC CCL-10) used to produce the CVS virus (ATCC VR 959 CVS-11)  
 402 are trypsinised during the rapid growth phase, i.e. cells are in the exponential phase of their kinetic growth. If  
 403 the confluence of the layer is complete, a new passage should be made. The cells in the cell suspension  
 404 should not be aggregated; 2 × 10<sup>7</sup> cells are used needed for a 75 cm<sup>2</sup> cell culture flask. Cells are collected  
 405 within a volume of 20–30 ml in cell culture medium with 10% heat-inactivated FCS.

406 ii) *Infection of cells*: the multiplicity of infection (number of infective particles per cell) is adjusted to between 0.1  
 407 and 0.5. The glass bottle containing the virus/cell suspension is incubated for 60 minutes at 35.5–37°C. The  
 408 contents of the bottle are gently stirred every 10–15 minutes.

409 iii) *Virus growth*: the virus/cell suspension is then centrifuged at 800–1000 **g** for 15 minutes and the cell pellet is  
 410 resuspended in cell culture medium mixed with 10% heat-inactivated FCS. Virus is harvested 2 days later.

411 iv) *Harvest and storage*: the supernatant is centrifuged at 800–1000 **g** for 15 minutes at 4°C. If several flasks  
 412 have been used, the different centrifuged supernatants are mixed and then aliquoted and frozen at –80°C.  
 413 The infective titre of the harvest is established at least 3 days after freezing.

#### 414 • Titration of virus in TCID<sub>50</sub> (50% tissue culture infective dose)

415 This titration method uses BHK-21 C13 cells (ATCC CCL-10) in microtitre plates.

416

2 National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, United Kingdom (UK).

- 417 Different steps in this procedure may be adapted according to the safety requirements and to the working practices  
418 of the laboratory, but the following should not be changed:
- 419 • inoculation of a 24-hour cell layer,
  - 420 • tenfold dilutions prepared using 0.9 ml of diluent and 0.1 ml of virus suspension,
  - 421 • **four to** six 50 µl replicates per dilution,
  - 422 • incubation for 72 hours,
  - 423 • qualitative reading (i.e. the well is positive or negative),
  - 424 • in every titration session, a vial of a control batch of virus is titrated and this titre is integrated in a control card  
425 to validate the titration process,
  - 426 • calculation according to neoprobit graphic or Spearman–Kärber methods.
- 427 i) *Cell suspension*: the day before titration, a cell suspension containing  $10^5$  cells/ml is prepared in cell culture  
428 medium containing 10% heat-inactivated FCS, and is distributed, 200 µl per well, into 96-well microtitre  
429 plates. The plates are then incubated for 24 hours at 35.5°C–37°C with 5% CO<sub>2</sub>.
- 430 ii) *Dilution of the virus*: the serial dilutions are performed in 5 ml tubes using a cell culture medium without FCS  
431 as diluent. Ten-fold dilutions from  $10^{-1}$  to  $10^{-12}$  are prepared (0.9 ml of diluent with 0.1 ml of the previous  
432 dilution).
- 433 iii) *Infection of the cells*: the medium in the microtitre plates is discarded using an aspiration system. Fifty µl of  
434 each virus dilution is distributed per well. Six replicates are used per dilution. The microtitre plate is then  
435 incubated for 1 hour at 35.5–37°C with 5% CO<sub>2</sub>. Then 200 µl of cell culture medium, containing 5% FCS, is  
436 added.
- 437 iv) *Incubation*: incubate for 3 days at 35.5–37°C in 5% CO<sub>2</sub>.
- 438 v) *Staining and calculation of titre*: The cells are stained using the FAT, as detailed below. Reading is  
439 qualitative, every well that shows specific fluorescence is considered to be positive. The titre calculation is  
440 made using either the neoprobit graphic method (2) or the Spearman–Kärber formula ([WHO, 1996](#)).
- 441 vi) The CVS titration must be performed by FAVN test to establish the infective dose in TCID<sub>50</sub>.
- 442 • **Test procedure**
- 443 i) The microplates are used according to the pattern shown in Figure 1. Plate No. 1 is used for the titration of  
444 CVS (rows 1 to 4), and for the controls, standard sera and naive dog serum are used. All other plates are  
445 used for the sera to be tested.
- 446 ii) Medium is added to the wells as follows: plate 1, rows 1 to 4 and cells A9 to A12: add 150 µl per well; in the  
447 other plates, rows 6 and 12: add 200 µl per well; all other wells: add 100 µl.
- 448 iii) Sera to be tested are heat inactivated for 30 minutes at 56°C. As indicated in Figure 1, 50 µl of each  
449 undiluted serum to be tested is added to four adjacent wells.
- 450 iv) Dilutions of sera are conducted in the microplates as follows:
- 451 OIE serum, the WHO serum, the internal control and the naive dog serum: with a 50–200 µl multichannel  
452 pipette, mix the first dilution wells by sucking in and out at least eight times, transfer 50 µl from one row to the  
453 next one, until the last one is reached. Discard 50 µl from the last row.
- 454 If there is a serum to be tested on the control plate, see below for the dilution step.
- 455 A minimum of four three-fold dilutions is required.
- 456 Sera being tested (all plates): as above, transfer successively 50 µl from one row to the following one until  
457 rows 5 and 11 (dil.  $10^{-2.39}$ ). With a 5–50 µl multichannel pipette, transfer 10 µl from rows 5 and 11 to rows 6  
458 and 12, respectively (from dil.  $10^{-2.39}$  to dil.  $10^{-4.23}$ ). Using a multichannel pipette adjusted to 90 µl, mix rows  
459 6 and 12 and discard 180 µl. Then add 70 µl of medium to these rows. This final step does not lend itself to  
460 high throughput testing. To attain or exceed the recommended final dilution alternative procedures may be  
461 used. These may require modifications to the plate layout.
- 462

463  
464  
465

**Fig. 1.** Proposed use of microplates for the fluorescent antibody virus neutralisation test. Wells to which undiluted sera must be added are filled with the indicated '50 µl'. Wells to which 50 µl of diluted challenge virus standard must be added are shaded. Dilutions are given in log<sub>10</sub>.

**Plate 1: Controls**

	H	G	F	E	D	C	B	A	
Challenge virus standard titration									1
									2
									3
									4
OIE standard serum (0.5 IU/ml)	50 µl					50 µl			5
	50 µl					50 µl			6
	50 µl					50 µl			7
	50 µl					50 µl			8
Serum or internal positive control or WHO Standard serum	50 µl								9
	50 µl								10
	50 µl								11
	50 µl								12
log (dilution)	0.48	0.95	1.43	1.91	2.39	2.87	CVS virus control	Cells control	

Naive dog serum (negative)

466

**Plate 2: Sera to be tested**

log dilution		0.48	0.95	1.43	1.91	2.39	4.23	0.48	0.95	1.43	1.91	2.39	4.23
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Serum 1	A	50 µl						50 µl					
	B	50 µl						50 µl					
	C	50 µl						50 µl					
	D	50 µl						50 µl					
Serum 2	E	50 µl						50 µl					
	F	50 µl						50 µl					
	G	50 µl						50 µl					
	H	50 µl						50 µl					

Serum 3  
Serum 4

467  
468  
469  
470  
471  
472  
473  
474  
475  
476  
477  
478  
479

- **Addition of challenge virus standard**
  - i) Stock CVS is stored in 1 ml microtubes at -80°C. One tube is thawed rapidly under cold running water, and placed in melting ice.
  - ii) One dilution from this tube is prepared in order to obtain 100 TCID<sub>50</sub> in 50 µl. Of this dilution, 50 µl is added to each serum-filled well (see Figure 1). For virus titration, 50 µl is added to wells H1 to H4 (plate 1). Next, transfer 50 µl from row to row (plate 1, lines 1–4). Discard 50 µl from the last row (plate 1, wells A1 to A4). No virus is added to wells A9 to A12 of plate 1 (controls). The range allowed for the virus dose titre must be between 30 and 300 TCID<sub>50</sub>/50 µl.
  - iii) Incubate the microplates at 35–37°C in a humid incubator with 5% CO<sub>2</sub> for 1 hour.
  - iv) **Addition of cells:** trypsinise a subconfluent culture of ~~3-day-old~~ BHK-21 cells. Resuspend the cells to obtain a 4 × 10<sup>5</sup> cells/ml suspension in DMEM supplemented with 10% heat-inactivated FCS. Add 50 µl of the cell suspension to each well.
  - v) Incubate the microplates for 48 hours at 35–37°C in a humid incubator with 5% CO<sub>2</sub>.

480

- 481 • **Fixation and staining**
- 482 i) After the 48-hour incubation period, the medium is discarded, and the microplates are rinsed once in PBS, pH  
483 7.2, and once in 80% acetone. The microplates are then fixed in 80% acetone at room temperature for  
484 30 minutes, and are dried at room temperature for at least 30 minutes.
- 485 ii) Add 50 µl of the FITC anti-rabies conjugate, at the working dilution, to each well, gently rock the microplates  
486 and incubate at 35–37°C for 30 minutes. Discard the fluorescent conjugate and rinse the microplates twice  
487 with PBS. Excess PBS is removed by briefly inverting the microplates on absorbent paper.
- 488 • **Reading and interpreting the results**
- 489 i) The total surface of each well is observed. The reading evaluation is qualitative (plus or minus): no  
490 fluorescent cell – a minus score is recorded for the well; fluorescent cells (one cell or more) – a plus score is  
491 recorded for the well.
- 492 ii) Cell and virus controls are read first. For titration of CVS, naïve serum, and OIE standard serum, titres are  
493 calculated according to the Spearman–Kärber method or the neoprobit graphic method (WHO, 1996).
- 494 iii) Results of titration of CVS (TCID<sub>50</sub>), naïve serum (D<sub>50</sub> [median dose]) and positive standard (D<sub>50</sub>) are  
495 reported on a control card for each of these three controls. The control results of the current test are  
496 compared with the accumulated control test results from previous tests using the same batch of control. The  
497 test is validated if the values obtained for the three controls in the current test are not statistically different  
498 from the mean (± 2 SD) of all the values obtained in the tests conducted previously according to this  
499 technique.
- 500 iv) The result of the test corresponds to the non-neutralised virus after incubation with the reference serum or  
501 with the serum to be tested. These titres are calculated with the neo-probit graphic method (2) or with the  
502 Spearman–Kärber formula (WHO, 1996). The comparison of the measured titre of the tested sera with that of  
503 the OIE positive standard serum of a known neutralising titre allows determination of the neutralising titre of  
504 the tested sera in IU/ml. The conversion to IU/ml can be made by using either the log D<sub>50</sub> value of the day or  
505 the mean value of the OIE standard serum.
- 506 • Formula to convert the log D<sub>50</sub> value in IU/ml titre:

$$\text{Serum titre (IU/ml)} = \frac{[(10^{\text{(serum log D}_{50} \text{ value)})} \times \text{theoretical titre of OIE serum 0.5 IU/ml}]}{(10^{\text{(log D}_{50} \text{ of OIE serum 0.5 IU/ml)})}$$

507 Example of conversion:

- 508 • log D<sub>50</sub> of the serum = 2.27
- 509 • theoretical titre of OIE serum 0.5 IU/ml = 0.5 IU/ml
- 510 • log D<sub>50</sub> of OIE serum = 1.43
- 511 (for the log D<sub>50</sub> of OIE, the value of the day or the mean value can be considered)

$$\text{Serum titre (IU/ml)} = \frac{[(10^{2.27} \times 0.5 = 3.46 \text{ IU/ml}]}{(10^{1.43})}$$

512 The following parameters have to be strictly respected:

- 513 • Rabies virus: only the CVS-11 strain (ATCC number – VR-959) should be used.
- 514 • Cells culture: only BHK-21 cells (ATCC number – CCL 10) should be used.
- 515 • The FAVN test must be performed only in 96 wells microplate.
- 516 • Control charts should be used for rabies virus, naïve serum and OIE positive standard serum of dog  
517 origin.
- 518 • The back titration of the CVS virus, as well as naïve serum and OIE positive standard serum of dog  
519 origin, must be present on control plate.
- 520 • A minimum of four three-fold dilutions of sera are required. The reading method is 'all or nothing' only.
- 521

- 522                   • Four replicates of each serum should be diluted.
- 523                   • For the conversion of log D<sub>50</sub> in IU/ml, the laboratories should use only the log D<sub>50</sub> value of the **OIE**
- 524                   **positive** standard serum of dog origin.
- 525 **b) The rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) for determining rabies virus-neutralising antibody (a**
- 526 **prescribed test for international trade)**
- 527                   • **Standard procedure (from WHO Laboratory Techniques in Rabies, 1996)**
- 528                   • **Preparation of seed virus suspension**
- 529                   i) Trypsinise one 3-day-old 150 ml flask culture of mouse neuroblastoma (MNA) cells. ~~These cells prefer an~~
- 530                   ~~acidic medium, supplemented with vitamins (34).~~ A similar cell line (CCL-131) may be obtained on request
- 531                   from the ATCC (see footnote 1).
- 532                   ii) Resuspend  $3 \times 10^7$  cells in a 50 ml conical centrifuge tube in 2.7 ml of Eagle's minimal essential medium
- 533                   supplemented with 10% fetal bovine serum (EMEM-10).
- 534                   iii) Using standard rabies safety procedures, add  $1 \times 10^7$  infectious units of CVS-11 rabies virus (**previously**
- 535                   ATCC **reference** VR959) and vortex/mix once. Incubate the cells and virus for 15 minutes at 37°C; vortex/mix
- 536                   the cells once during this time.
- 537                   iv) Add 10 ml EMEM-10, vortex/mix, and centrifuge the cells at 500 **g** for 10 minutes.
- 538                   v) Discard the supernatant. Resuspend the cells in 30 ml of growth medium and transfer to a 150 ml flask.
- 539                   vi) Gently rock the flask to mix the cell suspension, and then prepare three eight-well tissue-culture chamber
- 540                   slides by pipetting 0.2 ml of the cell suspension into one well of each slide.
- 541                   vii) Incubate the flask and slides at 37°C in a humidified incubator with 0.5% carbon dioxide (CO<sub>2</sub>). The flask
- 542                   should be incubated as a closed culture (tighten the cap).
- 543                   viii) At 20, 40 and 64 hours after infection, acetone fix and stain one slide using an immunofluorescence
- 544                   technique (Cliquet *et al.*, 1998) to determine the virus infectivity. The supernatant should be harvested
- 545                   24 hours after the cells reach 100% infectivity (typically 40 hours after infection).
- 546                   ix) Transfer the supernatant to a 50 ml centrifuge tube and centrifuge at 4000 **g** for 10 minutes.
- 547                   x) Distribute the supernatant into 0.5 ml aliquots and store at –70°C.
- 548                   • **Titration of seed virus suspension**
- 549                   i) Thaw one aliquot of the seed virus and prepare serial tenfold dilutions (from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-8</sup>) in EMEM-10.
- 550                   ii) Distribute 0.1 ml of each virus dilution into one well of an eight-well tissue-culture chamber slide. Add 0.2 ml
- 551                   of MNA cells suspended in EMEM-10 (concentration  $5 \times 10^4$  cells per 0.2 ml) to each well.
- 552                   iii) Mix the cells and virus by gently rocking the slide, then incubate at 37°C in a humidified incubator with 0.5%
- 553                   CO<sub>2</sub> for 40 hours.
- 554                   iv) Acetone fix and stain the slide using an immunofluorescence technique. Evidence of virus infection should be
- 555                   observed at the 10<sup>-6</sup> dilution of virus, indicating a virus stock suspension containing at least  $1 \times 10^6$  infectious
- 556                   units per 0.1 ml. Prepare sufficient seed virus so that frequent serial passage of the virus is unnecessary.
- 557                   • **Preparation of stock virus suspension**
- 558                   i) Infect  $3 \times 10^7$  MNA cells with  $1 \times 10^7$  infectious units of the seed virus preparation (see above).
- 559                   ii) Harvest the supernatant 24 hours after the cells reach 100% infectivity (typically 40 hours after infection).
- 560                   iii) Distribute the supernatant into 0.5 ml aliquots and store at –70°C.
- 561                   • **Titration of stock virus suspension**
- 562                   i) Thaw one aliquot of the stock virus and use this to prepare serial tenfold dilutions (from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-6</sup>) in
- 563                   EMEM-10.
- 564                   ii) Distribute 0.1 ml of each virus dilution into one well of an eight-well tissue-culture chamber slide. Add 0.2 ml
- 565                   of MNA cells suspended in EMEM-10 (concentration  $1 \times 10^5$  cells per 0.2 ml) to each well.
- 566                   iii) Mix the cells and virus suspension by gently rocking the slide, then incubate at 37°C in a humidified incubator
- 567                   with 0.5% CO<sub>2</sub> for 20 hours.
- 568                   iv) Acetone fix and stain the slide using an immunofluorescence technique.
- 569

570 Each well of an eight-well tissue-culture chamber slide contains 25–50 distinct microscopic fields when observed at  
 571  $\times 160$ – $200$  magnification. One unit of virus for the RFFIT is determined as the dilution at which 50% of the observed  
 572 microscopic fields contain one or more foci of infected cells (the focus-forming dose,  $FFD_{50}$ ). The stock virus  
 573 suspension should contain at least  $1 \times 10^4$   $FFD_{50}$  per 0.1 ml (i.e. the well with cells infected with the  $10^{-4}$  dilution of  
 574 the virus should contain at least one focus of infected cells in 50% of the observed microscopic fields). A stock  
 575 virus suspension of this titre can then be diluted to  $10^{-2.3}$  to obtain a challenge virus containing 50  $FFD_{50}$ .

576 • **Reference sera**

577 A national or international reference serum standard diluted to a potency of 2.0 IU/ml should be included in each  
 578 test. The reference serum used at the Centres for Disease Control and Prevention is the **first second** international  
 579 standard for rabies immunoglobulin (~~Montano Hirose et al., 1991~~ **Lyng, 1994**), which may be obtained from the  
 580 NIBSC (see footnote 2). The reference serum should be maintained as frozen aliquots in amounts sufficient for  
 581 1 week of tests. A positive serum control standard diluted to a potency of 0.5 IU/ml and a negative serum control  
 582 standard with a potency of  $<0.1$  IU/ml should also be prepared by the laboratory and included in each test.

583 • **Test sera**

584 Serum samples should be heated at  $56^{\circ}\text{C}$  for 30 minutes before testing in order to inactivate complement. If sera  
 585 are frozen, they should be reheated after thawing. Serial dilutions of test sera may be prepared in an eight-well  
 586 tissue-culture chamber slide. Screening dilutions of 1/5 and 1/50 are sufficient for routine evaluation of vaccination  
 587 efficacy and may be made as follows:

- 588 i) Prepare a 1/2.5 dilution by adding 0.1 ml of inactivated serum and 0.15 ml of EMEM-10 to one of the slides.  
 589 Mix by gently rocking the slide.
- 590 ii) Transfer 0.05 ml of the 1/2.5 dilution to a second well containing 0.45 ml of EMEM-10. Discard all but 0.1 ml  
 591 from the well containing the 1/2.5 dilution.
- 592 iii) Mix the second well and discard all but 0.1 ml.
- 593 iv) Add 0.1 ml of the challenge virus preparation (containing 32–100  $FFD_{50}$ ) to all serum dilutions.
- 594 v) Mix and incubate at  $35^{\circ}\text{C}$  in a humidified incubator with 0.5%  $\text{CO}_2$  for 90 minutes.

595 • **Addition of cells**

- 596 i) During the incubation period, trypsinise a stock culture of 3–5-day-old MNA cells.
- 597 ii) Resuspend the cells in EMEM-10 to give a final concentration of  $1 \times 10^5$  cells per 0.2 ml.
- 598 iii) Distribute 0.2 ml of the cell suspension into each well of the slide and incubate at  $35^{\circ}\text{C}$  in a humidified  
 599 incubator with 0.5%  $\text{CO}_2$  for a further 20 hours.

600 • **Acetone fixation and staining by immunofluorescence**

- 601 i) After 20 hours, remove the slides from the incubator and pour off the medium into a virucidal solution.
- 602 ii) Rinse the slides once in PBS and then fix for 10 minutes at room temperature in cold acetone ( $-20^{\circ}\text{C}$ ).
- 603 iii) Leave the slides to dry for 10 minutes before adding FITC-conjugated anti-rabies serum. The conjugate may  
 604 be prepared in EMEM-10 or PBS; there is no need to adsorb the conjugate with tissue or cells. The working  
 605 dilution of the conjugate should be determined by titration. The slides should be stained for 20–30 minutes at  
 606  $37^{\circ}\text{C}$  and then rinsed in PBS and distilled water, respectively.
- 607 iv) Observe the slides under a fluorescence microscope.

608 • **Calculation of virus-neutralising antibody titres**

609 Residual virus is detected using a standard fluorescence microscope. The serum neutralisation end-point titre is  
 610 defined as the dilution factor of the highest serum dilution at which 50% of the observed microscopic fields contain  
 611 one or more infected cells (i.e. a 97% reduction in the virus inoculum). This value may be obtained by  
 612 mathematical interpolation. Alternatively, a 100% neutralisation titre may be determined by recording the highest  
 613 serum dilution at which 100% of the challenge inoculum is neutralised and there are no infected cells in any of the  
 614 observed fields. For both titration methods, the titre of antibody in the test serum (in IU/ml) can be obtained by  
 615 comparison with the titre of the national reference standard included in each test. It should be noted that it is also  
 616 valid to perform the RFFIT using BHK-21 cells instead of neuroblastoma cells. A modified protocol for this has  
 617 been published (WHO, 1996).

618

619 The following parameters have to be strictly adhered to:

- 620 • Rabies virus; only the CVS-11 strain (ATCC number VR-959) should be used.
- 621 • Cells cultures: only BHK-21 cells (ATCC number CCL10) or MNA cells (ATCC number CCL131) should be used.
- 622
- 623 • The test should be performed only on Lab-tek chamber slides.
- 624 • Control charts should be used for rabies virus, naïve serum and OIE positive standard dog serum.
- 625 • The back titration of the CVS virus, as well as the naïve serum and OIE positive standard dog, must be present on control plate.
- 626
- 627 • Reading method for the test: each chamber slide should contain 25–50 fields and be observed at ×160–200 magnification.
- 628
- 629 • A minimum of three-to-five-fold dilutions of sera is required.
- 630 • For the conversion of log D<sub>50</sub> to IU/ml, only the log D<sub>50</sub> value of the OIE positive standard serum of dog origin should be used.
- 631

### 632 c) Virus neutralisation in mice

633 This method is no longer recommended by either OIE or WHO and should be discontinued.

### 634 d) Enzyme-linked immunosorbent assay (a prescribed test for international trade)

635 The ELISA provides a rapid (~ 4 hours) test that avoids the requirement to handle live rabies virus. Commercial indirect ELISA kits are available for indirect ELISA that allow a qualitative detection of rabies antibodies in individual dog and cat serum samples following vaccination. In accordance with the WHO recommendations (WHO Expert Committee on Biological Standards, 1985), 0.5 IU per ml of rabies antibodies is the minimum measurable antibody titre considered to represent a level of immunity that correlates with the ability to protect against rabies infection. ~~The ELISA provides a rapid (~ 4 hours) test that does not require handling of live rabies virus, to determine if vaccinated dogs and cats have sero-converted. The sensitivity and specificity of any kit used should be determined by comparison with virus neutralisation methods. The ELISA is acceptable as a Prescribed Test for international movement of dogs or cats provided that a kit is used that has been validated and adopted on the OIE Register as fit for such purposes (see [http://www.oie.int/vcda/eng/en\\_VCDA\\_registre.htm?e1d9](http://www.oie.int/vcda/eng/en_VCDA_registre.htm?e1d9)).~~ Virus neutralisation methods may be used as confirmatory tests if desired. In 2007, the International Committee adopted such methods as Prescribed Tests for evaluating vaccine responses in dogs and cats prior to international movement, provided a kit is used that has been validated and adopted on the OIE Register as fit for such specific purposes<sup>3</sup>. The validation for this purpose should include a comparison with, and calibration against prescribed methods for virus neutralisation.

650 Other ELISA methods are also or kits should not be regarded as prescribed but may be useful for monitoring of vaccination campaigns in wildlife populations, provided the kit used has been validated for the wildlife species under study.

## 653 C. REQUIREMENTS FOR VACCINES AND DIAGNOSTIC BIOLOGICALS

654 **NB: SECTION C IS “UNDER STUDY”. THIS IS THE LAST ADOPTED VERSION PUBLISHED IN 2008**

655 Rabies vaccines prepared from Pasteur's original 1885 strain and its derivative strains (Pasteur Virus, Challenge Virus Standard, Pitman-Moore, etc.), and strains isolated more recently (Flury, Street-Alabama-Dufferin [SAD], Vnukovo and Kelev), protect against all strains of genotype 1 isolated so far. Conventional rabies virus vaccines may not provide adequate cross-protection against other lyssaviruses, especially in phylogroup II; there is no protection provided against Mokola virus (37) and the recently identified West Caucasian Bat Virus (Hanlon *et al.*, 2005). Cross neutralisation using conventional rabies virus vaccines has been demonstrated against two phylogroup I viruses: EBLV type-1 and EVLV type-2 (20). The principles governing the preparation of inactivated rabies vaccines are identical whether they are to be used in humans or animals, although an adjuvant may be added to vaccines for animal use.

663

3 see [http://www.oie.int/vcda/eng/en\\_VCDA\\_registre.htm?e1d9](http://www.oie.int/vcda/eng/en_VCDA_registre.htm?e1d9)

664 Recombinant vaccine (e.g. vaccinia rabies-glycoprotein recombinant) has also proved to be effective (19, 31). The  
 665 rabies-glycoprotein recombinant vaccines are not live rabies vaccines. They are prepared by inserting non-infectious  
 666 rabies nucleic acid into a vector such as vaccinia or canary pox. Since these do not contain live rabies virus, animals  
 667 vaccinated with rabies-glycoprotein recombinant vaccines should not be restricted from entry into countries that have  
 668 restrictions on entry of animals vaccinated with live rabies vaccines.

669 For animals, live and recombinant vaccines are effective by the oral route and can be distributed in baits in order to  
 670 immunise wild (or domestic) animals.

671 Guidelines for the production of veterinary vaccines are given in Chapter 1.1.8 Principles of veterinary vaccine  
 672 production. The guidelines given here and in Chapter 1.1.8 are intended to be general in nature and may be  
 673 supplemented by national and regional requirements.

674 Different standards apply to vaccines containing live virus modified by passage in eggs or cell cultures to reduce its  
 675 virulence for the target animal, and to vaccines prepared from inactivated virus. Both types of vaccine have their  
 676 advantages and disadvantages (6), but they can both be used to immunise animals for periods of between 1 and 3  
 677 years. Live attenuated rabies vaccines are not accepted in some countries. They are not to be relied on to protect  
 678 previously unvaccinated animals that have been exposed to infection (15). Only in humans has the efficiency of post-  
 679 exposure prophylaxis with vaccine alone been proven and even in these cases there is an additional strong  
 680 recommendation to administer anti-rabies immunoglobulin.

681 All handling of the virus during manufacture and testing of vaccines must conform to the strict safety precautions  
 682 specified by WHO (43, 45), the OIE (Chapter 1.1.2) and to national guidelines and regulations.

## 683 1. Seed management

### 684 a) Characteristics of the seed

685 Any strain belonging to serotype 1, which has been proved to protect against field rabies viruses (currently found in  
 686 the country where the vaccine is to be used), is suitable. The strain of virus used should have well-known biological  
 687 (e.g. pathogenicity) and antigenic properties (typing by MAbs). If it is to be used as a live vaccine, the master seed  
 688 virus must be shown not to cause clinical rabies. At least two animals (preferably five to six per group) of each of  
 689 the species for which the vaccine is intended and, so far as possible, any species that might be in contact with  
 690 vaccine or vaccinated animals, should be tested. This can be done by inoculating in or adjacent to a major nerve, a  
 691 dose equivalent to ten times the intended viral titre in one dose of the proposed final product. Animals should be  
 692 observed for at least 90 days for any adverse effect attributable to the master seed.

### 693 b) Method of culture

694 A master cell stock of the seed virus should be prepared and kept at or below  $-70^{\circ}\text{C}$ . Subculture from this stock  
 695 will be used for vaccine production. Virus multiplication is verified by titration during growth of the seed virus.

### 696 c) Validation as a vaccine

697 Before a vaccine is licensed, evidence of efficacy should be established by the challenge of vaccinated and control  
 698 animals of each target species. The challenge should be performed at the end of the period after vaccination for  
 699 which the manufacturer claims maintenance of immunity. Antibody kinetics should also be determined in order to  
 700 establish the correlation between antibody titre and resistance to challenge.

701 The efficacy of the produced vaccine is assessed by studies on every target species previously vaccinated as  
 702 recommended. Protection at the end of the period of immunity is monitored by a measurement of specific  
 703 neutralising antibodies and by challenge with rabies virus. The experimental conditions of this challenge should  
 704 mimic the natural conditions of infection. The challenge virus should preferably be prepared from locally isolated  
 705 strains. In animals vaccinated with inactivated vaccines, the percentage of seroconversion and the mean level of  
 706 antibody allow a good prognosis for survival to challenge (3).

707 The correlation between potency in the target species and antigenic value as estimated in mice should be  
 708 established (see Section C.4.c below).

709 For the purposes of licensing a vaccine, safety tests should be conducted in the target species. In the case of live  
 710 virus vaccines used in oral vaccination campaigns (including recombinant vaccines), safety tests should also be  
 711 carried out on those other species that live in the area of vaccination and could become exposed to the vaccine  
 712 (6).

713

714 Vaccine stability is ascertained by testing batches after prolonged storage, usually 1–2 years. A process of  
 715 accelerated ageing, by storage at 37°C for 1 week, is sometimes used. The storage life claimed by the  
 716 manufacturer is checked by the national licensing authority. In general, it is 12–18 months for fluid vaccines, and  
 717 possibly 24 months for lyophilised vaccines.

## 718 2. Method of manufacture

719 Whatever method is adopted, close attention should be paid to the quality of the substrate. Eggs should be of SPF  
 720 origin, and the cell cultures, such as BHK cell lines, should conform to international standards of sterility and innocuity.

721 During manufacture, the multiplication of the virus in one of the substrates mentioned above is monitored, followed by  
 722 harvesting at the most appropriate time, usually 4–6 days after inoculation of eggs or cell cultures. The virus harvest is  
 723 suspended in a buffer solution at a dilution that will provide an optimum antigenicity of the end-product. If required, the  
 724 suspension is either inactivated or lyophilised. An adjuvant is recommended for vaccines prepared from inactivated  
 725 virus, as well as for other vaccine antigens that may be incorporated in polyvalent vaccines.

### 726 a) In cell cultures

727 Cultures are infected with cell-culture-adapted strains of rabies virus and incubated at 35–36°C. These may then  
 728 be used as live virus vaccines (as in Flury and SAD vaccines), or as inactivated vaccines after the addition of  
 729 phenol (Semple vaccine) or some other chemical, such as beta-propiolactone.

730 Cell culture can also be used to grow the vector viruses (e.g. vaccinia virus) harbouring the gene coding for the  
 731 expression of rabies virus glycoprotein (31).

### 732 b) In eggs

733 A modified egg-adapted strain of virus is inoculated into SPF-embryonated chicken eggs, which are then incubated  
 734 at 38°C for 5–6 days. The virus is harvested in the form of infective embryo tissues, and is usually lyophilised and  
 735 used as a live vaccine. Examples of such vaccines include those that contain the Flury low egg passage (LEP), or  
 736 the more desirable high egg passage (HEP) variant strain, which is safer for some animal species such as the cat.

### 737 c) In animals

738 Nervous tissue vaccines prepared in animals are no longer considered safe or effective, and their use should be  
 739 discontinued.

## 740 3. In-process control

741 This consists of monitoring virus growth to provide an optimum titre and ensure the absence of undesirable microbial  
 742 contamination.

743 In live virus vaccines, kinetics of virus growth should be established in order to ensure a final titre of virus correlated to  
 744 the desired protection in target species.

745 In inactivated virus vaccines, immunogenic properties of the final product may be evaluated by *in-vitro* techniques (e.g.  
 746 ELISA, agar gel immunodiffusion, antibody-binding tests or infected cell staining). These evaluations will indicate the  
 747 best time for harvesting the virus in cell cultures.

## 748 4. Batch control

### 749 a) Sterility

750 Tests for sterility and freedom from contamination of biological materials may be found in Chapter 1.1.9.

### 751 b) Safety

752 Safety tests for batches of inactivated virus vaccines are carried out by inoculation of cell culture or intracerebrally  
 753 into mice to detect viable virus. A suitable safety test for live rabies vaccines should be carried out on each lot of  
 754 vaccine, in the intended host species. At least three, preferably five to six animals of the intended host species  
 755 should be given a dose equivalent to ten times the recommended field dose, by the recommended route of  
 756 administration. The animals should be observed for 180 days for adverse reactions attributable to the vaccine (23).

757

758 **c) Potency/biological activity**

759 The amount of virus present in live attenuated and recombinant vaccines is determined by titration. Once a  
 760 correlation has been established between the activity of the vaccine in the target species and virus titres, virus  
 761 titrations become reliable indicators of vaccine efficacy. This is carried out using cell cultures or by the  
 762 intracerebral inoculation of unweaned mice (in mice it is only possible with a few attenuated viruses). Recombinant  
 763 vaccines should be monitored for the expressed rabies protein until assured that expression stability is maintained  
 764 in the manufacturing process. Titre of the vector can then be used as a reliable indicator of vaccine efficacy.

765 For inactivated virus vaccines, correlation between potency in the target species and antigenic value as estimated  
 766 in mice provides a reliable indicator of vaccine activity. The potency of the vaccine is established in the USA by the  
 767 National Institutes of Health (NIH) test. Elsewhere, the European Pharmacopoeia test is widely adopted.

768 Groups of at least ten mice, aged 3–4 weeks, are inoculated with single, decreasing doses of vaccine in  
 769 accordance with the European Pharmacopoeia (23), or with two doses, 1-week apart, according to the NIH test  
 770 (45). A sufficient number of dilutions of vaccine are compared to estimate the dilution at which 50% of the mice are  
 771 protected against intracerebral challenge 14 days later (23, 45).

772 A WHO international standard vaccine is available (see footnote 2) for calibration of national standards, so that the  
 773 results of testing for antigenicity can be expressed in IUs. The test is not valid unless:

774 i) For both the vaccine to be examined and the standard preparation, the PD<sub>50</sub> (50% protective dose) lies  
 775 between the largest and smallest doses given to the mice.

776 ii) The titration of the challenge virus suspension shows that 0.03 ml of the suspension contained 25 mouse  
 777 intra-cranial LD<sub>50</sub> (MIC LD<sub>50</sub>). The challenge dose should be in the range 12–50 LD<sub>50</sub> for a valid test.

778 iii) The confidence interval ( $p = 0.95$ ) for the test should not be less than 25% and not more than 400% of the  
 779 estimated potency: statistical analysis should show a significant slope and no significant deviations from  
 780 linearity or parallelism of the dose–response lines.

781 The vaccine passes the test if the estimated potency is not less than 1 IU per dose, in the smallest prescribed  
 782 dose.

783 A simplified test can also be used for the purpose of anticipating which vaccines are likely to be of an antigenic  
 784 value  $\geq 1$  IU per dose (4). This test used as a screening test is a good way to reduce the number of mice used in  
 785 vaccine potency control tests.

786 **d) Duration of immunity**

787 Duration of immunity must be established for the product licence in the target species with a defined vaccination  
 788 protocol.

789 **e) Stability**

790 The proposed shelf life must be verified by appropriate tests. These experiments include biological and physico-  
 791 chemical stability tests, and should be performed on a sufficient number of batches of vaccine stored under  
 792 recommended conditions.

793 The thermostability of live virus vaccines in liquid form is generally poor. For freeze-dried inactivated virus  
 794 vaccines, stability is generally granted for 2 years at 4°C.

795 **f) Preservatives**

796 Inactivated virus vaccines may contain preservatives (formalin, merthiolate). The nature and quantity of these  
 797 preservatives should comply with national control regulations.

798 **5. Tests on the final product**799 **a) Safety**

800 See Section C.4.b.

801

802 **b) Potency**

803 See Section C.4.c.

804 **6. Oral vaccination**

805 The concept of oral vaccination is unique: as stray or wild animals are out of physical reach, dropping vaccine baits into  
 806 their environment is the only way to immunise them. In the 1980s and 1990s, the Veterinary Public Health Department  
 807 of WHO organised several meetings of rabies experts to define the requirements for guaranteeing the safety and  
 808 efficacy of vaccines both for the target species (red fox, raccoon dog, skunk, dog, etc.) and nontarget species, namely  
 809 wild rodents and any other wild and domestic species that might be in contact with baits or a recently vaccinated animal  
 810 (42, 44).

811 Several guidelines have been established for the quality criteria that vaccines have to satisfy before marketing; the most  
 812 precise documents are those produced by WHO, the European Pharmacopoeia and the European Commission (24, 25,  
 813 44). Available oral vaccines have been extensively tested by different routes (cerebral, muscular and oral) in a variety of  
 814 species: puppies and adults of carnivores, avian species, nonhuman primates, rodents and immunocompromised mice.  
 815 Nonhuman primates have been added to this list since the discovery in 1992 that the original SAD Bern strain is highly  
 816 pathogenic for baboons by the oral route (12).

817 All vaccines currently used for oral vaccination programmes are either modified live-virus vaccines or live recombinant  
 818 vaccines. At the present time, two oral vaccines are recommended by WHO (44): a recombinant vaccine – VRG  
 819 vaccine, and a highly attenuated vaccine – SAG2.

820 The production controls are closely related to the ones used for parenteral vaccines. The major differences concern  
 821 three points:

- 822 i) Safety of the vaccine for man, target and non-target species.
- 823 ii) Efficacy of the protection induced by the vaccine.
- 824 iii) Monitoring of the impact of oral vaccination campaigns in the field.

825 **a) Safety considerations**

826 For oral vaccination, either attenuated rabies strains or live-recombinant vaccines may be used. The vaccine  
 827 should not induce any adverse signs in target and nontarget species. For vaccines used for dog immunisation,  
 828 saliva should be checked for the absence of vaccinal virus because of possible contact with humans.

829 The attenuated rabies virus-based vaccines must achieve the lowest residual pathogenicity for target and  
 830 nontarget species (24); this is of utmost importance in the case of oral vaccination of dogs as dogs are often in  
 831 close contact with humans (44).

832 The recombinant vaccines cannot induce any risk of rabies; the safety controls concern only the possible residual  
 833 pathogenicity of the recombined parental virus.

834 **b) Protection induced by the vaccine**

835 The protection induced by the vaccine must be tested not only with the virus itself (to determine the minimal  
 836 vaccinating dose) but also with manufactured baits ready to be used in the field. For foxes for instance, the vaccine  
 837 should have a minimal titre corresponding to at least ten times the 100% protective dose (obtained with the same  
 838 vaccine experimentally by direct oral instillation) (14).

839 The protection status cannot be then checked by serology only; a virulent challenge with the homologous street  
 840 rabies virus is necessary because of the important implication of cell-mediated immunity in response to oral  
 841 vaccination (25).

842 **c) Monitoring the impact of oral vaccination**

843 The stability of the vaccine in the field is important. The European Commission stresses the importance of  
 844 checking the 100% protective dose after 7 days of exposure at 25°C (24). Each vaccine bait should be tested for  
 845 stability with a melting point above 40°C, and the blister or sachet containing the vaccine should still be covered by  
 846 the bait casing after 7 days exposure at 40°C (24).

847

848 Aerial distribution of baits is the only way to perform an homogenous, rapid and sufficient distribution for wildlife  
 849 vaccination. Quality control measures should be used to monitor different key points of baiting; control of vaccine  
 850 titre, control of area coverage by air and of baiting density should at least be constantly monitored. The cross  
 851 border cooperation between neighbouring countries is also needed to avoid any unvaccinated area along the  
 852 border.

853 For wildlife in Europe, two campaigns are performed yearly: the spring one aims at vaccinating the young  
 854 population of the target species, its period should then be fixed according to the biology of the target species. The  
 855 autumn campaign concerns both adult and young animals. It is generally admitted that four campaigns (i.e. 2  
 856 years) should be conducted after the last rabies diagnosis.

857 The impact of vaccination on the host/vector population is monitored in two different ways:

858 • Directly by measuring the bait uptake by the wild target species. This supposes that a biomarker (generally  
 859 tetracycline) is included in the bait casing. The same examination allows the age of animals to be determined.

860 • Directly by measuring the serological response of target animals. This serological control is better done using  
 861 validated ELISA techniques (22, Servat *et al.*, 2007) as they are more robust than seroneutralisation tests  
 862 when testing poor quality field specimens.

863 • Indirectly by measuring the incidence of rabies in the vaccinated area. Typing of field isolates should be  
 864 performed (44) either by using MAbs or by sequencing positive samples from areas where the target species  
 865 have been vaccinated with attenuated vaccines to possibly distinguish vaccine and field virus strains.

866 The first two controls should be performed on specially killed animals to collect good quality samples. Rabies  
 867 monitoring is more sensitive when performed in found dead or ill animals.

868

## REFERENCES

869 3. AUBERT M.F.A. (1992). Practical significance of rabies antibodies in cats and dogs. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*,  
 870 **11**, 735–760.

871 4. AUBERT M.F.A. & BLANCOU J. (1982). Test simplifié de contrôle d'activité des vaccins antirabiques à virus inactivés.  
 872 *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **1**, 811–822.

873 BADRANE H ., BAHLOUL C ., PERRIN P.&, TORDO N . (2001). Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct  
 874 pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol.*, **75**, 3268–3276.

875 6. BAER G.M. (1991). The Natural History of Rabies, Second Edition. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 620 pp.

876 BARRAT J. (1992). Experimental diagnosis of rabies. Adaptations to field and tropical conditions. SEARG proceedings,  
 877 72–83. BARRAT J. & AUBERT M.F.A. (1995). Diagnostic de la rage animale en France de 1991 à 1993, bilan de CNEVA  
 878 laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages en France. *Revue Méd. Vét.*, **146**, 561–566.

879 BARRAT J. & AUBERT M.F.A. (1995). Diagnostic de la rage animale en France de 1991 à 1993, bilan de CNEVA  
 880 laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages en France. *Revue Méd. Vét.*, **146**, 561–566.

881 BARRAT J. & BLANCOU J. (1988). Technique simplifiée de prélèvement, de conditionnement et d'expédition de matière  
 882 cérébrale pour le diagnostic de rage. *Doc. WHO/Rab. Res./88.27*.

883 6. BINGHAM J., FOGGIN C.M., GERBER H., HILL F.W.G., KAPPELER A., KING A., PERRY B.D. & WANDELER A. (1992).  
 884 Pathogenicity of SAD vaccine rabies vaccine given orally in Chacma baboons (*Papio ursinus*). *Vet. Rec.*, **131**, 55–  
 885 56.

886 BINGHAM J. & VAN DER MERWE M. (2002). Distribution of rabies antigen in infected brain material: determining the reliability  
 887 of different regions of the brain for the rabies fluorescent antibody test. *J. Virol. Methods*, **101**, 85–94.

888

- 889 14. BLANCOU J., SCHNEIDER L.G., WANDELER A. & PASTORET P.P. (1986). Vaccination du renard roux (*Vulpes vulpes*)  
890 contre la rage par voie orale. Bilan d'essais en station expérimentale. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, **40**, 249–255.
- 891 15. BLANCOU J., SORIA BALTAZAR R., MOLLI I. & STOLTZ J.F. (1991). Effective postexposure treatment of rabies-infected  
892 sheep with rabies immune globulin and vaccine. *Vaccine*, **9**, 432–437.
- 893 BLANTON J.D., SELF J., NIEZGODA M., FABER M.L., DIETZSCHOLD B. & RUPPRECHT C. (2007). Oral vaccination of raccoons  
894 (*Procyon lotor*) with genetically modified rabies virus vaccines. *Vaccine*, **25** (42), 7296–7300.
- 895 BOURHY H., KISSI B. & TORDO N. (1993). Molecular diversity of the lyssavirus genus. *Virology*, **194**, 70–81.
- 896 19. BROCHIER B., KIENY M.P., COSTY F., COPPENS P., BAUDUIN B., LECOCQ J.P., LANGUET B., CHAPPUIS G., DESMETTRE P.,  
897 AFIADEMANYO K., LIBOIS R. & PASTORET P.-P. (1991). Large-scale eradication of rabies using recombinant vaccinia-  
898 rabies vaccine. *Nature*, **354**, 520–522.
- 899 20. BROOKES S.M., PARSONS G., JOHNSON N., MCELHINNEY L.M. & FOOKS A.R. (2005). Rabies human diploid cell vaccine  
900 elicits cross-neutralising and cross-protecting immune responses against European and Australian bat  
901 lyssaviruses. *Vaccine*, **23**, 4101–4109.
- 902 CLIQUET F. & AUBERT M. (2004). ELIMINATION OF TERRESTRIAL RABIES IN WESTERN EUROPEAN COUNTRIES. *DEV. BIOL. (BASEL)*,  
903 119, 185–204.
- 904 CLIQUET F., AUBERT M. & SAGNE L. (1998). Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for  
905 the quantitation of rabies-neutralising antibody. *J. Immunol. Methods*, **212**, 79–87.
- 906 22. CLIQUET F., SAGNE L., SCHEREFFER J.L. & AUBERT M.F.A. (2000). ELISA tests for rabies antibody titration in orally  
907 vaccinated foxes sampled in the fields. *Vaccine*, **18**, 3272–3279.
- 908 23. COUNCIL OF EUROPE (2005). *Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpen*. Rabies vaccine (live, oral) for foxes.  
909 European Pharmacopoeia, Fifth Edition. Monograph 074663. Editions of the Council of Europe, Strasbourg, France,  
910 792.
- 911 DATO V., MOOSE C., REA N., FRASER G., SEIDERS J., RITTLE C., URDANETA V., OST S., ENCARNACION C., REYNOLDS M., DAMON  
912 I., LI Y., DAVIDSON W., WILKINS K., MC DOWELL E., RUPPRECHT C.E., ORCIARI L., SMITH S. & ROESS A. (2009). Human  
913 vaccinia infection after contact with a raccoon rabies vaccine-bait – Pennsylvania, 2009. *JAMA*, **302**, 2426–2428.
- 914 24. EUROPEAN COMMISSION (2002). The oral vaccination of foxes against rabies. Report of the Scientific Committee on  
915 Animal Health and Animal Welfare, adopted 23 October 2002. European Commission, Health and Consumer  
916 Protection Directorate-General, Directorate C – Scientific Opinions, C2 – Management of Scientific Committees;  
917 Scientific Co-Operation and Networks, 55 pages.
- 918 25. EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES (2007). Rabies Vaccine (live, oral) for foxes (2007).  
919 European Pharmacopoeia 06, 01: 952–953.
- 920 FOOKS A.R., JOHNSON N., FREULING C.M., WAKELEY P.R., BANYARD A.C., MCELHINNEY L.M., MARSTON D.A., DASTJERDI A.,  
921 WRIGHT E., WEISS R.A. & MULLER T. (2009). Emerging technologies for the detection of rabies virus: challenges and  
922 hopes in the 21st century. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **3**, e530.
- 923 GENOVESE M.A. & ANDRAL L. (1978). Comparaison de deux techniques utilisées pour le diagnostic de la rage:  
924 l'immunofluorescence et l'immunoperoxydase. *Rec. Méd. Vet.*, **154** (7–8), 667–671.
- 925 HANLON C.A., KUZMIN I.V., BLANTON J.D., WELDON W.C., MANANGAN J.S. & RUPPRECHT C.E. (2005). Efficacy of rabies  
926 biologics against new lyssaviruses from Eurasia. *Virus Res.*, **111**, 44–54.
- 927 HOOPER D.C., MORIMOTO K., BETTE M., WEIHE E., KOPROWSKI H. & DIETZSCHOLD B. (1998). Collaboration of antibody and  
928 inflammation in clearance of rabies virus from the central nervous system. *J. Virol.*, **72**, 3711–3719.
- 929 KNOWLES M.K., NADIN-DAVIS S.A., SHEEN M., ROSATTE R., MUELLER R. & BERESFORD A. (2009). Safety studies on an  
930 adenovirus recombinant vaccine for rabies (AdRG1.3-ONRAB) in target and non-target species. *Vaccine*, **27**, 6619–  
931 6626.
- 932

- 933 [ICTV \(International Committee on Taxonomy of viruses\): http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1](http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1)
- 934 [KANG B., OH J., LEE C., PARK B.K., PARK Y., HONG K., LEE K., CHO B. & SONG D. \(2007\). Evaluation of a rapid](#)  
935 [immunodiagnostic test kit for rabies virus. \*J. Virol. Methods\*, \*\*145\*\*, 30–36.](#)
- 936 31. KIENY M.P., LATHE R., DRILLIEN R., SPEHNER D., SKORY S., SCHMITT D., WIKTOR T., KOPROWSKI H. & LECOCQ J.P.  
937 (1984). Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. *Nature*, **312**, 163–166.
- 938 [KUZMIN I.V., MAYER A.E., NIEZGODA M., MARKOTTER W., AGWANDA B., BREIMAN R.F. & RUPPRECHT C.E. \(2010\). Shimoni bat](#)  
939 [virus, a new representative of the Lyssavirus genus. \*Virus Res.\*, Feb 6. \[Epub ahead of print\]](#)
- 940 [LEMBO T., NIEZGODA M., VELASCO-VILLA A., CLEVELAND S., ERNEST E. & RUPPRECHT C.E. \(2006\). Evaluation of a direct,](#)  
941 [rapid immunohistochemical test for rabies diagnosis. \*Emerg. Infect. Dis.\*, \*\*12\*\* \(2\), 310–313.](#)
- 942 [LYNG J. \(1994\). Calibration of a replacement preparation for the international standard for rabies immunoglobulin.](#)  
943 [\*Biologicals\*, \*\*22\*\* \(3\), 249–255.](#)
- 944 MONTANO HIROSE J.A., BOURHY H. & SUREAU P. (1991). Retro-orbital route for brain specimen collection for rabies  
945 diagnosis. *Vet. Rec.*, **129**, 291–292.
- 946 [NADIN-DAVIS S.A. & FEHLNER-GARDINER C. \(2008\). Lyssaviruses – Current Trends. \*Adv. Virus Res.\*, \*\*71\*\*, 207–250.](#)
- 947 [PICARD-MEYER E., BARRAT J. & CLIQUET F. \(2007\). Use of filter paper \(FTA\) technology for sampling, recovery and](#)  
948 [molecular characterisation of rabies viruses. \*J. Virol. Methods\*, \*\*140\*\*, 174–182.](#)
- 949 [ROOT J.J., MCLEAN R.G., SLATE D., MACCARTHY K.A. & OSORIO J.E. \(2008\). Potential effect of prior raccoonpox virus](#)  
950 [infection in raccoons on vaccinia-based rabies immunization. \*BMC Immunol.\*, \*\*9\*\*, 57–63.](#)
- 951 [ROSATTE R.C., POWER M.J., DONOVAN D., DAVIES J.C., ALLAN M., BACHMANN P., STEVENSON B., WANDELER A. & MULDOON F.](#)  
952 [\(2007\). Elimination of arctic variant rabies in red foxes, metropolitan Toronto. \*Emerg. Inf. Dis.\*, \*\*413\*\* \(1\), 25–27.](#)
- 953 RUDD R.J. & TRIMACHI C.V. (1989). Development and evaluation of an *in vitro* virus isolation procedure as a replacement  
954 for the mouse inoculation test in rabies diagnosis. *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 2522–2528.
- 955 [RUPPRECHT C.E., BLASS L., SMITH K.C., ORCIARI L.A., NIEZGODA M., WHITFIELD S., GIBBONS R.V., GUERRA M. & HANLON C.A.](#)  
956 [\(2001\). Human infection due to recombinant vaccinia-rabies glycoprotein vaccinia-rabies glycoprotein virus. \*N. Engl. J.\*](#)  
957 [\*Med.\*, \*\*345\*\* \(8\), 582–586. Erratum in: \*N. Engl. J. Med.\*, \(2001\) \*\*345\*\* \(24\), 1784.](#)
- 958 SERVAT A., FEYSSAGUET M., BLANCHARD I., MORIZE J.L., SCHEREFFER J.L., BOUÉ F. & CLIQUET F. (2007). A quantitative  
959 indirect ELISA to monitor the effectiveness of rabies vaccination in domestic and wild carnivores. *J. Immunol. Methods*,  
960 **318**, 1–10.
- 961 SMITH J.S., YAGER P.A. & BAER G.C. (1973). A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody. *Bull.*  
962 *WHO*, **48**, 535–541.
- 963 [TURMELLE A.S., ALLEN L.C., JACKSON F.R., KUNZ T.H., RUPPRECHT C.E. & MCCracken G.F. \(2009\). Ecology of rabies virus](#)  
964 [exposure in colonies of Brazilian free-tailed bats \(\*Tadarida brasiliensis\*\) at natural and man-made roosts in Texas. \*Vector\*](#)  
965 [\*Borne Zoonotic Dis.\*, Jun 3. \[Epub ahead of print\].](#)
- 966 37. VON TEICHMAN B.F., DE KOKER W.C., BOSCH S.J., BISHOP G.C., MERIDITH C.D. & BINGHAM J. (1998). Mokola virus  
967 infection: description of recent south African cases and a review of the virus epidemiology. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*,  
968 **69**, 169–171.
- 969 WARNER C.K., WHITFIELD S.G., FEKADU M. & HO H. (1997). Procedures for reproducible detection of rabies virus antigen  
970 mRNA and genome *in situ* in formalin-fixed tissues. *J. Virol. Methods*, **67**, 5–12.
- 971 WEYER J., RUPPRECHT C.E. & NEL L.H. (2009). Poxvirus-vectored vaccines for rabies – a review. *Vaccine*, **27** (51), 7198–  
972 7201.
- 973 [WORLD HEALTH ORGANISATION. Recombinant vaccines for oral immunization of wildlife:](http://www.who.int/rabies/vaccines/recombinant/en/index.html)  
974 <http://www.who.int/rabies/vaccines/recombinant/en/index.html>
- 975

- 976 42. WORLD HEALTH ORGANIZATION (1989). Report of WHO Consultation on requirements and criteria for field trials on  
977 oral rabies vaccination of dogs and wild carnivores, Geneva, 1–2 March 1989, *Doc. WHO/Rab.Res./89.32*.
- 978 WORLD HEALTH ORGANISATION (1996). Laboratory Techniques in Rabies, Fourth Edition, Meslin F.-X., Kaplan M.M. &  
979 Koprowski H., eds. WHO, Geneva, Switzerland.
- 980 WORLD HEALTH ORGANIZATION EXPERT COMMITTEE ON BIOLOGICAL STANDARDS. THIRTY-FIFTH REPORT (1985). World Health  
981 Organisation Technical Report Series No. 725. WHO, Geneva, Switzerland.
- 982 43. WORLD HEALTH ORGANIZATION EXPERT COMMITTEE ON RABIES. EIGHTH REPORT (1992). World Health Organisation  
983 Technical Report Series No. 824, 84 pp.
- 984 WORLD HEALTH ORGANIZATION EXPERT COMMITTEE ON RABIES, EIGHTH REPORT (2005). World Health Organisation, WHO  
985 Technical Report Series, **931**, WHO, Geneva, Switzerland, 1–87.
- 986 XU G., WEBER P., HU Q., XUE H., AUDRY L., LI C., WU J. & BOURHY H. (2007). A simple sandwich ELISA (WELYSSA) for the  
987 detection of lyssavirus nucleocapsid in rabies suspected specimens using mouse monoclonal antibodies. *Biologicals*,  
988 **35**, 297–302.
- 989 ~~ZHANG S., LIU Y., FOOKS A.R., ZHANG F. & HU R. (2008). Oral vaccination of dogs (*Canis familiaris*) with baits containing  
990 the recombinant rabies canine adenovirus type 2 vaccine confers long-lasting immunity against rabies. *Vaccine*, **26** (3),  
991 345–350.~~
- 992 \*
- 993 \* \*
- 994 **NB:** There are OIE Reference Laboratories for Rabies (see Table in Part 3 of this *Terrestrial Manual* or consult the OIE  
995 Web site for the most up-to-date list: [www.oie.int](http://www.oie.int)).

## Commission des normes biologiques

### Programme de travail et activités (à partir du 11 février 2011)

Thématiques	État d'avancement	Actions
1. Mise à jour du <i>Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres</i>	Fin des discussions sur le mode opératoire et le calendrier ; Approbation des recommandations du consultant/rédacteur pour la rationalisation des chapitres du <i>Manuel</i> .	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prolongation d'un jour de la réunion de la CNB</li> <li>• Sélection d'experts supplémentaires pour concourir à l'examen des projets de chapitres révisés</li> <li>• Actualisation des consignes aux auteurs</li> <li>• Réflexion sur un document d'orientation sur les maladies non inscrites dans le(s) <i>Manuel(s)</i></li> </ul>
2. Chapitres du <i>Manuel</i> à présenter pour adoption en mai 2011	Achèvement de la révision des chapitres soumis pour adoption en mai 2011	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diffusion pour commentaires de la part des Membres</li> </ul>
3. Chapitres du <i>Manuel</i> à présenter pour adoption en mai 2012	Fin de la sélection des chapitres à présenter pour adoption en mai 2012	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diffusion des chapitres terminés pour commentaires de la part des Membres</li> <li>• Demander aux Experts de l'OIE de confirmer la nécessité d'une révision</li> <li>• Demander aux Experts de l'OIE de commencer la révision</li> </ul>
4. Mandat et règlement intérieur des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE	Propositions d'amendements préparés par le GAH chargé du partenariat	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Présentation au Conseil des propositions relatives au mandat et au règlement intérieur</li> <li>• Actualiser les consignes aux auteurs</li> </ul>
5. Désignation des Centres de référence	En cours	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chercher à obtenir un document d'orientation concernant les Laboratoires de référence pour les maladies non inscrites sur la liste</li> </ul>
6. Révision du modèle pour les rapports annuels d'activités des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs	Achèvement de la révision du rapport du consultant/rédacteur sur les rapports annuels d'activités 2009	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modifier le modèle pour une meilleure lisibilité des consignes</li> </ul>
7. Examen des rapports annuels d'activités 2010 des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rechercher de nouveaux mécanismes pour l'examen des rapports 2011</li> <li>• Discuter des possibilités de participation des membres de la CNB aux visites de laboratoires sélectionnés</li> </ul>

### Groupes ad hoc

Groupes existants		
Dénomination du Groupe ad hoc	Progrès constatés à la réunion de fév. 2011 de la CNB	Actions à mener avant la réunion de sept. 2011 de la CNB
Partenariat scientifique entre les Centres de référence	Achèvement de l'examen du mandat et du règlement intérieur.	Élaboration de conseils pratiques sur les réseaux (préparés éventuellement par la CNB ou à défaut par le GAH)
Qualité des vaccins contre la fièvre aphteuse	Approbation du projet de mandat et sélection éventuelle des membres	La réunion se tiendra du 29 au 31 mars 2011. Le rapport sera mis à la disposition de la CNB.
Validation des épreuves pour les animaux sauvages	Approbation du projet de mandat et sélection éventuelle des membres	La réunion se tiendra du 27 au 29 avril 2011. Le rapport sera mis à la disposition de la CNB
Groupes à mettre en place		
Normes de biosécurité et de confinement biologique des laboratoires vétérinaires	Approbation du projet de mandat	Sélection des membres putatifs et choix des dates
Épreuves diagnostiques associées aux technologies nouvelles et émergentes	Un expert consulté sur la question a estimé que la réunion de ce Groupe répondait à un besoin réel	La Commission a sélectionné l'auteur qui sera chargé de la mise à jour du chapitre du <i>Manuel</i> sur les biotechnologies dans le diagnostic des maladies infectieuses et le développement des vaccins



---

© **Organisation mondiale de la santé animale (OIE), 2011**

Le présent document a été préparé par des spécialistes réunis par l'OIE. En attendant son adoption par l'Assemblée mondiale des Délégués de l'OIE, les points de vue qui y sont exprimés traduisent exclusivement l'opinion de ces spécialistes.

Toutes les publications de l'OIE (Organisation mondiale de la santé animale) sont protégées par la législation sur le droit d'auteur. Des extraits peuvent être copiés, reproduits, traduits, adaptés ou publiés dans des revues, documents, ouvrages, moyens de communication électronique et tout autre support destiné au public à des fins d'information, pédagogiques ou commerciales, à condition que l'OIE ait préalablement donné son accord écrit.

Les appellations et dénominations employées et la présentation du matériel utilisé dans ce rapport n'impliquent aucunement l'expression d'une opinion quelle qu'elle soit de la part de l'OIE concernant le statut juridique de tout pays, territoire, ville ou zone relevant de son autorité, ni concernant la délimitation de ses frontières ou de ses limites.

La responsabilité des opinions exprimées dans les articles signés incombe exclusivement à leurs auteurs. Le fait de citer des entreprises ou des produits de marque, qu'ils aient ou pas reçu un brevet, n'implique pas qu'ils ont été approuvés ou recommandés par l'OIE préférentiellement à d'autres de nature similaire qui ne sont pas mentionnés.