RHABDOVIRIDAE

Pr Sabrina Amiri
Laboratoire de microbiologie
Faculté de médecine Annaba

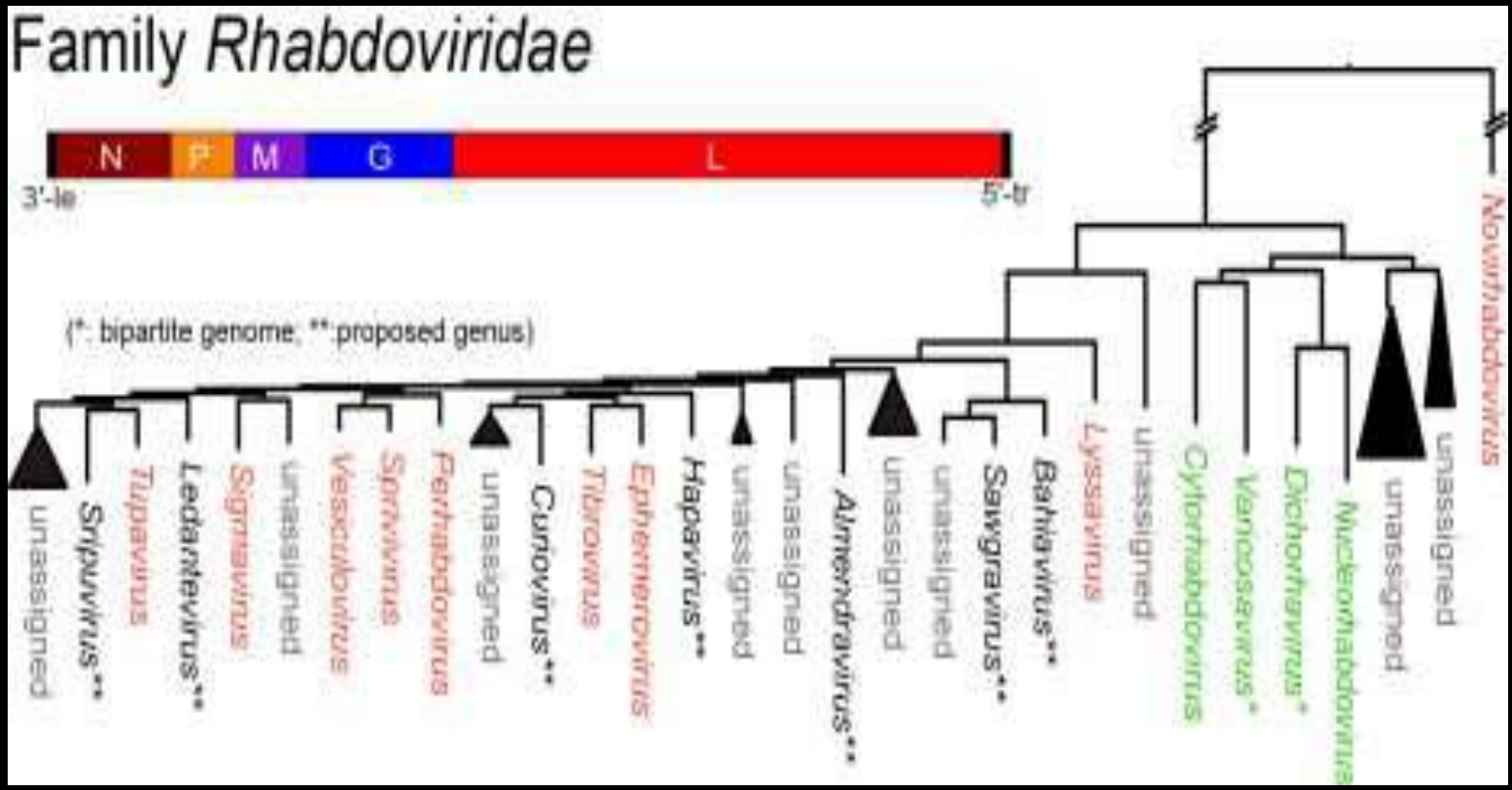
1 - Classification

la famille des ***Rhabdoviridae*** (du grec *rhabdos*, baguette, d'après la forme "rectangulaire" du virion) .

Comprend150 espèces de rhabdovirus qui infectent les animaux et les plantes.

-l'ordre ***Mononégavirales***

leur **génome est un ARN non segmenté (*Mono*) de polarité négative (*néga*)**



- Comprend plusieurs genres (+30) dont
- -lyssavirus (virus de la rage)
- *Vesiculovirus(virus de la stomatite vésiculaire)*

- Les virus de la rage appartiennent au genre ***Lyssavirus*** (du grec *lussa,* la folie). La détermination de la séquence du génome viral codant la protéine N permet de définir **7 génotypes** :

génotype	Virus	Distribution géographique	espèces concernées	Efficacité du vaccin
1	Rage classique	mondiale	Homme, carnivores sauvages et domestiques, chauves-souris.	oui
2	Lagos bat	Afrique	chauves-souris frugivores, chats, chiens.	non
3	Mokola	Afrique	Homme, musaraignes, chats, chiens, rongeurs.	non
4	Duvenhage	Afrique du Sud	Homme, chauves-souris insectivores.	non
5	EBL-1 European Bat Lyssavirus	Europe	Homme, chauves-souris insectivores.	partielle
6	EBL-2 European Bat Lyssavirus	Europe	Homme, chauves-souris insectivores.	oui
7	ABL Australian BL	Australie	Homme, chauves-souris frugivores et insectivores.	oui

Structure

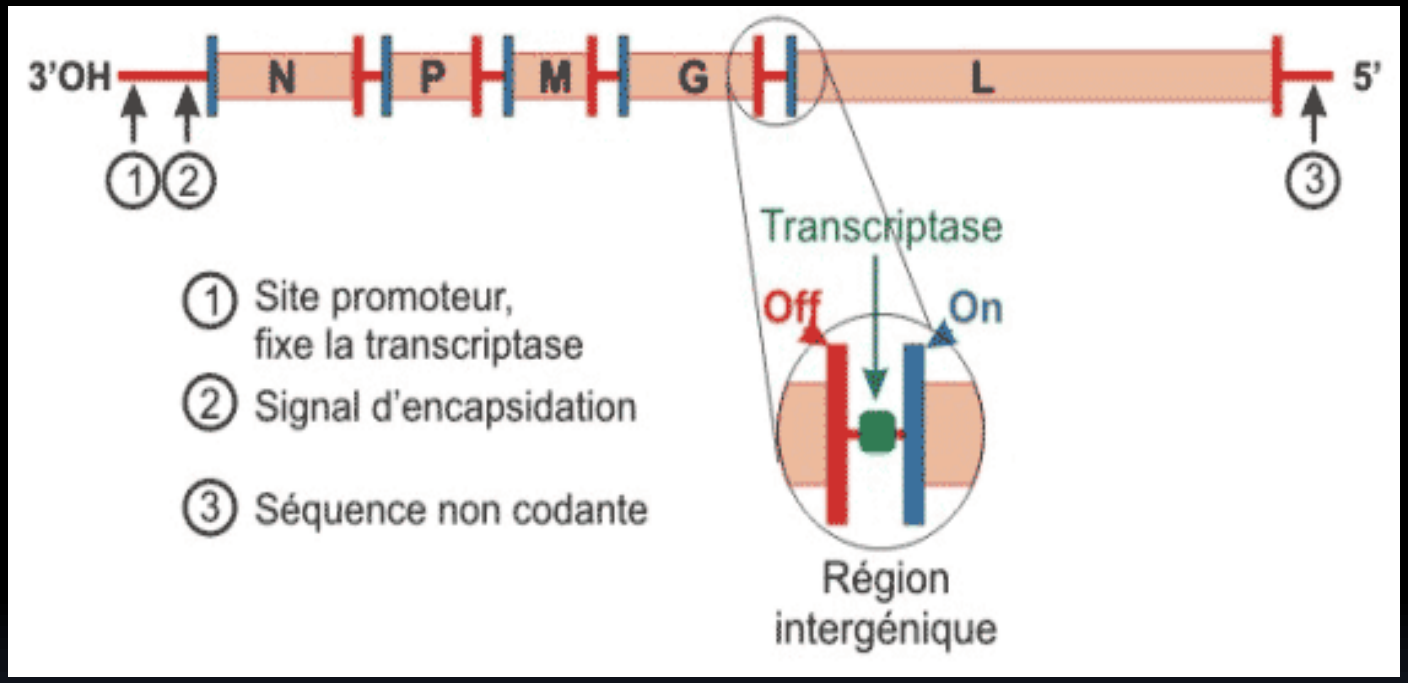
- Les *Rhabdovirus* se présentent sous la **forme d'un bâtonnet** (longueur variable de 120 à 180 nm) avec une extrémité plate et l'autre arrondie, leur conférant un aspect en "balle de revolver" tout à fait caractéristique. Il existe des formes filamenteuses allant jusqu'à 300 nm.
- Ce sont des **virus enveloppés** avec une **nucléocapside à symétrie hélicoïdale**

1° - la nucléocapside

le génome

c'est un ARN non segmenté de 12 kb de long, de polarité négative, comprenant :

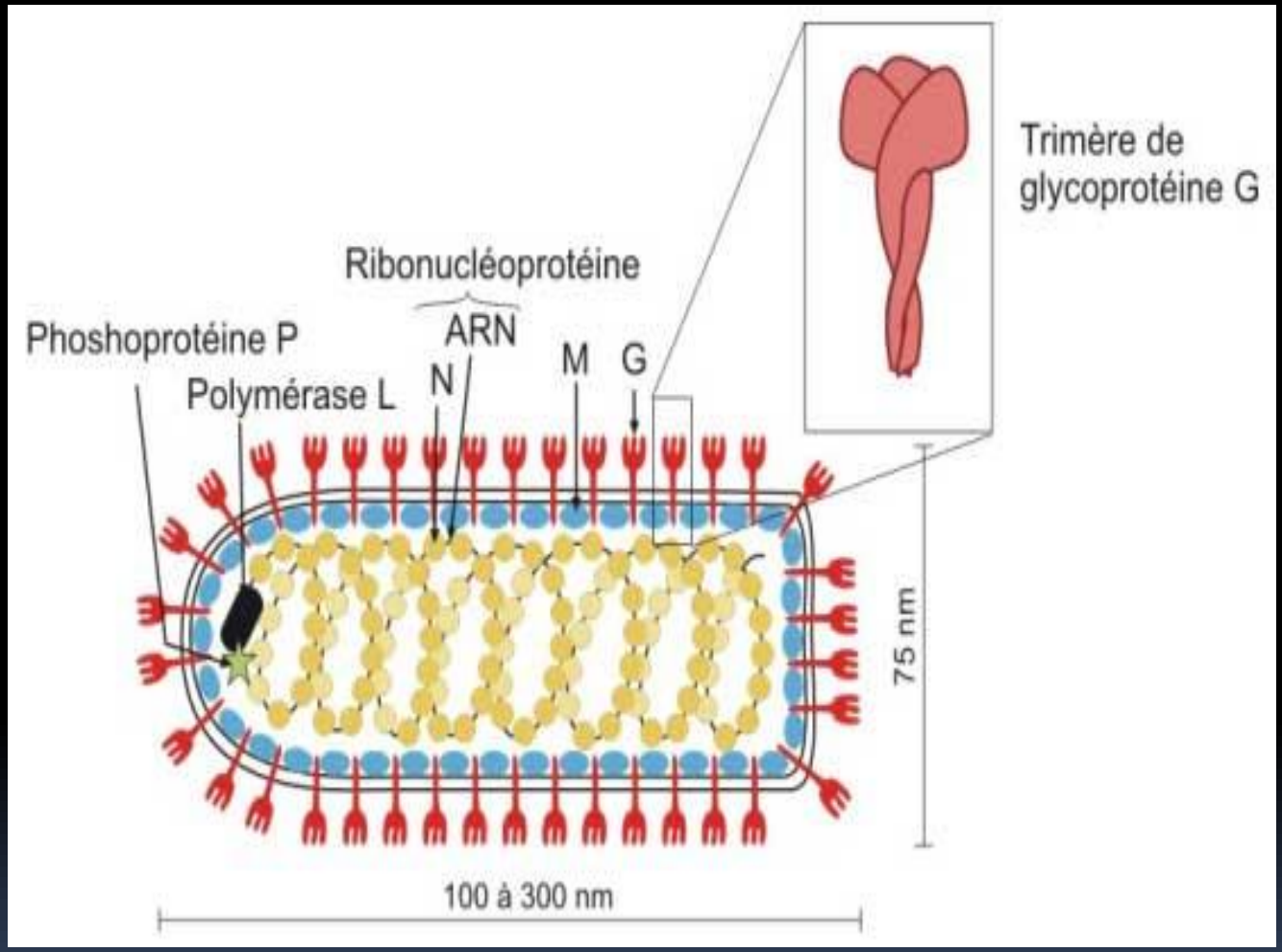
- site promoteur sur lequel la transcriptase peut se fixer
- , séquence leader : signal d'encapsidation
- **N**, **P**, **M**, **G**, **L** : 5 gènes codant les 5 protéines virales :
- **N** (pour Nucléoprotéine) code la protéine de capside N
- **P** (pour Phosphoprotéine) code le cofacteur de la protéine L
- **M** (pour Matrice) code la protéine de matrice M
- **G** (pour Glycoprotéine) code la glycoprotéine d'enveloppe G
- **L** (pour Large) code la transcriptaseles gènes sont séparé par une courte séquence identique :


3'OH
N
P
M
G
L
5'
1
2
3
Transcriptase
Off
On
1 Site promoteur, fixe la transcriptase
2 Signal d'encapsidation
3 Séquence non codante
Région intergénique

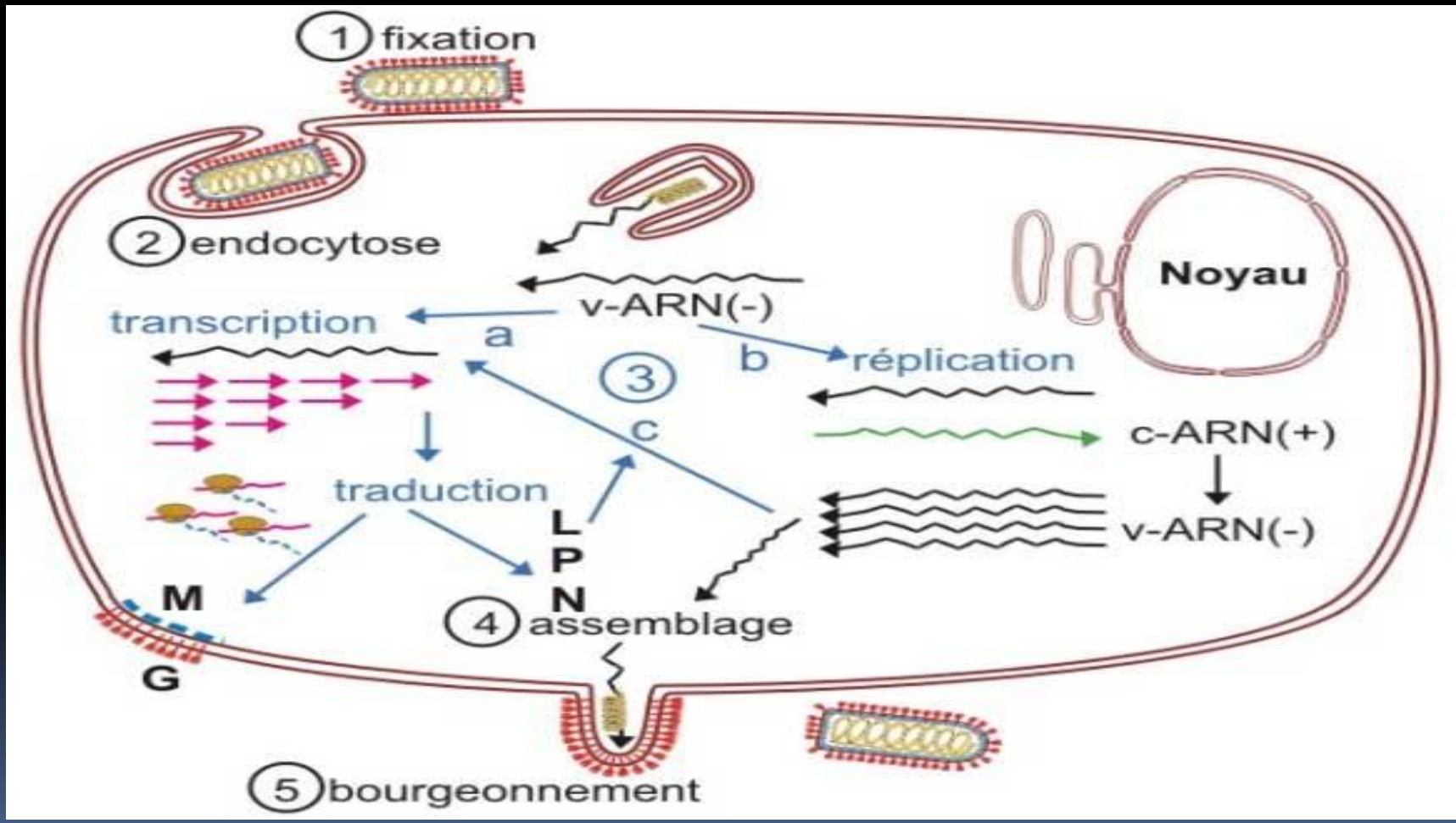
- **la capside** elle résulte de l'assemblage d'environ 1300 molécules de **protéine N** autour du génome pour former une nucléocapside de symétrie hélicoïdale. La nucléocapside prend l'allure d'un ressort condensé dans l'axe du virus.
- À l'intérieur de la capside on trouve aussi une centaine de molécules de **protéines L** et **P**.

- L’enveloppe

  L'enveloppe recouvre la nucléocapside, elle est constituée :
- **La glycoprotéine G** : Dans la double couche lipidique, d'origine cellulaire, sont insérées **les spicules** (trimères de la **glycoprotéine G**), assurant la fixation du virus aux récepteurs cellulaires. *La glycoprotéine G induit **des anticorps protecteurs** car ils empêchent la fixation des virions aux récepteurs cellulaires.*
- **La protéine matrice M** : la protéine M forme une couche qui tapisse la face interne de l'enveloppe. Elle intervient dans **l'assemblage du virion** en réunissant les spicules et en condensant la nucléocapside en hélice.


Trimère de
glycoprotéine G
Ribonucléoprotéine
ARN
Phoshoprotéine P
Polymérase L
N
M
G
75 nm
100 à 300 nm

Cycle de multiplication



Cycle de multiplication

a°- Fixation

Les spicules (trimères de **G**) se fixent aux récepteurs cellulaires. Les récepteurs doivent être présents sur les nombreux types cellulaires sensibles à l'infection : tissus musculaire, nerveux, cutané, glandulaire (glandes salivaires, foie, reins).
Le **récepteur nicotinique de l'acétylcholine** (nAchR) serait important pour l'infection des *cellules musculaires* et des *neurones* par le virus rabique.

b°- Pénétration

Le virion est endocyté par la cellule :
L'acidification de l'endosome modifie la conformation de la glycoprotéine **G** qui acquiert des propriétés *fusogéniques* : l'enveloppe fusionne avec la membrane de l'endosome et la nucléocapside est libérée dans le cytoplasme

- Phase des synthèses virales (éclipse)

i) l'expression du génome *:*

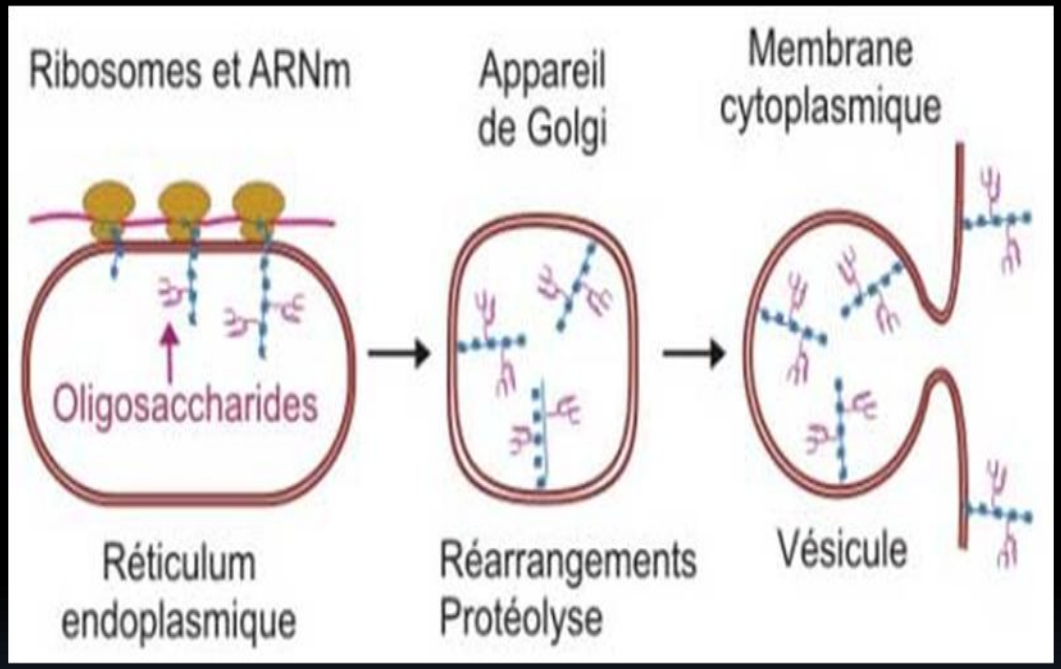
- L'ARN viral *(le v-ARN)* est transcrit en ARN messagers qui sont traduits en protéines.
  La libération de la nucléocapside dans le cytoplasme active **les complexes de transcription** [**P + L**] :
  - P, en reconnaissant le promoteur unique situé au début du génome, favorise le positionnement de **L**.
  - la protéine L exerce **3 activités enzymatiques** :

- *ARN polymérase ARN dépendante* : exerçant les deux activités transcriptase / réplicase,
- *méthylase* : pour la coiffe des ARN-messagers,
- *poly A polymérase* : pour la queue des ARN-messagers.
- Figure 6 : Expression du génome du virus de la rage. a) Transcription des ARNm et b) détail du fonctionnement de la transcriptase. N = nucléoprotéine ; P = phosphoprotéine ; L = protéine large (ARN polymérase)

- ***ii) Réplication du génome :***
- d'abord, synthèse de matrices d'ARN + (l'antigénome ou *c-ARN)*.
- puis synthèse de nouveaux génomes *(v-ARN)* à partir de ces matrices.
- ***iii) La transcription secondaire :***
  les nouveaux génomes sont transcrits en ARN messagers qui sont traduits en protéines de structure.

- Assemblage

  Des vésicules ont transporté les spicules vers la région baso-latérale de la membrane cytoplasmique avec laquelle elles fusionnent.


Ribosomes et ARNm
Appareil de Golgi
Membrane cytoplasmique
Oligosaccharides
Réticulum endoplasmique
Réarrangements Protéolyse
Vésicule

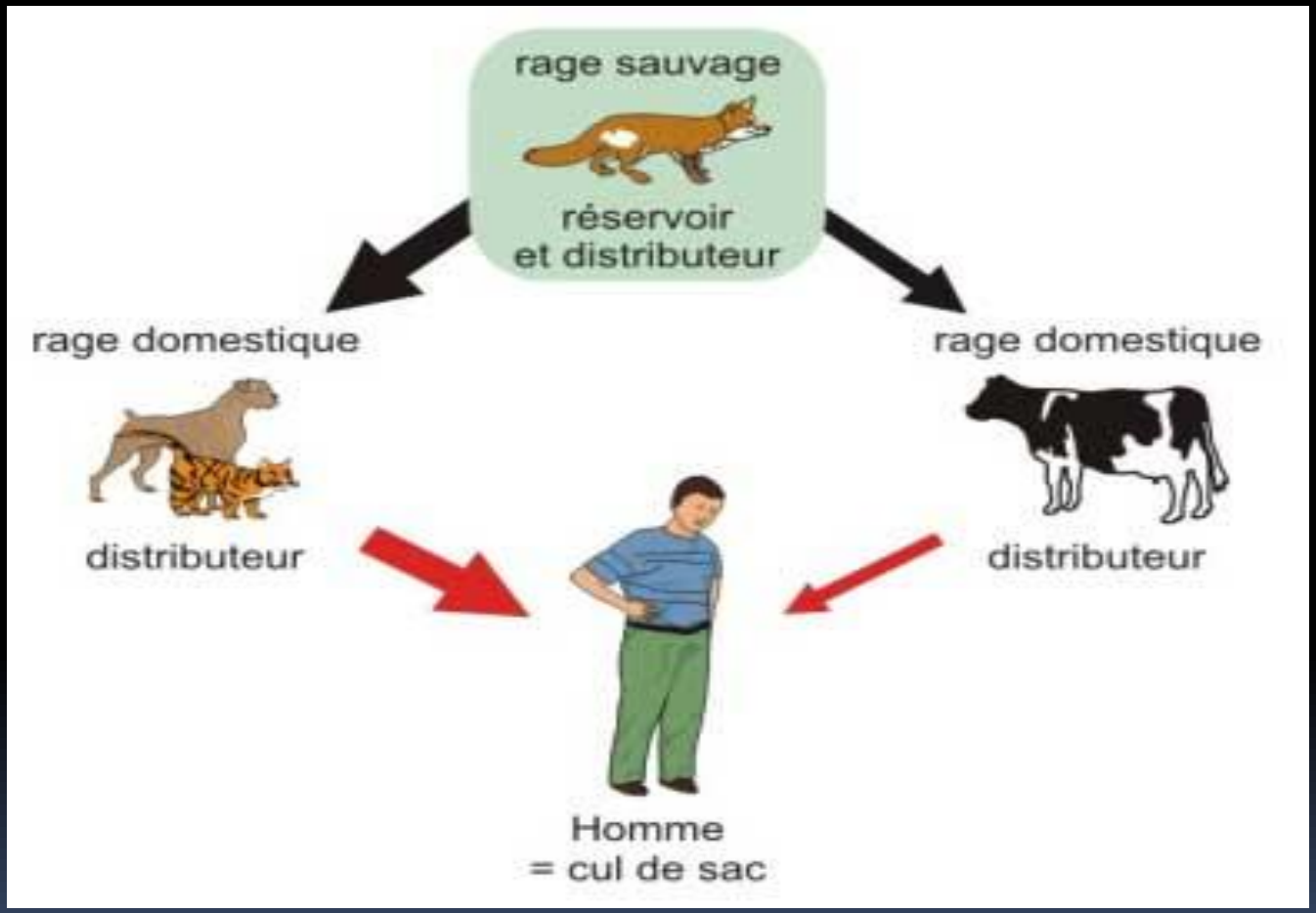
Libération

un bourgeonnement externe des particules virales, à partir de la membrane cytoplasmique,

.

épidémiologie

- La rage est **une zoonose**, c'est à dire **une maladie animale** qui peut être transmise à l'homme : *tous les animaux à sang chaud sont réceptifs à la rage*.


rage sauvage
réservoir
et distributeur
rage domestique
distributeur
rage domestique
distributeur
Homme
= cul de sac

Contamination

a° des réservoirs de virus
Une zoonose ne peut exister que grâce à **la permanence d'un réservoir animal** : dans le cas de la rage, les réservoirs de virus sont des mammifères **sauvages** qui hébergent le virus pendant une très longue durée.

b° des distributeurs de virus (les vecteurs)
- **les distributeurs primaires** sont les réservoirs du virus : les animaux sauvages infectés deviennent ***excréteurs de virus*** dans la salive et le transmettent par morsure, soit à leurs congénères – ce qui entretient le réservoir – soit à d'autres animaux qu'ils rencontrent.
- **les distributeurs secondaires** sont les animaux **domestiques** mordus par les animaux sauvages excréteurs : **chiens**, chats, bovins, chevaux, qui n'ont pas été vaccinés...

c° des hommes
En général, le virus de la rage sera transmis à l'homme de façon accidentelle **par inoculation de la salive virulente** d'un animal enragé, sauvage ou domestique : **par morsure** et, plus rarement, **par griffure** ou **par léchage** d'une plaie ou d'une muqueuse.
une fois déclarée, la rage est **une encéphalite** toujours mortelle

Voies de contamination

Voie cuatnée : *la peau saine est une barrière infranchissable pour le virus rabique.*
La contamination humaine par voie cutanée est la modalité la plus fréquente (99 %). Elle résulte :

- **le plus souvent de la morsure** par un animal enragé et excréteur de virus, et, plus rarement :
- **d'un léchage** sur une plaie fraîche,
- **d'une griffure** (chat) par des griffes souillées de bave,
- **de la manipulation** d'un animal enragé (mort ou vivant).

la voie aérienne

il s'agit d'une modalité **exceptionnelle** : l'inhalation d'un aérosol de particules virales (qui sont ensuite véhiculées par le nerf olfactif) est tout à fait exceptionnelle .

- les soins à un homme enragé
  la transmission interhumaine est théoriquement possible (mais n'a jamais été démontrée) .
  4 - les greffes de cornée d'un donneur en incubation de rage il s'agit d'une transmission interhumaine **exceptionnelle**

- **PHYSIOPATHOLOGIE DE LA RAGE**

  1 - la pénétration du virus
  Le virus de la rage est le plus souvent inoculé à son hôte lors de **la morsure** par un animal contaminé :

- il **se multiplie d'abord dans les cellules musculaires**.
  il pénètre dans le système nerveux par endocytose au niveau des terminaisons nerveuses libres et des jonctions neuromusculaires.

- 2 - l'invasion *centripète* du système nerveux

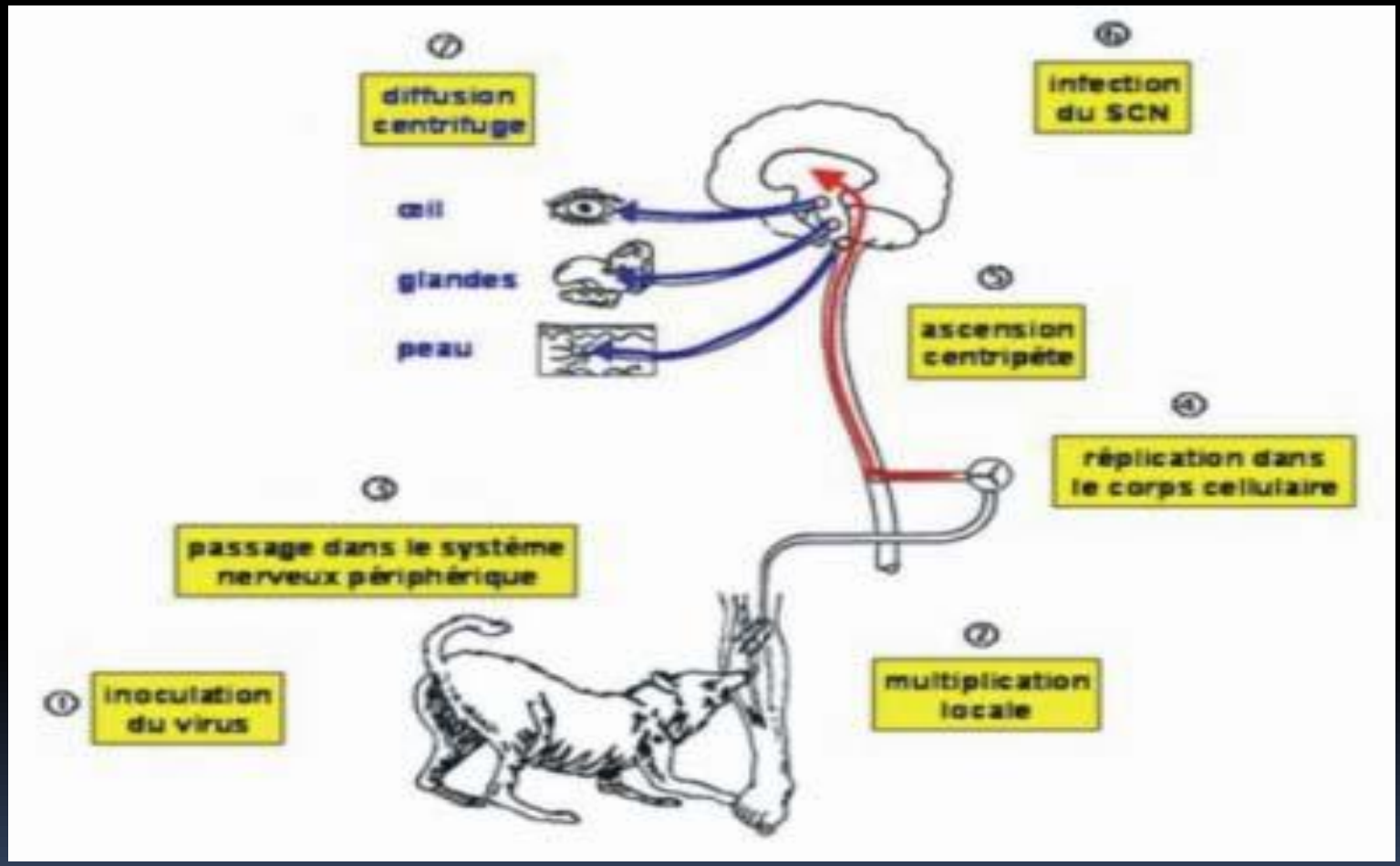
- Les virions sont transportés dans l'axone (par la dynéine) vers le corps cellulaire où le virus se multiplie. Les virions qui bourgeonnent du neurone infecté, sont libérés dans l'espace intersynaptique et infectent le neurone post-synaptique suivant.

  Le virus parvient au cerveau où il continue sa réplication. La maturation des nouveaux virions peut avoir lieu à la surface de la cellule et à l'intérieur du cytoplasme.

- 3 - la diffusion *centrifuge* à partir du cerveau
  Le virus se dissémine ensuite dans tous les tissus par voie *centrifuge*, infectant **les glandes salivaires** mais aussi l'œil**, les follicules pileux,** le pancréas et **les reins**.

-

Physiopathologie



Symptomes

- La multiplication du virus dans le cerveau déclenche inexorablement **une encéphalite mortelle** dont l'expression est variable :
- **- chez le renard**
- le renard, normalement très respectueux du " territoire" de ses voisins **devient agressif**
- Il **perd sa méfiance** habituelle et **se rapproche de l'homme et de ses animaux domestiques**, qu'il pourra contaminer par morsure.
- **- chez le chien**
- la rage peut se présenter sous **la forme furieuse** (animal agressif, hurlements rauques traduisant des signes laryngés) ou sous **la forme paralytique** (la rage *mue* - *mue*tte) .
- **- chez le chat**
- la rage peut également se présenter sous **la forme furieuse** (et dans ce cas l'animal est particulièrement dangereux pour l'homme) ou sous **la forme paralytique**.
- **- chez les bovins**

- **CHEZ L'HOMME**
- L'incubation, **totalement silencieuse**, dure ***en moyenne* de 10 à 90 jours.**La durée de l'incubation dépend surtout de **la gravité** (nombre, profondeur) et de **la localisation** des morsures .
- Pendant les quelques jours qui précèdent l'encéphalite rabique, les malades peuvent présenter :
- des symptômes variés **non spécifiques** : fièvre, céphalées, sensations de malaise, fatigue grandissante, perte de l'appétit, nausées, vomissements, douleurs pharyngées.
- mais surtout des **douleurs** ou du **prurit** au niveau de **l'ancienne morsure** qui constituent le prodrome le plus évocateur de la maladie retrouvé chez 50 à 80 % des patients et qui peut être en rapport avec une multiplication virale dans la racine ganglionnaire dorsale du nerf sensitif correspondant à la zone de la morsure.

- **La période d'état : la phase encéphalitique**
- La phase encéphalitique voit s'installer les signes **neurologiques** et **psychiatriques**. On peut distinguer deux grands tableaux cliniques :
- **1° - la rage furieuse ou spastique** (habituelle)
- La rage furieuse se caractérise par une **excitation psychomotrice majeure** associant convulsions, agitation, agressivité, hallucinations. une sensibilité excessive à la lumière vive, aux bruits, au toucher.
- L'hydrophobie *est caractéristique de la rage humaine :*
- les malades sont fébriles, un réflexe **d'hydrophobie** s'établit à la simple vue d'un verre d'eau ou au bruit de l'eau qui coule. De la même manière, **une aérophobie** peut s'installer.
- **La survie moyenne** après le début des symptômes encéphalitiques est **de 4 jours** avec **un maximum de 20 jours**. L'évolution se fait vers l'aggravation inexorable avec glissement progressif dans le coma et **la mort par arrêt cardiaque**.
- **2° - la rage paralytique** (moins fréquente)
- La rage paralytique ou rage " tranquille" est **une paralysie ascendante** ressemblant au syndrome de Landry-Guillain-Barré : **paralysie des membres inférieurs**, puis troubles sphinctériens et enfin atteinte bulbaire responsable d'un **arrêt cardio-respiratoire**.

Diagnostic

- **les prélèvements animaux**
- Ce sont les plus fréquents. Selon l'espèce animal incriminée, on envoie au laboratoire :
- - l'animal entier, s'il s'agit d'un petit mammifère (fouine, furet, écureuil…)
- - la tête entière pour de plus gros animaux (chien, chat, renard), détachée au niveau des vertèbres cervicales
- - uniquement le cerveau s'il s'agit d'un gros herbivore
- Après avoir sorti en bloc de la boite crânienne : cerveau, cervelet et bulbe rachidien, on va effectuer à leur niveau les différents prélèvements. En général les recherches portent essentiellement sur les zones particulièrement riches en virus rabique : la corne d'Ammon située dans la circonvolution de l'hippocampe, le bulbe rachidien, le cervelet, le cortex et les glandes salivaires.

- les prélèvements humains

  - du vivant d'un malade :
  Le diagnostic biologique - parfois demandé dans les cas de suspicion clinique de rage humaine - **est difficile**, car les divers tests ne sont pas toujours positifs. Le diagnostic de certitude ne peut reposer que sur un faisceau de preuves.
  la recherche de virus et **d'antigènes rabiques** : prélèvement de salive (par aspiration), biopsies cutanées (terminaisons nerveuses des follicules pileux – menton, nuque), appositions cornéennes par attouchement du globe oculaire avec une lame de microscope, LCR (le LCR n'a qu'un intérêt réduit dans les prélèvements utiles au diagnostic, loin derrière la salive et la biopsie des follicules pileux).

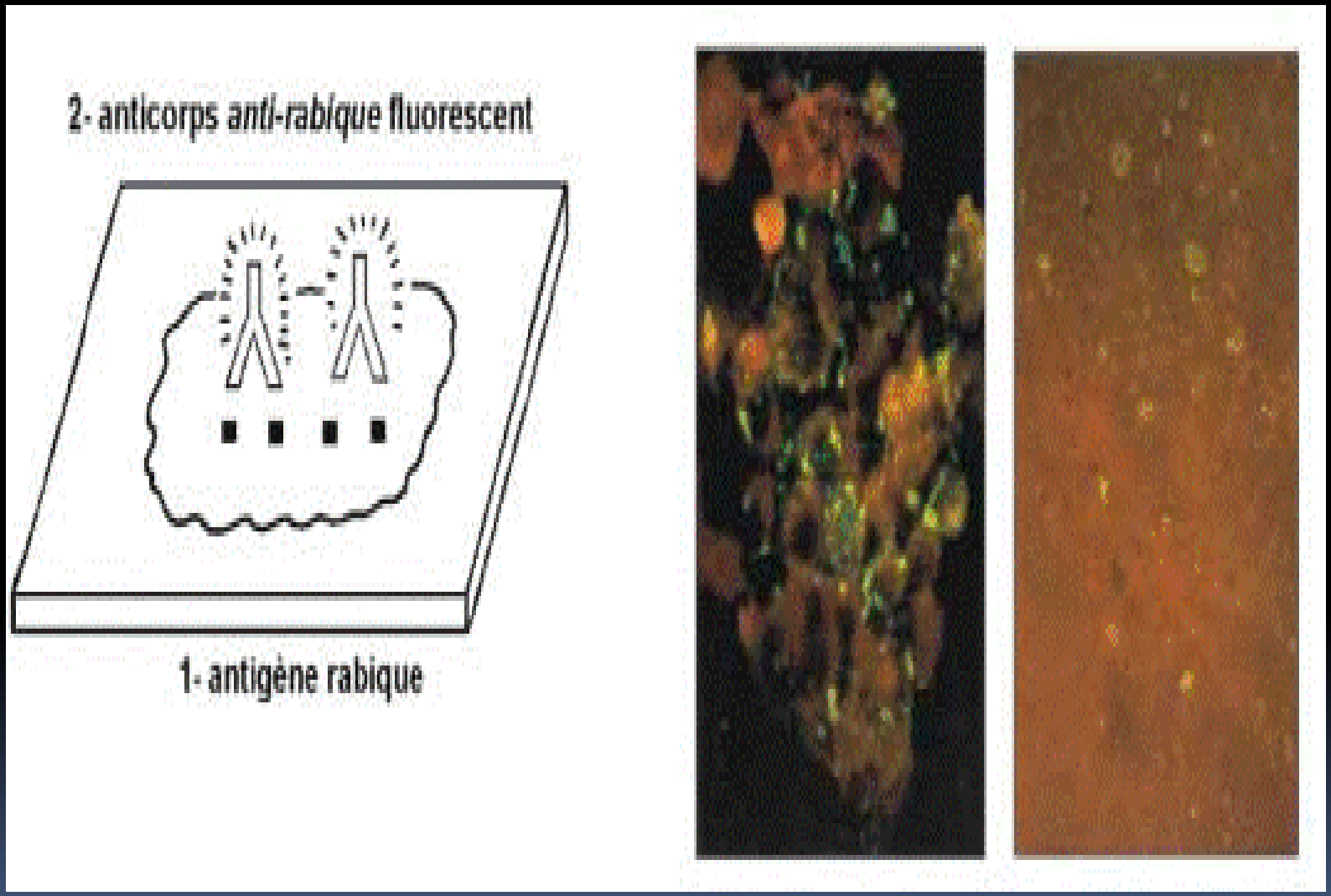
- **la recherche** et **le dosage des anticorps** : sang total, LCR.

- **- après la mort :**
- · envoi du cortex cérébral, de l'hippocampe, glandes salivaires, œil.

1 – identifier les antigène rabiques dans les cellules

- **. par immunofluorescence directe**

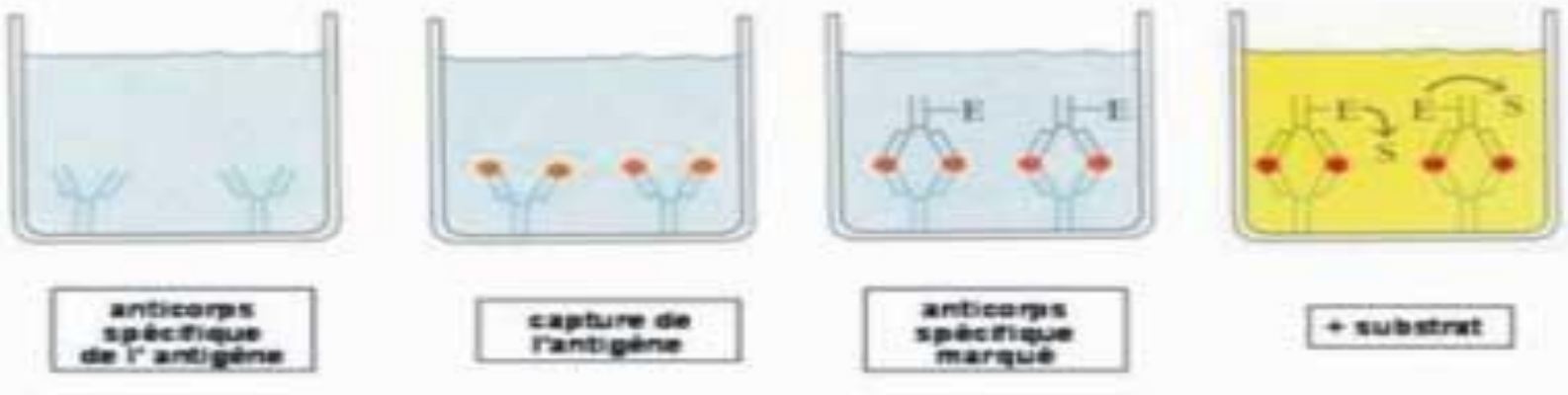
  Technique de référence, elle peut conduire à un diagnostic certain en quelques heures, sur du matériel **frais** ou **bien conservé**.
  Le test est basé sur la reconnaissance de l'antigène rabique par un anticorps spécifique couplé à la fluorescéine , : les anticorps fluorescents se fixeront seulement sur l'antigène, révélant celui-ci lors de la lecture de la lame à l'aide d'un microscope fluorescent.


2- anticorps anti-rabique fluorescent
1- antigène rabique

2-une méthode ELISA (technique sandwich)

- On réalise une **immunocapture** des antigènes rabiques.
- Les puits d'une plaque de microtitration sont tapissés par **les anticorps** d'un sérum de lapin immunisé contre les antigènes de la nucléocapside.
- Le surnageant du broyat de tissu est déposé dans les puits. L'antigène, s'il est présent, est capturé par l'anticorps.
- Après lavage, on ajoute les anticorps antirabiques couplés à la peroxydase.
- Le substrat ajouté subit l'action de l'enzyme : l'apparition d'une couleur jaune, signe la présence de l'antigène rabique dans le tissu testé.
  Le test est simple, rapide (quelques heures), sensible et spécifique.

recherche d'un antigène = la glycoprotéine rabique G

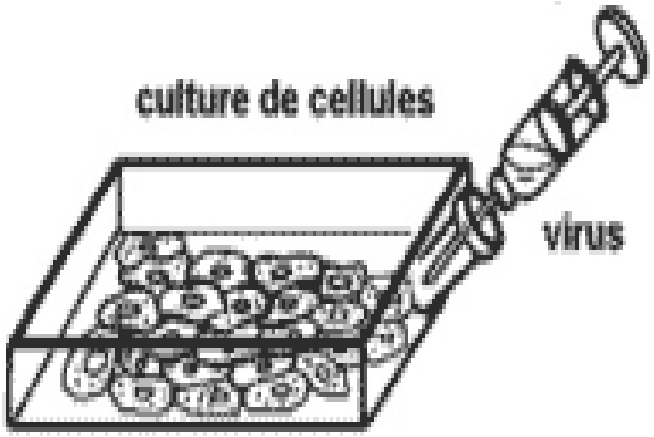


- isolement du virus

- L'isolement du virus **sur culture cellulaire** (cellules en lignées continues de neuroblastome de la souris) est un **test très sensible** et permet de porter un diagnostic rapide (moins de 24 heures) si le prélèvement a été correctement réalisé.
  L'isolement **confirme** la détection des antigènes viraux et permet de **déterminer le sérotype** de la souche isolée à l'aide d'**anticorps monoclonaux**.
  On recherche **les antigènes viraux** dans les cellules inoculées, par les tests d'immunofluorescence directe ou d'immuno-enzymologie décrits ci-dessus.
- La technique est plus rapide, plus fiable et moins dangereuse que **l'inoculation à la souris**

Isolement du virus

sur culture cellulaire



par inoculation intracérébrale
au souriceau nouveau-né

- détection de l'ARN viral

  À partir de la salive ou du LCR, le génome viral peut être détecté par amplification génique : **RT-PCR** (rétrotranscription de l'ARN viral en ADN amplifié par polymérisation en chaîne (Polymerase chain reaction).

- génotypage du virus

  Après l'amplification par RT-PCR on procède au séquençage du gène de la nucléoprotéine **N** et de la glycoprotéine **G**

- dosage des anticorps

  Le titrage des anticorps permet de vérifier et d'évaluer le degré d'immunité des sujets contre la rage, avant ou après exposition au risque de contamination (seuil immunisant : ***> 0,5 UI*** *par ml).*
  On utilise une technique immunoenzymatique de type ELISA.
  La détection des anticorps antirabiques **dans le sang** n'a qu'un **intérêt très limité dans le diagnostic de la rage** car ils n'apparaissent que tardivement.

traitement

- Devant toute morsure ou griffure, il faut :
- -désinfecter les plaies, l'élimination mécanique et chimique du virus étant la protection la plus efficace :

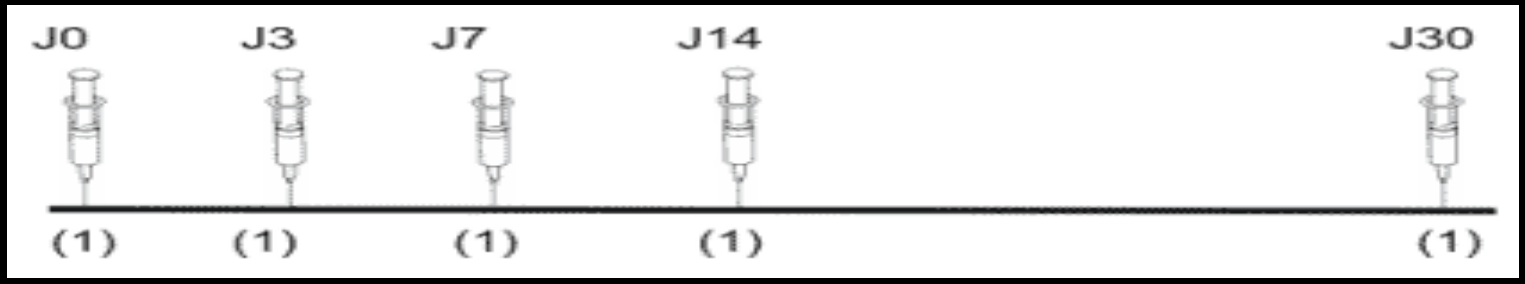
- -on lave à grande eau la région mordue avec **du savon** ou **un détergent** (qui sont des **virucides**) puis on rince abondamment.
- -on applique ensuite de *l'alcool à 60°*, de la *Bétadine* ® ou de *l'eau de Javel diluée* (éviter l'eau oxygénée et le mercurochrome).
- **une antibiothérapie** est prescrite pour éviter l'infection de la blessure par d'autres agents pathogènes pouvant être transmis par l'animal (*Pasteurella*, notamment).

- **LE TRAITEMENT ANTIRABIQUE**

  Il s'agit d'un **traitement post exposition** : la longue incubation de la maladie permet au vaccin d'assurer une immunité protectrice avant que le virus infectant n'atteigne le système nerveux central.
  La première vaccination, avec un vaccin élaboré sur tissu nerveux (moelle de lapin rabique, desséchée à l'air libre), a été tentée en 1885 par Louis Pasteur sur le jeune Joseph Meister et a donné au savant français une aura internationale. Le principal progrès notable depuis cette date est l'amélioration de la tolérance des vaccins.

- Le vaccin "traitement"
  Dans les pays développés, les vaccins antirabiques sont fabriqués à partir de souches de virus de génotype 1 (souches de la rage classique, donc éloignées des virus européens de chauves-souris appartenant aux génotypes 5 et 6), et sont produits, soit sur cellules de lignée continue *Vero*, soit sur cellules purifiées d'embryon de poulet, soit sur cellule diploïde humaine. Tous sont inactivés.
  La tolérance tant des vaccins que des immunoglobulines est excellente

- **Protocole classique de l'OMS**
  5 injections IM (dans le deltoïde) d'une dose de vaccin :



Protocole réduit de l'Institut Pasteur (dit "2-1-1")
4 injections IM (dans le deltoïde) - le premier jour, on injecte 2 doses en 2 points différents on observe un pic d'anticorps au 14° jour, **plus précoce** qu'avec le schéma de l'OMS (pic au 30° jour).

- **La séroprévention**
  les immunoglobulines réduisent les échecs de la vaccination **en cas de contamination grave** : une sérothérapie **locale** (au niveau de la morsure) et **générale** précède la vaccination, qui doit être faite selon le protocole classique de l'OMS. On utilise des immunoglobulines antirabiques d'origine **équine** ou d'origine **humaine**

- Le vaccin "préventif"

  - indications

- **les voyageurs pour l'Afrique, l'Asie, l'Amérique du Sud** (particulièrement les **jeunes enfants** dès l'âge de la marche).

- **les personnes exposées au risque** : personnel de laboratoire travaillant sur le virus, vétérinaires, personnel des abattoirs, équarrisseurs, personnel des fourrières, naturalistes, taxidermistes, gardes-chasse, gardes forestiers, chéroptérologues (aucun cas de rage humaine due aux virus des chauves-souris n'a été rapporté chez les personnes régulièrement exposées, mais **correctement vaccinées** de façon préventive et ayant reçu un traitement post-exposition conforme au protocole en vigueur validé).

- modalités

  le vaccin est identique au vaccin traitement, mais la concentration antigénique est moins élevée (1,5 UI contre 2,5 UI) :

- 2 injections (IM ou SC) à un mois d'intervalle,
- 1 rappel après un an,
- puis un rappel tous les trois ans.

	ÉTAT DE L'ANIMAL		
NATURE DU CONTACT ANIMAL - HOMME	AU MOMENT DE L'ACCIDENT	EN COURS D'OBSERVATION	TRAITEMENT
Aucune lésion, contact indirect	enragé ou non	enragé ou non	aucun
Léchage d'une peau intacte	enragé ou non	enragé ou non	aucun
	sain	sain	aucun
Léchage des muqueuses	sain	enragé	vaccination dès les premiers signes de rage chez l'animal
ou d'une peau abrasée	rage suspectée	sain	vaccination immédiate à cesser si l'animal est normal 15 jours après le contact
	enragé, échappé ou inconnu		vaccination immédiate
Morsures légères	sain	sain	aucun
	sain	enragé	vaccination dès les premiers signes de rage chez l'animal
	rage suspectée	sain	vaccination immédiate à cesser si l'animal est normal 15 jours après le contact
	enragé, échappé inconnu ou animal sauvage		vaccination complète
Morsures graves, multiples ou touchant la face	sain	sain	sérum hyperimmun immédiat
	sain	enragé	sérum hyperimmun immédiat + vaccin dès les premiers signes de rage chez l'animal
	rage supectée	sain	sérum hyperirmun + vaccin immédiat à cesser si l'animal est normal 5 jours après le contact