

Développements récents de l'épidémiologie des infections à lyssavirus et conséquences pour l'homme

Recent developments of the epidemiology of lyssavirus infections and consequences for humans

Par Hervé BOURHY⁽¹⁾
(mémoire présenté le 15 mai 2003)

RÉSUMÉ

L'épidémiologie de la rage a changé durant ces dernières années. Le contrôle et l'élimination de la rage des animaux terrestres non volants ont été atteints dans les pays d'Europe de l'ouest. Cependant, de nouveaux variants isolés de part le monde font peser de nouveaux risques sur la santé publique. Ceci soulève de nouvelles interrogations concernant l'évolution nécessaire des méthodes de contrôle de la rage, en particulier dans les secteurs du diagnostic, de l'identification et de la prophylaxie des nouveaux variants de lyssavirus.

Mots-clés : rage, lyssavirus, épidémiologie, prophylaxie.

SUMMARY

The epidemiology of rabies has changed during the recent years. The control and the elimination of rabies in autochthonous terrestrial non flying animals has been achieved in West European countries. However, emerging or re-emerging lyssavirus variants have been identified and lead to the developments of unexpected and unassessed risks for public health. This raised new interrogations concerning the future of the methods used for controlling rabies in the field of diagnosis, prophylaxis and identification of new lyssavirus variants.

Key words: rabies, Lyssavirus, epidemiology, prophylaxis.

Notes

(1) Laboratoire de la rage, Centre National de référence pour la Rage, Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé de Référence et de Recherche sur la Rage, Institut Pasteur, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris CEDEX 15.
E-mail : hbourhy@pasteur.fr

• INTRODUCTION

La rage est une zoonose virale à laquelle sont sensibles tous les Mammifères. Elle est due à plusieurs virus du Genre Lyssavirus qui présentent un tropisme important pour les cellules nerveuses. Elle est transmissible accidentellement à l'homme, généralement à la suite d'une morsure par un animal enragé et entraîne presque toujours une mort rapide (JACKSON *et al.*, 2003).

La rage est caractérisée par l'apparition d'un tableau clinique d'encéphalite dont les symptômes sont très variables selon les individus et les espèces considérés. Le diagnostic différentiel avec d'autres encéphalites virales d'étiologie différente est donc souvent difficile voire impossible. Dans ces conditions, seul l'examen de laboratoire permet de porter un diagnostic de certitude de la rage.

Le contrôle de la rage reste une des priorités de l'Organisation Mondiale de la Santé. En effet, si la rage semble régresser en Europe du fait de la vaccination orale des renards (BROCHIER, 1998), il ne faut pas sous-estimer la gravité de cette infection dans certaines parties du monde moins favorisées. Plus d'un siècle après la découverte de la vaccination antirabique, on estime le nombre de décès humains dus à la rage à environ 40-50 000 par an dans le monde. Parallèlement, le nombre de traitements antirabiques effectués par an est certainement supérieur à 6,5 millions. Enfin, les pertes économiques engendrées par la rage peuvent être considérables par exemple dans certains pays d'Amérique Latine où les bovins sont exposés à la rage des chauves-souris hématophages.

Ces dernières années, l'épidémiologie de la rage a changé soit que l'élimination de la rage des animaux terrestres non volants ne fasse apparaître de nouveaux risques, soit que la surveillance accrue et la mise au point de tests de détection plus efficaces aient mis en évidence l'existence de nouveaux variants de lyssavirus. Cet article décrira ces modifications récentes de l'épidémiologie de la rage et analysera les répercussions de ces développements pour la santé humaine.

• DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIE DES ANALYSES

Les virus rabiques infectent différentes espèces animales qui constituent les **vecteurs principaux** du virus. Chez ces espèces, la maladie évolue sous forme enzootique entrecoupée parfois de poussées épizootiques, liées aux fluctuations de densité de la population cible. D'autres espèces animales peuvent aussi jouer le rôle de **vecteurs secondaires**. Ces espèces sont incapables d'entretenir le cycle épidémiologique à elles seules. Enfin l'homme n'est qu'un cul-de-sac épidémiologique.

L'adaptation du virus rabique à l'espèce animale vectrice est un phénomène complexe résultant de l'interaction entre le virus et son hôte. Cette adaptation peut néanmoins être mesurée à l'aide de marqueurs phénotypiques simples: taux et durée d'excrétion virale salivaire, niveau de pathogénicité pour l'espèce considérée, durée d'incubation,

modifications comportementales favorisant l'infection. On peut ainsi décrire des **biotypes** ou variants de virus adaptés plus spécifiquement à une espèce animale. Ces biotypes se révèlent moins pathogènes pour les autres espèces animales qui coexistent dans la même région. La détermination des séquences nucléotidiques de certains gènes viraux (en particulier celui de la nucléoprotéine et de la glycoprotéine) permet une caractérisation de certains de ces biotypes et leur identification. Les études moléculaires constituent donc des outils indispensables à la compréhension de l'épidémiologie des lyssavirus (BOURHY *et al.*, 1999, GUYATT *et al.* 2003).

• LES DIFFÉRENTS LYSSAVIRUS ET LEUR RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

Le genre Lyssavirus appartient à la famille des Rhabdoviridae. Sept géotypes différents peuvent être distingués (**Tableau I**) (BOURHY *et al.*, 1993 ; GOULD *et al.*, 1998). Cette subdivision a été obtenue à partir de l'analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques du gène de la nucléoprotéine. Les lyssavirus de Mammifères non volants appartiennent au géotype 1. En revanche, les lyssavirus de Chiroptères appartiennent à 6 des 7 géotypes décrits. Une incertitude subsiste quant à l'espèce hôte du géotype 3. Le réservoir de ce géotype n'a jamais été clairement identifié. Ceci laisse penser que les chauves-souris sont les hôtes préférentiels des lyssavirus. Cette observation est renforcée par les analyses phylogénétiques portant sur l'origine de ces virus. Elles tendent à démontrer que l'ancêtre des lyssavirus est un virus de chauves-souris. L'existence d'un huitième géotype vient d'être récemment proposée (ARAI *et al.*, 2003). Il a été isolé à partir d'une chauve-souris insectivore.

• LA RAGE DU CHIEN EST LA PREMIÈRE SOURCE DE MORTALITÉ DANS LE MONDE

La rage des Mammifères terrestres non volants est très largement répandue. Seuls quelques pays sont indemnes (Nouvelle Zélande, Australie, Japon, pays d'Europe de l'ouest...). Elle est due exclusivement à des lyssavirus de géotype 1. Deux situations épidémiologiques peuvent s'observer. Elles correspondent le plus souvent à des conditions géographiques et socio-économiques différentes mais elles peuvent coexister dans certaines régions. On distingue une rage du Chien qui est responsable de plus de 90 % des cas humains dans le monde, principalement en Asie et en Afrique. Souvent, lorsque ce cycle épidémiologique est éliminé par des mesures prophylactiques appropriées, apparaissent un ou plusieurs cycles épidémiologiques de rage sauvage insoupçonnés jusqu'alors. L'exemple le plus connu est probablement l'apparition de la rage du renard faisant suite au contrôle de la rage canine en Europe (BOURHY *et al.*, 1999). Dans le monde, de nombreuses espèces sauvages non volantes hébergent des lyssavirus qui leur sont spécifiques et jouent le rôle de vecteurs principaux. Nous n'en citerons que quelques-unes : la Mangouste (*Cynictis penicillata*) en Afrique du sud ; le Chacal (*Canis mesomela*) dans le reste de l'Afrique, le Renard polaire

(*Alopex lagopus*) en Alaska et au nord du Canada, le Renard roux (*Vulpes vulpes*) en Europe et en Amérique du nord, le Raton laveur (*Procyon lotor*) et la Mouffette (*Mephitis mephitis*) dans les Etats-Unis d'Amérique, le Chien viverrin (*Nyctereutes procyonides*) en Europe du centre et du nord. Hormis en Europe où la rage vulpine est soit éliminée soit sous contrôle, la rage selvatique a tendance à gagner de nouveaux territoires soit par translocation malencontreuse d'animaux infectés, soit par l'apparition ou la détection de nouveaux variants viraux.

• **LES LYSSAVIRUS DE CHIROPTÈRES**

Les cas de rage chez les Chiroptères représentent moins de 5 % des cas de rage animale répertoriés dans le monde. Les analyses phylogénétiques distinguent 6 (et potentiellement 7) génotypes parmi les lyssavirus infectant les Chiroptères. Le passage de 3 des 6 génotypes de lyssavirus de Chiroptères aux animaux non volants (en particulier à des carnivores domestiques et sauvages) est décrit. De même, le passage de ces virus de l'animal à l'homme est documenté pour 5 des 6 génotypes de lyssavirus de Chiroptères. Ils représentent donc un risque pour la santé publique. Cependant, le faible nombre de cas humains répertoriés montre que l'efficacité de ce passage semble réduite. En revanche, la situation épidémiologique n'est pas figée. De nouveaux variants viraux peuvent apparaître et présenter une infectiosité bien supérieure pour l'homme. C'est, par exemple, le cas actuellement aux Etats-Unis où des variants viraux d'origine récente et circulant sur 2 espèces de chauves-souris insectivores (*Lasionycteris noc-*

tivagans et *Pipistrellus subflavus*) sont responsables de 70 % des cas humains (MONDUL *et al.*, 2003).

Les lyssavirus de génotype 1

Des lyssavirus de génotype 1 infecte les chauves-souris sur le continent américain. La rage des Chiroptères hématothrophes ou vampires (*Desmodus sp.*) n'existe que dans la zone intertropicale de l'Amérique, du nord du Mexique au nord de l'Argentine. Quelques cas chez l'homme ont été décrits. La rage des chauves-souris insectivores est signalée au sud du Canada, aux Etats-Unis, au Chili et en Argentine. Six espèces et genres de chauves-souris sont majoritairement en cause (*Eptesicus fuscus*, *Lasiurus borealis*, *Lasiurus cinereus*, *Myotis sp.*, *Tadarida brasiliensis* et *Lasionycteris noctivagans*), leur importance relative variant selon les régions.

Les lyssavirus apparentés à la rage en Afrique (génotypes 2 et 4)

Deux génotypes de lyssavirus de Chiroptères ont été distingués en Afrique : le génotype 2 (virus Lagos bat) et le génotype 4 (virus Duvenhage). Le virus Lagos bat n'a jamais été isolé chez l'homme. Son réservoir animal semble être constitué par les populations africaines de chauves-souris frugivores *Eidolon helvum*, *Epomophorus wahlbergi* et *Micropteropus pusillus*. Le virus Duvenhage (séro/génotype 4) infecte les chauves-souris insectivores (*Nycteris thebaica*).

Génotype	Distribution	Espèces animales
1. Virus de la rage	Le monde entier sauf Océanie, Japon, Antarctique, Europe occidentale	Hommes, carnivores domestiques et sauvages, chauves-souris insectivores et hématothrophes
2. Virus Lagos bat	Nigeria, Rép. Centrafricaine, Afrique du Sud, Égypte, Zimbabwe, Guinée, Sénégal, Éthiopie	Chauves-souris frugivores, chats, chiens
3. Virus Mokola	Nigeria, Rép. Centrafricaine, Zimbabwe, Cameroun, Éthiopie	Hommes, chiens, chats, musaraignes, rongeurs
4. Virus Duvenhage	Afrique du Sud, Zimbabwe	Hommes, chauves-souris insectivores
5. Lyssavirus européen de chauves-souris de type 1 (EBLV-1)	Europe	Hommes, chauves-souris insectivores, moutons, foinne
6. Lyssavirus européen de chauves-souris de type 2 (EBLV-2)	Suisse, Pays-Bas et Royaume-Uni	Hommes, chauves-souris insectivores
7. Lyssavirus australien de chauves-souris (ABL)	Australie	Hommes, chauves-souris insectivores et frugivores

Tableau I: Le genre *Lyssavirus*

Les lyssavirus apparentés à la rage en Europe (génotypes 5 et 6)

En Europe, le premier isolement de lyssavirus de chauves-souris date des années cinquante. L'analyse phylogénétique des lyssavirus européens de chauves-souris montre l'existence de deux génotypes différents: les lyssavirus européens de type 1 (EBLV-1) et de type 2 (EBLV-2) qui constituent respectivement les génotypes 5 et 6 (AMENGUAL *et al.*, 1997). Cette analyse indique aussi une subdivision supplémentaire en 2 lignées pour EBLV-1. EBLV-1a a été mis en évidence des Pays-Bas à la Russie et EBLV-1b du sud de l'Espagne aux Pays-Bas. Quatre cas humains ont été rapportés: deux avec EBLV-1 et deux avec EBLV-2 (AMENGUAL *et al.*, 1997 ; FOOKS *et al.*, 2002). Cette enzootie rabique atteint de nombreux pays européens et on peut suspecter que la totalité de l'Europe soit touchée. La grande majorité des diagnostics positifs a été effectuée sur des chauves-souris insectivores appartenant aux Genres *Eptesicus* (*Eptesicus serotinus*), *Myotis* (*Myotis myotis*, *M. daubentoni* et *M. dasycneme*) et *Pipistrellus* (*Pipistrellus pipistrellus* et *P. nathusii*) (SERRA-COBO *et al.*, 2002). L'espèce la plus fréquemment infectée est la sérotine commune (*E. serotinus*) (95 % des cas).

Les lyssavirus apparentés à la rage en Australie (génotype 7)

Les virus de génotype 7 ou ABLV (Australian Bat Lyssavirus) sont de caractérisation récente. Le premier cas humain australien fut reconnu en 1996 chez un patient mordu par une chauve-souris. Un deuxième cas humain fut diagnostiqué en 1998 chez un patient griffé et possiblement mordu par une chauve-souris frugivore du genre *Pteropus* (WARRILOW *et al.*, 2002). Ces virus infectent des chauves-souris frugivores du genre *Pteropus* et des chauves-souris insectivores du genre *Saccolaimus* (GOULD *et al.*, 1998 ; GUYATT *et al.*, 2003). Le reste de l'Océanie est actuellement considéré comme indemne.

Les lyssavirus apparentés à la rage en Asie

De nombreuses traces sérologiques observées au niveau de sérums de chauves-souris frugivores et insectivores, en particulier aux Philippines (ARGUIN *et al.*, 2002), laissent supposer la présence de lyssavirus sur ce continent. Récemment, un nouveau lyssavirus, le virus Aravan a été isolé d'une chauve-souris insectivore (*Myotis blythi*) au Kirghyzstan. Il s'agit peut-être du 8^e génotype de lyssavirus (ARAI *et al.*, 2003).

• CONSÉQUENCES POUR L'HOMME

À long terme, la prophylaxie de la rage repose sur le contrôle et la disparition de la rage animale. Cet objectif est difficile à atteindre car, comme nous l'avons évoqué, les lyssavirus colonisent périodiquement de nouvelles

niches écologiques. L'histoire semble curieusement se répéter. En effet en Europe, par deux fois, alors qu'un type de rage s'est trouvé sous contrôle (la rage canine dans les années 1920-1930 et la rage vulpine dans les années 1990-2000), un nouveau type d'infection a été identifié presque simultanément : la rage vulpine dès les années 1930-1940 et plus récemment la rage des Chiroptères. Le premier cas européen de rage des Chiroptères a été décrit en 1954 mais la prise de conscience de l'importance du phénomène a réellement débuté à partir de 1985. Parallèlement à cette capacité d'adaptation à de nombreux hôtes, l'expansion de la rage est aussi favorisée par les translocations d'animaux en provenance de zones d'enzootie. Ces dernières années, de nombreuses importations illégales en France d'animaux domestiques en incubation de rage le prouvent.

En l'absence de contrôle totalement efficace de la rage animale, la prophylaxie de la rage humaine est actuellement basée sur la vaccination préventive des individus exposés professionnellement et sur la vaccination post-exposition des individus éventuellement contaminés. Les types de vaccins antirabiques disponibles sur le marché n'ont guère évolué durant ces dernières années. Cependant de nouveaux protocoles de traitement par voie intradermique ont été développés et sont maintenant largement utilisés dans le monde en particulier en Asie (KAMOLTHAM *et al.*, 2002). L'objectif de ces traitements est de diminuer la dose totale de vaccin nécessaire à un traitement complet et donc de réduire le coût du traitement. En effet, ce coût est généralement supporté pour une très large part par les patients eux-mêmes dans les pays en voie de développement. Le nombre de traitements antirabiques effectués par an dans le monde est certainement supérieur à 6,5 millions. Cependant une frange importante de la population mondiale n'y a toujours pas accès pour des raisons économiques (WILDE *et al.*, 2002). Ceci explique la mortalité importante dans certains pays en développement. Dans les pays industrialisés qui ont un accès facilité au traitement antirabique, et particulièrement en Europe, la diversité des isolats auxquels les patients peuvent être exposés sur place ou lors de voyages à l'étranger soulève de nouveaux problèmes : entre autres celui de la mise à disposition de produits biologiques (vaccins et immunoglobulines antirabiques) possédant un spectre d'activité plus large et procurant une protection efficace contre l'infection par les lyssavirus autre que ceux du génotype 1. Aujourd'hui, aucun produit spécifique n'est disponible. Les solutions techniques (vaccins recombinants, vaccins multivalent) existent mais en l'absence de débouché commercial, les coûts de production de tels lots ne peuvent être supportés par les seuls industriels (TORDO *et al.*, 1993 ; BAHLOUL *et al.*, 1998).

En France, les lyssavirus de chiroptères sont probablement présents sur tout le territoire. En moyenne, 60 patients reçoivent chaque année un traitement après un contact avec une chauve-souris suspecte de rage. Aucun échec de traitement n'est à déplorer en France et plus largement dans le reste de l'Europe où la situation épidémio-

logique est comparable. Les études de laboratoire montrent que les vaccins actuels confèrent une protection vis-à-vis des isolats de chiroptères européens. Le problème se pose surtout pour les virus de génotypes 2 et 3, très distants antigéniquement et pour lesquels la protection croisée avec les souches vaccinales, toutes de génotype 1, est inexistante *in vitro* et dans les modèles animaux testés (BAHLOUL *et al.*, 1998 ; BADRANE *et al.*, 2001).

Parallèlement à ces problèmes de protection, on s'interroge aujourd'hui sur le pouvoir pathogène pour l'homme de certains génotypes de lyssavirus. Les génotypes les plus distants des souches vaccinales (génotype 2 et 3) mais aussi les lyssavirus de Chiroptères circulant en Europe et en Australie présentent-ils un danger pour l'Homme similaire à celui présenté par les isolats de Mammifères terrestres non volants. L'identification d'infections létales chez l'Homme dues aux virus de Chiroptères tend à le prouver. Néanmoins, certains de ces virus sont présents depuis très longtemps sur un large territoire et l'incidence de la rage humaine qui leur est rapportée est très faible. Cette analyse rétrospective reflète sans doute les contacts réduits existant entre l'Homme et les Chiroptères dans nos pays. Cependant, elle constitue aussi un indicateur d'un pouvoir pathogène plus limité pour l'homme que celui des isolats de Mammifères terrestres non volants. La compréhension du pouvoir pathogène pour l'homme passe par de nombreuses études *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo* dans des modèles animaux bien caractérisés (BADRANE *et al.*, 2001). Les déterminants de la pathogénicité virale sont actuellement en cours d'identification. Ils permettront de mieux comprendre les différences de susceptibilité de différentes espèces pour un même virus.

Cette identification devrait déboucher sur le développement de nouveaux outils thérapeutiques.

• LE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE

Lorsque la prophylaxie n'a pas été appliquée, la rage se développe dans un délai variable (de 15 jours à 3 ans chez l'homme). Elle est caractérisée, chez l'animal et chez l'homme, par l'apparition d'un tableau clinique d'encéphalite. Cependant, les symptômes de l'encéphalite rabique sont très variables selon les individus et les espèces considérés. Le diagnostic différentiel avec d'autres encéphalites virales d'étiologie différente est donc souvent difficile voire impossible. Dans ces conditions, seul l'examen de laboratoire permet de porter un diagnostic de certitude de la rage. Ce diagnostic chez l'animal est aussi un élément essentiel pour la mise en route ou la poursuite du traitement antirabique chez le patient exposé. À la lumière des progrès des connaissances concernant la structure et le génome du virus, de nouveaux développements diagnostiques ont vu le jour. Ces développements prennent en compte la diversité génétique des virus pour choisir des zones conservées ou au contraire très variables selon l'objectif recherché.

Le choix des prélèvements

Le choix des prélèvements conditionne la sensibilité du diagnostic ainsi que les techniques de diagnostic qui seront mises en œuvre (Figure 1).

Chez l'animal, le diagnostic s'effectue uniquement en *post mortem* à partir du cortex, de l'hippocampe et du bulbe rachidien.

• En phase tardive d'expédition			
Prélèvements	Durée d'évolution clinique		Température d'expédition
	0-8 jours	>8 jours	-20°C
Salive	+++	+++	-20°C
Urine	+++	??	-20°C
Biopsie de peau (au niveau de la nuque)	+++	++	-20°C
Sérum	+	++	-20°C
Liquide céphalorachidien	(+)	(+)	-20°C
• En post-mortem			
Biopsie cérébrale (diagnostic de certitude (+4°C ou -20°C))			
• Règles d'expédition			
Expédition avec un récipient agréé (triple emballage)			
Classe 6.2 des matières dangereuse, risque 3. (consulter le site http://www.pasteur.fr/santé:clre/chap/envois/accueil.html)			

Figure 1 : Règles d'expédition et choix des prélèvements

Chez l'homme, le diagnostic *post mortem* s'effectue à partir des mêmes prélèvements. En revanche, le diagnostic *intra vitam* porte principalement sur la salive, le sérum, l'urine et des biopsies cutanées (au niveau de la nuque) (CREPIN *et al.*, 1998).

Deux techniques de prélèvement rapide de biopsie cérébrale sont applicables à l'homme et à l'animal : la première par voie occipitale, la seconde par voie rétro-orbitaire. Les sensibilités de ces deux techniques sont identiques à celle de l'ouverture classique de la boîte crânienne (HIROSE *et al.*, 1991).

Techniques de routine de diagnostic biologique

Le diagnostic vise à détecter les composants viraux ou les anticorps produits en réponse à ces composants viraux. Les cibles du diagnostic de la rage sont le virus infectieux, la nucléocapside virale qui s'accumule dans le cytoplasme des cellules infectées, les acides nucléiques viraux composés d'acide ribonucléique (ARN génomique, ARN antigénomique et ARN messagers) (BOURHY et ROTIVEL, 1995). Les techniques de laboratoire utilisées doivent permettre de donner un résultat dans un délai bref, compatible avec l'urgence du traitement antirabique, ainsi qu'avec l'application efficace des mesures de prophylaxies sanitaires et médicales chez les animaux exposés. Trois types de techniques sont employés pour le diagnostic de routine (Fig. 2) : l'immunofluorescence directe sur empreinte de cerveau qui est la technique de référence, l'isolement du virus rabique sur cellules en culture (neuroblastomes murins) et la troisième technique de diagnostic (RREID pour Rapid Rabies Enzyme Immuno Diagnosis) qui est un ELISA sandwich basé sur l'immunocapture de la nucléocapside du virus rabique (BOURHY *et al.*, 1989 ; BOURHY et SUREAU, 1991 ; MESLIN *et al.*, 1999).

La sérologie

Le titrage des anticorps rabiques permet d'apprécier le degré de l'immunité chez les sujets en cours de traitement antirabique ou vaccinés préventivement. Les experts de l'OMS considèrent qu'un individu vacciné doit présenter un taux d'anticorps supérieur à 0,5 unités internationales (UI)/ml. La détection des anticorps rabiques n'a en revanche qu'un intérêt limité dans le diagnostic de la rage. En effet les anticorps n'apparaissent qu'en phase ultime de l'évolution de la maladie.

Le titrage des anticorps par séroneutralisation s'effectue sur culture cellulaire (épreuve rapide de réduction des foyers fluorescents). Un délai de 24 heures est nécessaire pour l'obtention du résultat. Une technique de titrage des anticorps par ELISA, moins lourde et plus rapide, est très largement utilisée en routine.

Le diagnostic biologique portant sur la détection des acides nucléiques viraux

La technique de transcription inverse suivie de l'amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR) a aussi été appliquée au diagnostic de la rage (CREPIN *et al.*, 1998 ; ECHEVARRIA *et al.*, 2001 ; BLACK *et al.*, 2002 ; DAVID *et al.*, 2002). L'amplification du gène N par PCR présente une corrélation parfaite avec les techniques usuelles de diagnostic. Les amorces oligonucléotidiques nécessaires à cette amplification sont définies dans des zones de la séquence présentant une forte conservation afin d'obtenir un spectre d'amplification le plus étendu possible au sein des lyssavirus.

Cette technique, de part sa grande sensibilité, est particulièrement adaptée au diagnostic *intra vitam* chez l'homme à partir d'échantillons de salive, d'urine, de liquide céphalo-rachidien et de biopsie de peau (au niveau de la nuque) (CREPIN *et al.*, 1998).

• CONCLUSION

La rage reste donc une maladie d'actualité. L'évolution de l'épidémiologie pose des problèmes de diagnostic, de typage et de traitement des patients et à terme de contrôle de l'extension de la rage. Les progrès des protocoles de prise en charge, des produits biologiques de traitement (vaccins et immunoglobulines) ainsi que des techniques de laboratoire permettent de répondre à la plupart de ces problèmes. Néanmoins, le coût de ces mesures reste malheureusement hors d'atteinte d'une partie importante de l'humanité. Un effort conjoint des organismes de recherche, des institutions internationales et organismes non gouvernementaux de protection de la santé et des industriels doit maintenant déboucher vers le développement de protocoles peu coûteux de contrôle de la rage humaine et animale.

BIBLIOGRAPHIE

- AMENGUAL B, WHITBY JE, KING A, SERRA COBO J, BOURHY H (1997) Evolution of European bat lyssaviruses. *J. Gen. Virol.*, **78**, 2319-2328.
- ARAI YT, KUZMIN IV, KAMEOKA Y, BOTVINKIN AD (2003) New lyssavirus genotype from the Lesser Mouse-eared Bat (*Myotis blythi*), Kyrgyzstan. *Emerg. Infect. Dis.*, **9**, 333-337.
- ARGUIN PM, MURRAY-LILLIBRIDGE K, MIRANDA ME, SMITH JS, CALAOR AB, RUPPRECHT CE (2002). Serologic evidence of Lyssavirus infections among bats, the Philippines. *Emerg. Infect. Dis.*, **8**, 258-262.
- BADRANE H, BAHLOUL C, PERIN P, TORDO N (2001) Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol.*, **75**, 3268-3276.

- BAHLOUL C, JACOB Y, TORDO N, PERRIN P (1998) DNA-based immunization for exploring the enlargement of immunological cross-reactivity against the lyssaviruses. *Vaccine*, **16**, 417-425.
- BLACK EM, LOWINGS JP, SMITH J, HEATON PR, MCELHINNEY LM (2002). A rapid RT-PCR method to differentiate six established genotypes of rabies and rabies-related viruses using TaqMan technology. *J. Virol. Methods*, **105**, 25-35.
- BOURHY H, ROLLIN PE, VINCENT J, SUREAU P (1989) Comparative field evaluation of the fluorescent-antibody test, virus isolation from tissue culture, and enzyme immunodiagnosis for rapid laboratory diagnosis of rabies. *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 519-523.
- BOURHY H, SUREAU P (1991) Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la rage, ed. Commission des Laboratoires de Référence et d'Expertise de l'Institut Pasteur, Institut Pasteur, Paris, 197 p.
- BOURHY H, KISSI B, TORDO N (1993) Molecular diversity of the Lyssavirus genus. *Virology*, **194**, 70-81.
- BOURHY H, ROTIVEL Y (1995) Récents développements diagnostiques et épidémiologiques concernant la rage. *Le point Vétérinaire*, **167**, 23-34.
- BOURHY H, KISSI B, AUDRY L, SMRECZAK M, SADKOWSKA-TODYS M, KULONEN K, TORDO N, ZMUDZINSKI JF, HOLMES EC (1999) Ecology and evolution of rabies virus in Europe. *J. Gen. Virol.*, **80**, 2545-2557.
- BROCHIER B (1998) Epidemiology and elimination of rabies in western Europe. *Veterinary Journal*, **156**, 83-90.
- CREPIN P, AUDRY L, ROTIVEL Y, GACOIN A, CAROFF C, BOURHY H (1998) Intravitam diagnosis of human rabies by PCR using saliva and cerebrospinal fluid. *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 1117-1121.
- DAVID D, YAKOBSON B, ROTENBERG D, DVERES N, DAVIDSON I, STRAM Y (2002) Rabies virus detection by RT-PCR in decomposed naturally infected brains. *Vet. Microbiol.*, **87**, 111-118.
- ECHEVARRIA JE, AVELLON A, JUSTE J, VERA M, IBANEZ C (2001) Screening of active lyssavirus infection in wild bat populations by viral RNA detection on oropharyngeal swabs. *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 3678-3683.
- FOOKS AR, FINNEGAN C, JOHNSON N, MANSFIELD K, MCELHINNEY L, MANSER P (2002) Human case of EBL type 2 following exposure to bats in Angus, Scotland. *Vet. Record*, **151**, 679.
- GOULD AR, HYATT AD, LUNT R, KATTENBELT JA, HENGSTBERGER S, BLACKSELL SD (1998) Characterisation of a novel lyssavirus isolated from Pteropid bats in Australia. *Virus Res.*, **54**, 165-187.
- GUYATT KJ, TWIN J, DAVIS P, HOLMES EC, SMITH GA, SMITH IL, MACKENZIE JS, YOUNG PL (2003) A molecular epidemiological study of Australian bat lyssavirus. *J. Gen. Virol.*, **84**, 485-496.
- HIROSE JA, BOURHY H, SUREAU P (1991) Retro-orbital route for brain specimen collection for rabies diagnosis. *Vet. Record*, **129**, 291-292.
- JACKSON AC, WARRELL MJ, RUPPRECHT CE, ERTL HC, DIETZSCHOLD B, O'REILLY M, LEACH RP, FU ZF, WUNNER WH, BLECK TP, WILDE H (2003) Management of rabies in humans. *Clinical Infectious Diseases*, **36**, 60-63.
- JOHNSON N, SELDEN D, PARSONS G, FOOKS AR (2002) European bat lyssavirus type 2 in a bat found in Lancashire. *Vet. Record.*, **151**, 455-456.
- KAMOLTHAM T, KHAWPLOD P, WILDE H (2002). Rabies intradermal post-exposure vaccination of humans using reconstituted and stored vaccine. *Vaccine*, **20**, 3272-3276.
- MESLIN FX, KAPLAN MM, KOPROWSKI H, 1999. La rage, techniques de laboratoire, 4^e édition, : Organisation Mondiale de la Santé, Genève, 485 p.
- MONDUL AM, KREBS JW, CHILDS JE (2003) Trends in national surveillance for rabies among bats in the United States (1993-2000). *JAVMA.*, **222**, 633-639.
- SERRA-COBO J, AMENGUAL B, ABELLAN C, BOURHY H (2002) European bat lyssavirus infection in Spanish bat populations. *Emerging Infectious Diseases*, **8**, 413-420.
- TORDO N, BOURHY H, SATHER S, OLLO R (1993) Structure and expression in baculovirus of the Mokola virus glycoprotein: an efficient recombinant vaccine., **194**, 59-69.
- WARRILOW D, SMITH IL, HARROWER B, SMITH GA (2002) Sequence analysis of an isolate from a fatal human infection of Australian bat lyssavirus. *Virology*, **297**, 109-119.
- WILDE H, KHAWPLOD P, HEMACHUDHA T, SITPRIJA V (2002) Postexposure treatment of rabies infection: can it be done without immunoglobulin. *Clinical Infectious Diseases*, **34**, 477-480.