




Actualités sur la rage

Noël TORDO

INSTITUT PASTEUR

La Rage en 2005



- ↓ 30.000 à 50.000 morts / an
 - > 98% pays en développement (PED)
 - surveillance insuffisante
- ↓ >95% morsure chien
 - <5%... - autres carnivores
 - - chauves-souris
- ↓ prévention: vaccins (pré- et post-exposition)
 - culture cellulaire: sûrs et efficaces, trop chers pour les PED
 - les PED continuent le tissu nerveux (encéphalito-gène)
- ↖ thérapie: aucune


Un virus neurotrophe

PERIODE D'INCUBATION

- inoculation périphérique (muscle, ...)
- terminaisons nerveuses (jonction neuro-musculaire)
- de neurone en neurone (moteur + sensitif)
- transport axonal rétrograde (25mm/jour)
- SNC (marqueur des réseaux neuronaux)

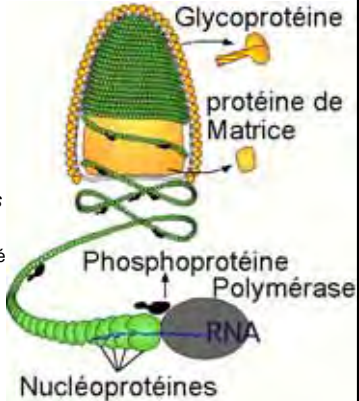
PERIODE SYMPTOMATIQUE

- dysfonctions neuronales (neurotransmetteurs, ...)
- infection tissu non-neuronaux (glandes salivaires)
- transmission (morsure, aérosol)

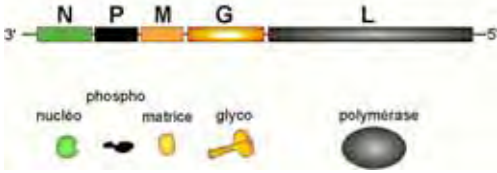


Le virus rabique


- ↓ Genre *Lyssavirus*
- ↓ Famille *Rhabdoviridae*
- ↓ Ordre *Mononegavirales*
 - enveloppé
 - ARN négatif non segmenté
 - matrice encapsidée (ARN + N) = RNP
 - lue par l'ARN-polymérase ARN dépendante (L + P)



Génome rabique



RNP hélicoïdale (virus ARN -)
(Schoehn et al., J. Virol. 2001) 750 Å 240 Å



virus à ARN négatifs

multinégavirales

- arenaviridae
- bunyaviridae
- orthomyxoviridae

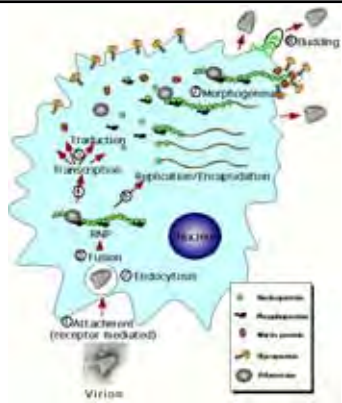
mononégavirales

- filoviridae
- rhabdoviridae
- paramyxoviridae
- bornaviridae

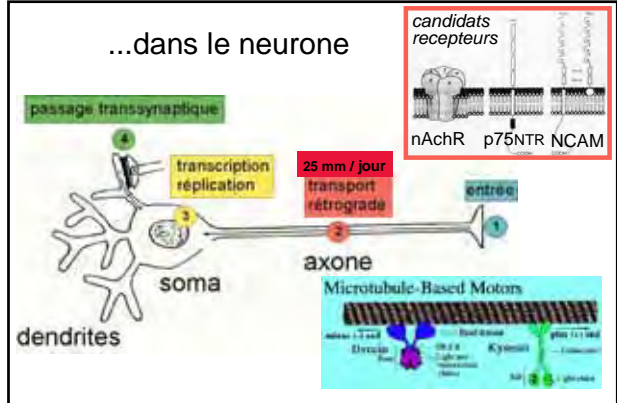
vertébrés / vertébrés / vertébrés / vertébrés

réplication cytoplasmique / réplication nucléaire

Cycle viral



...dans le neurone

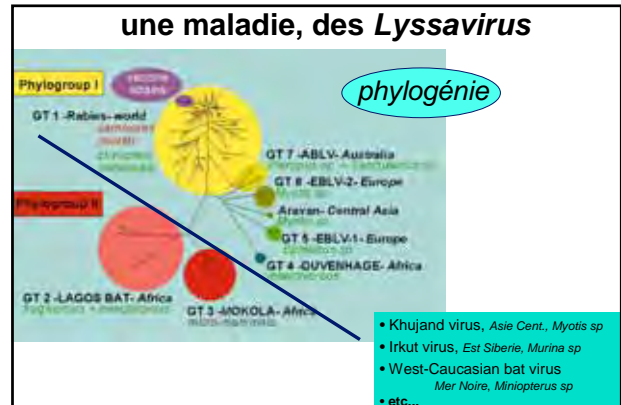
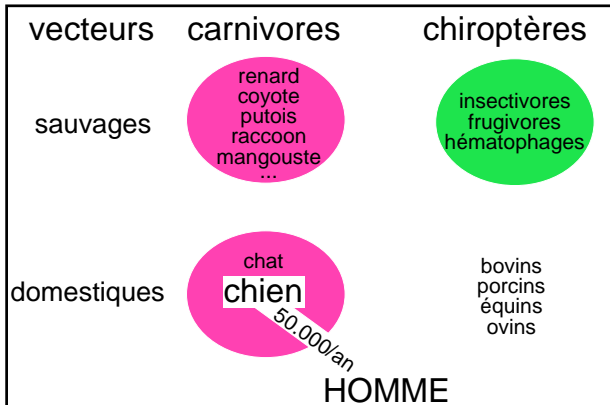


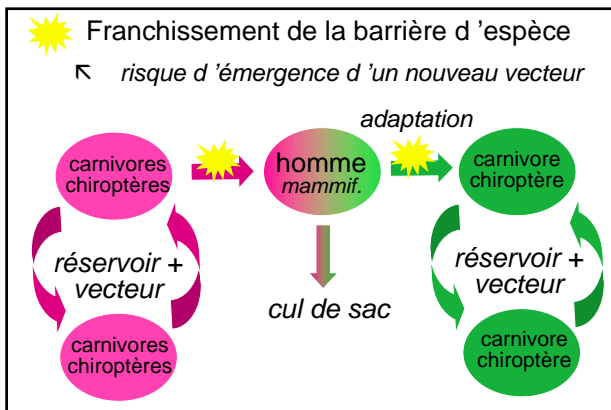
Epidémiologie

La Rage est une zoonose qui a toujours été liée aux carnivores



« des personnes ont vu un ou deux hommes mordus et ils sont morts »





Changements d'hôtes « naturels » de chiroptère à carnivore

GT1: *Myotis* var -> renard (Prince Edward Island, Canada, 1985)
Daoust et al., 1996, J. Wildlife Dis, 32, 403-406

• GT5: EBLV-1 var -> mouton (Danemark, 1997)
 -> martre (Germany, 2001)
Stougaard et Ammendrup, Rabies Bull Eur., 22, 6
Müller et al, Rabies Bull Eur., 25, 9-11
Ronsholt, Rabies Bull Eur., 26, 15
 -> chat: Ab. anti- EBLV-1 (Danemark, 2004)

• GT1: *Eptesicus* var -> putois (Arizona, 2001)
Smith et al 12th RITA Conference, 47
 en 2004 toujours transmission putois->putois

Susceptibilité des mammifères terrestres aux lyssavirus de chauves souris (infection périphérique i.m.)

• GT1: *Eptesicus* var -> putois ++
Hughes et al., 2004, J. Clin. Microbiol., 42, 299-306

• GT5: EBLV-1 var -> souris ++
 -> chien/chat +/-
 -> furet ++
 -> renard - signes cliniques / sérologie ++
 -> mouton - signes cliniques / sérologie ++

• GT6: EBLV-2 var -> furet - signes cliniques / sérologie ++
 -> renard - signes cliniques / sérologie ++
 -> smouton - signes cliniques / sérologie ++

Fekadu et al., 1988, Arch Virol, 99: 187-203
Vos et al., 2004, J. Med. Vet B., 51: 55-60 ; 51: 327-32

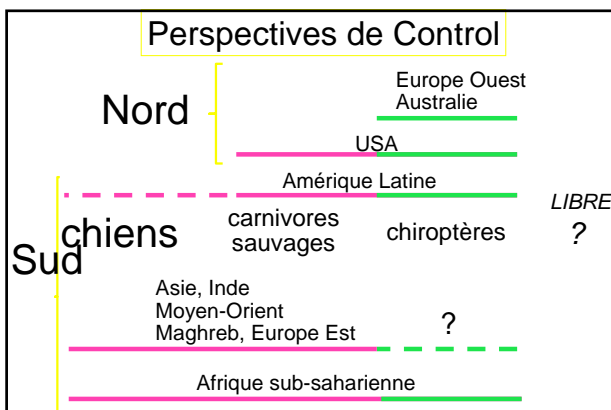
Conclusion

Susceptibilité des mammifères terrestres aux lyssavirus de chauves souris (infection périphérique i.m.)

Variant *Eptesicus* (GT1) pathogène pour le putois

Virulence différente de EBLV-1 et EBLV-2 chez le furet
 EBLV-1 -> infection létale
 EBLV-2 -> infection non létale, abortive
 taux d'anticorps élevé dans le sérum, 'immunité stérilisante'

Faible virulence le EBLV-1 et EBLV-2 pour le renard, mouton



Co-évolution ancienne entre les chiroptères et leurs variants : Sont-ils toujours pathogènes ?

Traces de Lyssavirus chez les chiroptères (surveillance)

• RABV, USA: *Shankar et al. 2004, J. Wildlife Dis. 40: 403-13*

• EBLV, Espagne: *Echevarria et al. 2001, J. Clin. Mic 39:3678:83*
Serra-Cobo et al. 2002, EID 8: 413-20

• EBLV2, Ecosse: *Brookes et al. 2005, EID 11: 572-8*

• ABLV, Philippines: *Arguin et al. 2002, EID 8: 258-62*

• ???, Thaïlande: *Lumlertdacha et al. 2005, EID 11: 232-6*

• ???, Cambodge: *Reynes et al. 2004 EID 10: 2231-4*

2% - 60% seropositivité (elisa, anticorps neutralisants)
 présence d'antigènes de lyssavirus (rare)
 présence d'ARNs de lyssavirus (très rare)

Cas de rage "indigène" en Ecosse - 2002



❖ 1^{er} cas indigène case de rage en GB depuis 100 ans

❖ 2nd cas humain de EBLV-2 (4^{ème} EBLV cas en Europe)

Fooks *et al.*, (2003). *J.Med. Virol.* **71**(2):281-9

Conclusions

- ❖ Les chauves-souris capturées sont apparemment en bonne santé et ne montrent pas de signes cliniques
- ❖ De l'ARN EBLV-2 n'est pas détecté dans la salive de chauves-souris séropositives
- ❖ Aucune chauve-souris en bonne santé n'excrète de virus dans sa salive
- ❖ Evidence de "clearance" et de survie

Brookes *et al.* 2005, *EID* 11: 572-8

Fort-Collins, USA (*Eptesicus fuscus*)

Shankar *et al.* 2004, *J. Wildlife Dis.* 40: 403-13

- ❖ Captures de colonies dans des immeubles
- ❖ 16-22% seropositivité pour RABV
- ❖ Pas d'excrétion de virus vivant, pas de virus dans le cerveau
- ❖ Individus séropositifs en 2001 recapturés en 2002 et 2003.
- ❖ 2/36 individus capturés meurent de rage (*Eptesicus fuscus* variant)
- ❖ Les autres en contact sont toujours en vie 2 ans après capture au delà de la période d'incubation de la rage chez la chauve souris

Conclusions:

- ❖ Chauves-souris exposées à la rage: anticorps sans infection
- ❖ Chauves-souris séropositives: immunes aux expositions ultérieures

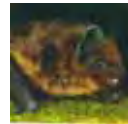
Transmission entre espèces de chauves souris

Zoo Hollande -> Danemark (non pathogène / pathogène)

EBLV1 ARNs (75%)
EBLV1 antigènes (17,5%)

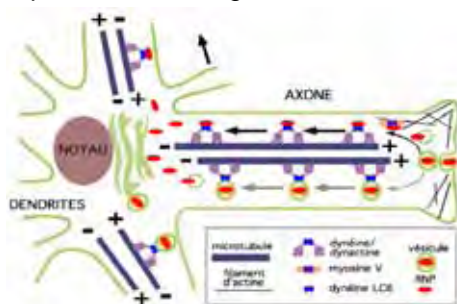
Eptesicus fuscus

Rousettus aegyptiacus



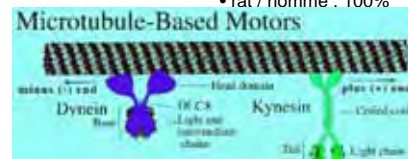
EBLV1

Transport axonal rétrograde: RNP ou endosome ?



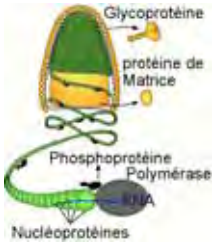
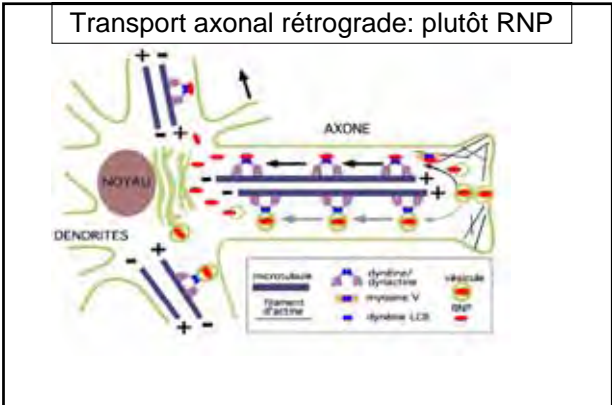
transport axonal rétrograde

- ↓ porté par les microtubules
- ↓ orienté dans l'axone: (+) synapse vers (-) soma
non orienté dans les dendrites
- ↓ moteur: complexe dynéine/dynactine (1000 Kda)
2 chaînes lourdes, 2 intermédiaires, 4 légères inter., plusieurs légères
- ↓ LC8: au contact du cargo
très conservée dans l'évolution:
 - levure / homme : 49%
 - rat / homme : 100%



La protéine P des lyssavirus (RNP) interagit avec la chaîne légère de la dynéine LC8 (au contact du cargo)

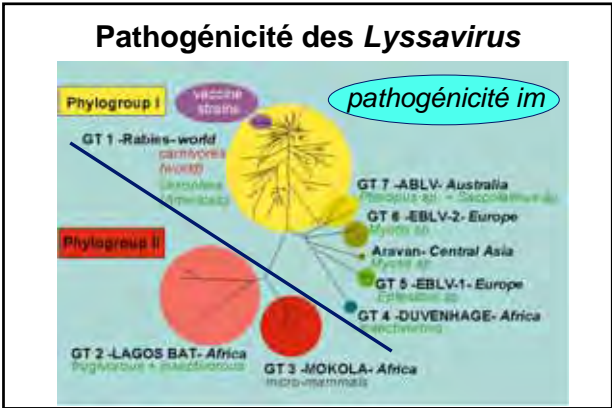
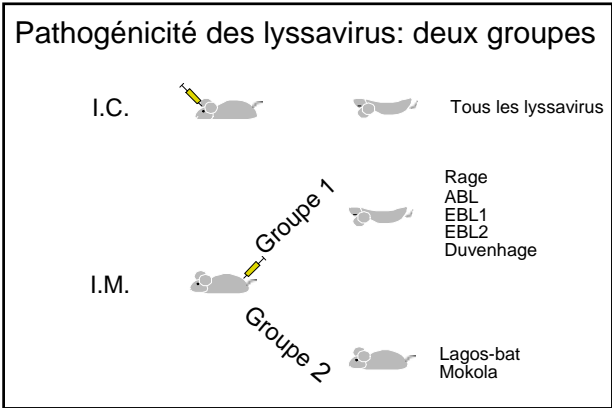
- ↓ Criblage d'une banque d'ADNc en double-hybride
 - > 45% des clones positifs codent LC8
- ↓ Co-immunoprécipitation P/LC8
- ↓ Microscopie confocale P/LC8
- ↓ LC8 incorporée dans les virions

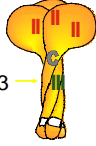
Possible rôle(s) de l'interaction P-LC8

- transport axonal de la RNP ???
Réduction de la dissémination périphérique de mutants Sad DΔ chez le souriceau nouveau né
- Pathogénicité:
LC8 is un inhibiteur de nNOS synthase qui régule le niveau de NO *in vivo*
L'infection rabique du cerveau de rat augmente iNOS dans les macrophages et la microglie, ce qui corrèle avec la sévérité clinique et une réduction de l'activité ncNOS (Akaike et al., 1995, J. Neurovirol 1: 118-125)

Diversité fonctionnelle des Lyssavirus



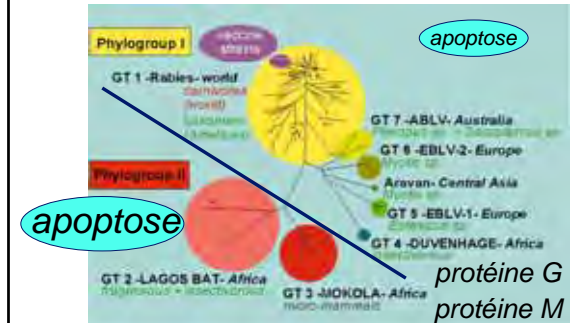
Glycoprotéine G: marqueurs de pathogénicité

		R 333			
Groupe 1	GT1-PV	KSVRTWNEI	IPS	KG	
	GT1-Myotis	KSIKWTWNEV	IPS	KG	
	GT7-ABL	NQVRTWNEI	IPS	KG	
	GT5-EBL1	KSVREWKEV	IPS	KG	
	GT5-EBL1	KSVREWTEV	IPS	KG	
	GT6-EBL2	KSIREWTDV	IPS	KG	
Groupe 2	GT4-Duv	KSVREWKEI	IPS	KG	R 333
	GT2-Lagos	LKVDNWSEI	LPS	KG	
	GT2-Lagos	LRVDSWNDI	LPS	KG	
	GT3-Mokola	KRVDRWADI	LPS	KG	
	GT3-Mokola	KRVDKWADI	LPS	KL	

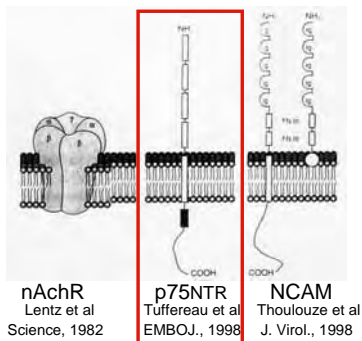
III a
sites antig.

Lyssavirus et apoptose (protéines G & M)

Prehaud et al. 2003, J. Virol, 77, 10537-10547
Kassis et al. 2004, J. Virol, 78, 6543-6555

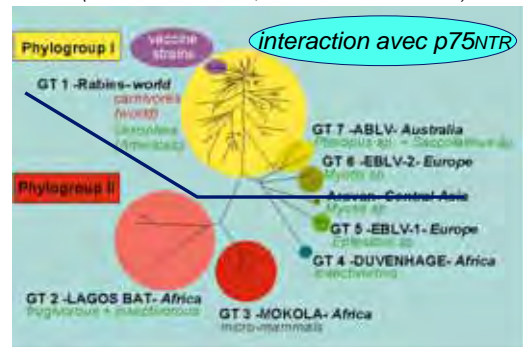


candidats récepteurs protéiques des lyssavirus



Interaction p75NTR / G protéine lyssavirus

(Thuffereau et al. 2001, J. Gen. Virol 82:2061-67)

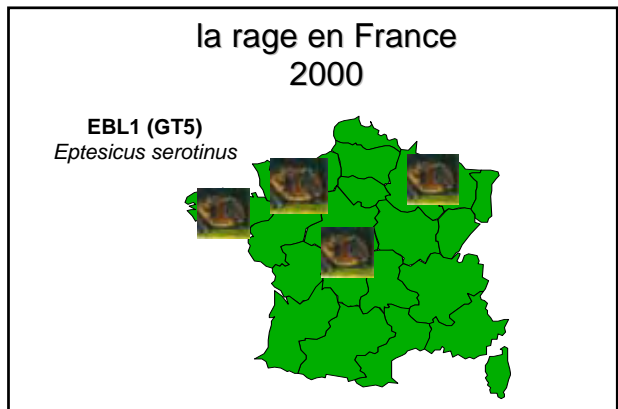
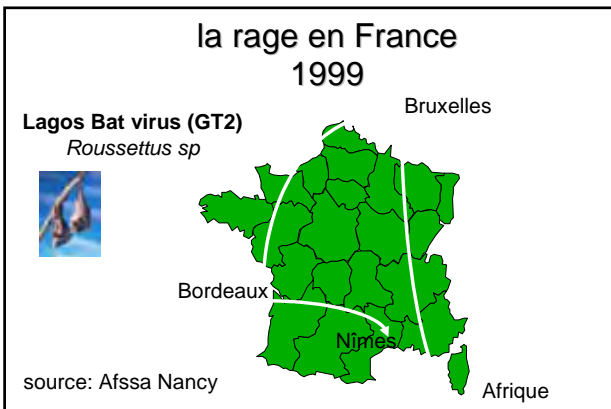
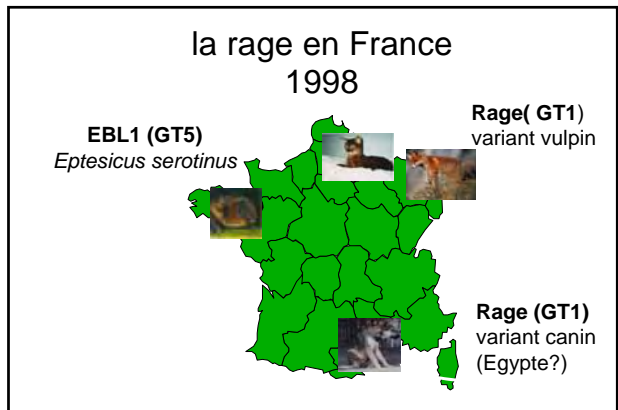
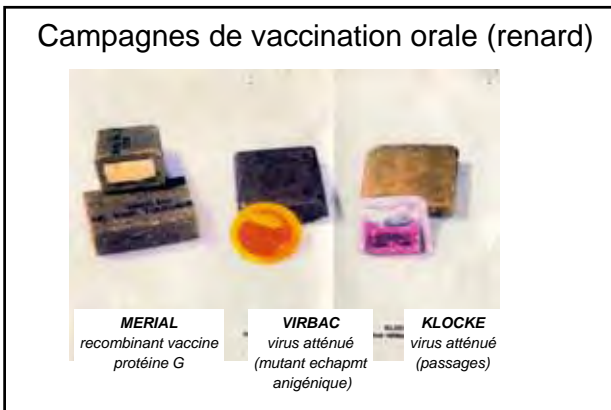
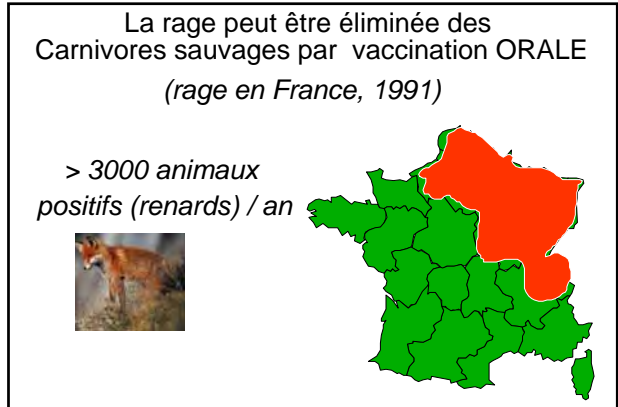
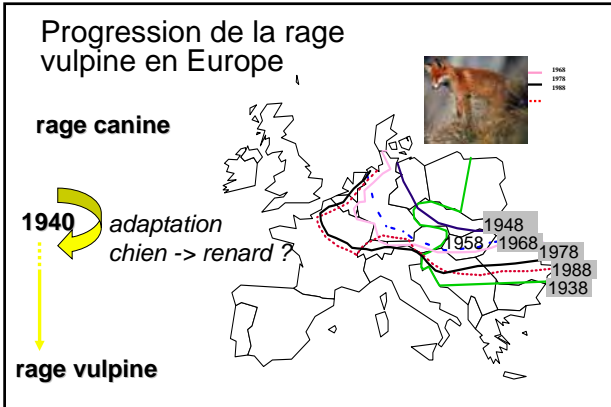


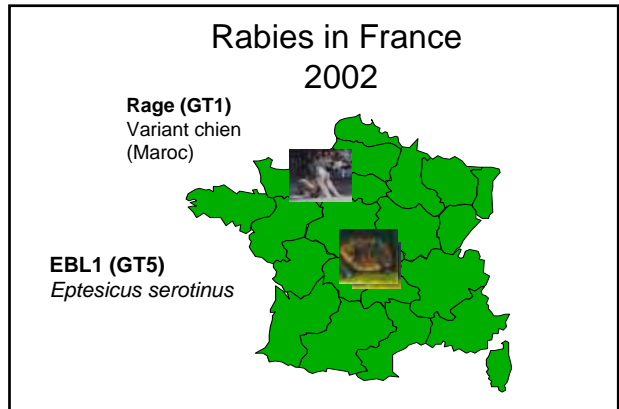
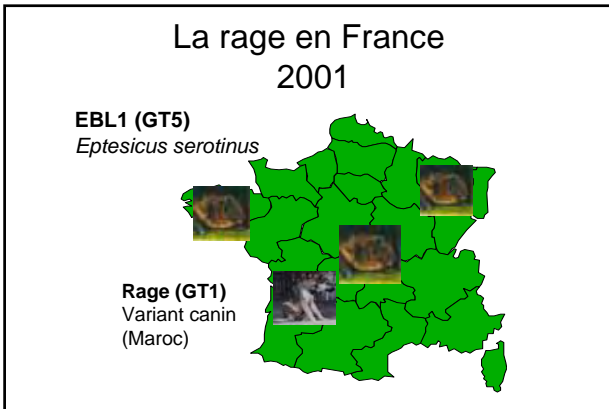
Evolution de l'épidémiologie de la rage en Europe de l'Ouest

La rage peut être éliminée des carnivores domestiques par vaccination

- France 1941
- Amérique latine 1985 2003







Rage animale en France 1998-2002

-> 3 animaux importés

- 2 chiens
- 1 chauve-souris

-> 14 indigènes

- 1 renard
- 1 chat
- **12 E. serotinus**

< 1998

Règles OIE :
depuis 2000 la France libre de rage !

rage humaine en France

1924: dernier cas autochtone

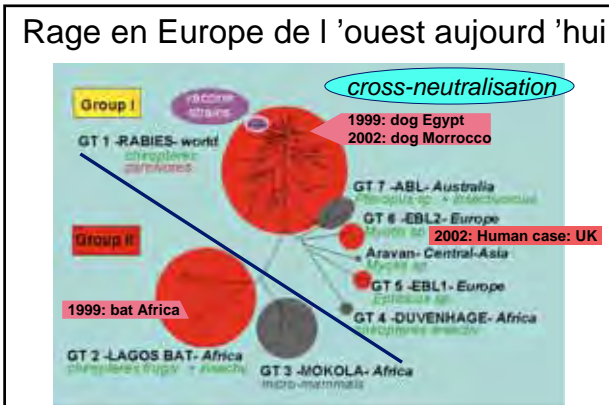
1977-2003: 20 cas importés
Mexique, Maghreb, Moyen-Orient, Afrique, Madagascar, Inde...

Ecosse

(Fooks et al., 2003 J. Med. Virol, 71: 281-9)

2002: -> 1er cas humain
chiroptérologue, mordu, non vacciné
EBL2 (GT6): *Myotis daubentonii*

Règles OIE : GB est libre de rage !

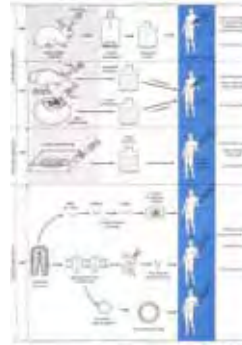


Prévention :

Les vaccins disponibles sont-ils adaptés à l'évolution actuelle des lyssavirus ?

Vaccinologie: le vaccin de Pasteur

- souche « fixe » par passages successifs sur cerveau de lapin
- atténuée par dessiccation durant 15 jours à 23°C



HOMME

- cerveau de mouton (Semple)
- cerveau de souriceau (Fuenzalida)
- oeuf embryonné
- culture cellulaire (HDCV - Koprowski)

Inactivés ou atténués

recombinant vaccinia (G) (Merial - oral renard)

peptides (G-N)

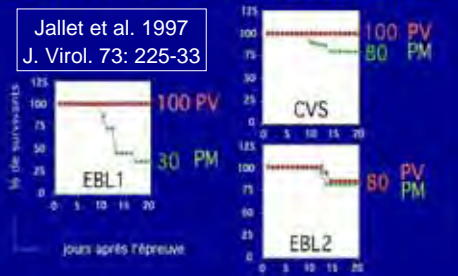
ANIMAL

liposomes (G)

...vaccins ADN (G)

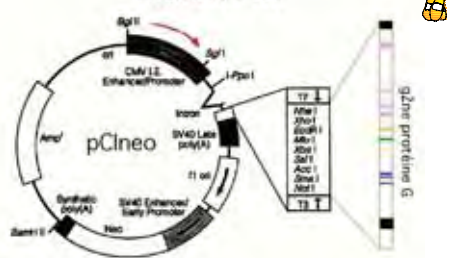
La souche vaccinale PV protège mieux les souris que la souche PM contre une épreuve par EBL1

Jallet et al. 1997
J. Virol. 73: 225-33

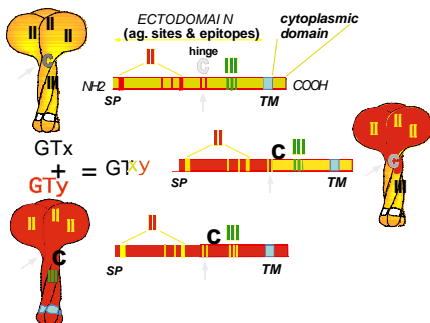


i.m. souris
chien

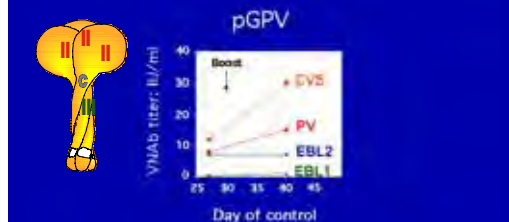
vaccin ADN



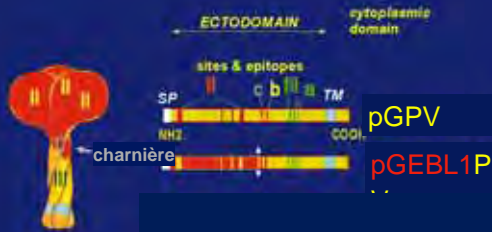
Accroître le spectre des vaccins: Glycoprotein G chimères



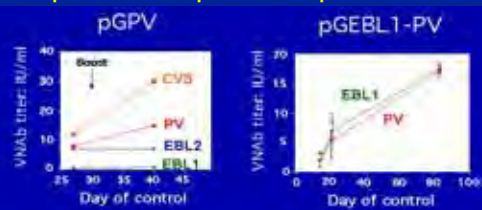
Induction of VNAb against EBLs by pGPV plasmid



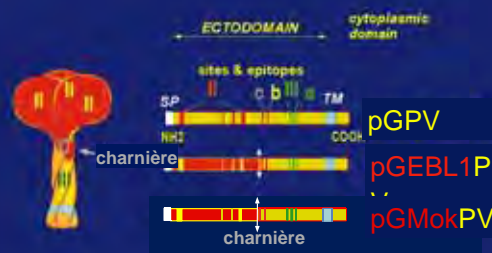
Accroître le spectre des vaccins: Glycoprotein G chimères



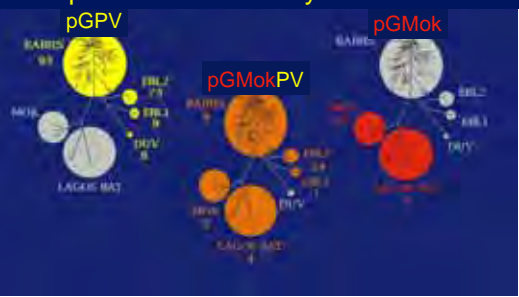
Induction d'Ac neutralisants contre EBLs par les plasmides pGPV et pGEBL1-PV



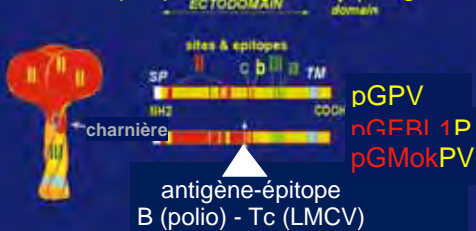
Accroître le spectre des vaccins: Glycoprotein G chimères



Ac neutralisants induits par pGPV, pGMok-PV et pGMok contre les Lyssavirus



Vaccination multivalente: glycoprotein chimère portant des épitopes/antigènes étrangers



CONCLUSIONS

Les lyssavirus proviennent des chauves-souris à partir d'où ils « débordent » régulièrement chez les carnivores
Erradication difficile, contrôle possible

Dans les pays ayant contrôlé la rage des carnivores par vaccination parentérale (chien) ou orale (renard, O. Europe)
La rage des chauves-souris émerge épidémiologiquement

Plusieurs génotypes de Lyssavirus (EBLs, Mokola, Lagos bat,...) divergent des souches vaccinales
Accroître le spectre des vaccins (démonstration faite)
Vaccins: rage -> EBLs -> lyssavirus

La protéine G des lyssavirus peut porter des épitopes étrangers
vaccination multivalente (1 animal, plusieurs pathogènes)

Institut Pasteur, Paris

Yves JACOB
Eléonore REAL
Hassan BADRANE
Chokri BAHLOUL
Pierre-Emmanuel CECCALDI
Emmanuel DESMEZIERES
Pierre PERRIN
Noël TORDO



CNRS, Gif sur Yvette

Christine TUFFEREAU
Danielle BLONDEL
Yves GAUDIN

IMSS, Mexico

Alvaro AGUILAR-SETIEN
Elisabeth LOZA-RUBIO

ADRI, Canada

Susan NADIN-DAVIS
Alex WANDELER

AFSSA, Nancy, France

Michel AUBERT
Florence CLIQUET

RML, Montana, US

Don LODMELL

Teams worldwide