

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
(E.I.S.M.V.)



ANNEE 2009

N° 15

EPIDEMIOLOGIE DE LA RAGE ET ASPECTS MOLECULAIRES DU VIRUS RABIQUE A BANGUI (REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE) AU COURS DE LA PERIODE DE 2006 A 2008

THESE

Présentée et soutenue publiquement le **30 décembre 2009 à 16 heures** devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar pour obtenir le Grade de

**DOCTEUR EN MEDECINE VETERINAIRE
(DIPLOME D'ETAT)**

Par

Jean-Sylvain MANGUÉ

Né le 04 juin 1981 à Berberati (CENTRAFRIQUE)

Jury

Président :

M. Bernard Marcel DIOP

Professeur à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar

Directeur et Rapporteur de Thèse:

M. Justin Ayayi AKAKPO

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Membres:

Mme. Rianatou BADA ALAMBEDJI

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

M. Yalacé Yamba KABORET

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Co - directeur de Thèse:

M. Alain LE FAOU

Professeur à la faculté de Médecine de Nancy,
Directeur de l'Institut Pasteur de Bangui

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERNAIRES DE DAKAR



BP 5077- DAKAR (Sénégal)
Tél. (221) 33 865 10 08 – Télécopie (221) 33 825 42 83

COMITE DE DIRECTION

LE DIRECTEUR

- Professeur Louis Joseph PANGUI

LES COORDONNATEURS

- Professeur M. Germain Jérôme SAWADOGO
Coordonnateur des Stages et de la Formation
Postuniversitaire
- Professeur Justin Ayayi AKAKPO
Coordonnateur Recherches et Développement
- Professeur Moussa ASSANE
Coordonnateur des Etudes

PERSONNEL ENSEIGNANT

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT EISMV**

☞ **PERSONNEL VACATAIRE (PREVU)**

☞ **PERSONNEL EN MISSION (PREVU)**

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (PREVU)**

PERSONNEL ENSEIGNANT EISMV

A. DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PRODUCTIONS ANIMALES

CHEF DE DEPARTEMENT : Ayao MISSOHOU, Professeur

S E R V I C E S

1. ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Serge N. BAKOU	Maître de conférences agrégé
Gualbert Simon NTEME ELLA	Assistant
Mlle Sabine NGA OMBEDE	Monitrice
Mr Bernard Agré KOUAKOU	Moniteur
Mlle Rose Eliane PENDA	Docteur Vétérinaire Vacataire

2. CHIRURGIE-REPRODUCTION

Papa El Hassane DIOP	Professeur
Alain Richi KAMGA WALADJO	Assistant
Bilkiss V.M ASSANI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Fabrice Juliot MOUGANG	Docteur Vétérinaire Vacataire

3. ECONOMIE RURALE ET GESTION

Cheikh LY	Professeur
Adrien MANKOR	Assistant
Mr Gabriel TENO	Moniteur

4. PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE

Moussa ASSANE	Professeur
Rock Allister LAPO	Assistant
Mr Sabra DJIGUIBET	Moniteur

5. PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur
Mouiche MOULIOM	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Pascal NYABINWA	Moniteur

6. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION

Ayao MISSOHOU	Professeur
Simplice AYESSIDEWEDE	Assistant
Kouamé Marcel N'DRI	Moniteur

B. DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE ET ENVIRONNEMENT

CHEF DE DEPARTEMENT : Professeur Rianatou BADA ALAMBEDJI

S E R V I C E S

1. HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)

Malang SEYDI	Professeur
Bellancille MUSABYEMARIYA	Assistante
Khalifa Babacar SYLLA	Assistant
Mr David RAKANSOU	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Eugène NIYONZIMA	Moniteur

2. MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin Ayayi AKAKPO	Professeur
Mme Rianatou ALAMBEDJI	Professeur
Philippe KONE	Assistant
Jean Marc FEUSSOM KAMENI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Abdel-Aziz ARADA IZZEDINE	Docteur Vétérinaire Vacataire

3. PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE APPLIQUEE

Louis Joseph PANGUI	Professeur
Oubri Bassa GBATI	Maître-assistant
Paul Armand AZEBAZE SOBGO	Docteur Vétérinaire Vacataire

4. PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE - CLINIQUE AMBULANTE

Yalacé Yamba KABORET	Professeur
Yaghoubba KANE	Maître-assistant
Mireille KADJA WONOU	Assistante
Medoune BADIANE	Docteur Vétérinaire (SOVETA)
Omar FALL	Docteur Vétérinaire (WAYEMBAM)
Alpha SOW	Docteur Vétérinaire (PASTAGRI)
Abdoulaye SOW	Docteur Vétérinaire (FOIRAIL)
Ibrahima WADE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Charles Benoît DIENG	Docteur Vétérinaire Vacataire
Togniko Kenneth TCHASSOU	Moniteur
Enock NIYONDAMYA	Moniteur

5. PHARMACIE-TOXICOLOGIE

Félix Cyprien	BIAOU	Maître-Assistant (<i>en disponibilité</i>)
Gilbert Komlan AKODA		Assistant
Assiongbon TEKOU AGBO		Assistant
Abdou Moumouni ASSOUMY		Moniteur

C. DEPARTEMENT COMMUNICATION

CHEF DE DEPARTEMENT : Professeur Yalacé Yamba KABORET,

SERVICES

1. BIBLIOTHEQUE

Mariam DIOUF	Documentaliste
--------------	----------------

2. SERVICE AUDIO-VISUEL

Bouré SARR	Technicien
------------	------------

3. OBSERVATOIRE DES METIERS DE L'ELEVAGE (OME)

D. SCOLARITE

EI Hadji Mamadou DIENG	Vacataire
Mlle Houénafa Chimelle DAGA	Monitrice
Mlle Aminata DIAGNE	Secrétaire

PERSONNEL VACATAIRE (Prévu)

1. BIOPHYSIQUE

Boucar NDONG

Assistant
**Faculté de Médecine et de Pharmacie
UCAD**

2. BOTANIQUE

Dr Kandouioura NOBA
Dr Mame Samba MBAYE

Maître de Conférences (**Cours**)
Assistant (**TP**)
**Faculté des Sciences et Techniques
UCAD**

3. GRO-PEDOLOGIE

Fary DIOME

Maître-Assistant
Institut de Science et de la Terre (IST)

4. ZOOTECHNIE

Abdoulaye DIENG

Docteur Ingénieur
Enseignant à ENSA - THIES

Léonard Elie AKPO

Professeur
Faculté des Sciences et Techniques

UCAD

Alpha SOW

Docteur Vétérinaire Vacataire

5. H I D A O A

. NORMALISATION ET ASSURANCE QUALITE

Mme Mame S. MBODJ NDIAYE

Chef de la division Agro-alimentaire
Institut Sénégalais de Normalisation

. ASSURANCE QUALITE – CONSERVE DES PRODUITS DE LA PECHE

Abdoulaye DIAWARA

Direction de l'Elevage du Sénégal

PERSONNEL EN MISSION (Prévu)

1. TOXICOLOGIE CLINIQUE

Abdoulaziz EL HRAIKI

Professeur
**Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II
Rabat (Maroc)**

2. PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Mohamed AOUIA

Professeur
**Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de
TUNISIE**

3. REPRODUCTION

Hamidou BOLY

Professeur
**Université de BOBO-DIOULASSO (Burkina
Faso)**

4. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION ANIMALE

Jamel RKHIS

Professeur
**Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de
TUNISIE**

DEDICACES

A Toi Dieu Eternel et Tout Puissant

Je te remercie pour tout le bien que tu ne cesses de faire, que la grâce te soit rendue, car tu m'as permis d'être là aujourd'hui en me donnant la santé, le savoir et la sagesse durant mon séjour au Sénégal. Que ce modeste travail te revienne.

A mon Père, Michel MANGUÉ

Merci de m'avoir donné la vie et de m'avoir encouragé de faire les études vétérinaires. Malgré toutes les difficultés connues, me voici aujourd'hui arrivé. Que ton âme repose en paix.

A ma mère, Marie -Thérèse BORI

Toi qui vis aujourd'hui dans la douleur, le rejet, l'injustice et l'indifférence des autres ; saches que mon regard suffisait pour que tu comprennes mes désirs que tu comblais aussitôt. Maman, je ne sais pas, si j'ai toujours répondu à tes attentes ; mais je tiens ici à te faire part de mon amour profond. Tes soucis permanents de notre bien être, tes prières, ton amour, ton courage, le pardon facile, la bonté et la générosité que tu as toujours usée jusqu'à en oublier de ta personne, tout cela m'ont marqué et je ne les oublierai jamais.

L'occasion m'est donnée ici de te remercier au nom de mes sœurs et frères, et de celui de toute la famille BORI ; saches que nous t'aimons maman.

Ce travail est le témoignage de tous les sacrifices consentis pour ma réussite. Longue vie à toi maman.

A mon grand père, Jean BORI BEGNOBEBE

Merci pour tes encouragements et tes sages conseils de grand-père. Ton franc parlé que j'apprécie à sa juste valeur, restera pour moi un exemple à suivre. Soit heureux et fier de ce modeste travail, Que L'Eternel te prête une longue vie à nos côtés

A ma grand-mère, Mme BORI Marie-Hortense DION

Dès mon enfance, tu as cru en moi, car l'enfant ne choisit pas ses parents ; ce que je suis devenu aujourd'hui, c'est grâce à ta détermination à ne pas me laisser tomber, malgré les humiliations. Merci pour tes prières et tes bénédictions qui m'ont toujours accompagné jusqu'à ce jour.

Que le Dieu tout-puissant t'accorde une longue vie.

A grand-mère, Lucie DIMALOÉ

Affectueusement appelée Omba, merci de t'être occupée de moi à mon jeune âge, je te serais reconnaissant. Que le Dieu d'Amour puisse t'accorder une longue vie et ce travail est à toi.

A mon oncle Mgr Paulin POMODIMO

Veillez recevoir ici tous mes remerciements pour vos aides matérielles et morales. Vous méritez l'admiration et l'honneur pour votre qualité d'homme d'église. Votre bonne volonté, votre sacrifice, votre engagement pour la paix en RCA et tout ce que vous faites pour la grande famille Guiamporo, nous marqueront à jamais. Que Dieu vous comble de ses biens faits.

A mes oncles, Benoît, Jean-Luc, Achille, Thomas-charlot, Dominique

Je suis fier de vous avoir comme mes aînés. Merci à vous tous pour votre contribution à ma réussite et en particulier à Thomas-Charlot qui s'est sacrifié pendant des années à me soutenir financièrement. Considérez ce travail comme le vôtre.

A mon Parrain, Abbé Gabin BERI MBIKA

Tu resteras pour moi un père spirituel et adoptif. Merci pour les biens faits, que Dieu vous couvre de sa grâce et vous assiste dans votre mission de Pasteur.

A ma tante Hélène POMODIMO

Merci pour ton accueil chaleureux, tes conseils, et saches que tes qualités humaines et ta franchise ne m'éloigneront jamais de toi et ce travail est le tien

A mes tantes, Lucie-Reine, Chantal, Ruth, Sylvie

Merci pour votre affection et soyez fières de ce travail.

A mon frère cadet, Eddy-Serge

Tu demeures un exemple de jeune papa responsable par ta conduite, ton sens du sacrifice et de la famille, malgré tes difficultés quotidiennes. Saches que je suis fier de toi et sois sûr que tu peux compter sur moi pour émerger dans tes activités professionnelles. Ce travail est à toi.

A ma sœur cadette, Stéphanie

Je suis fier de t'avoir comme sœur. Merci pour ta présence à la maison quand je revenais pour les vacances, mais saches que tu dois choisir la dignité en cherchant une vie heureuse, car la vie est un choix.

A mes cadettes et cadets, Héritier, Franck, Fortune, Hillary, Yann, Juanita

Etant le petit fils aîné de la famille BORI, j'ai le devoir de donner le bon exemple. Veillez recevoir ce flambeau que je vous passe, celui de la persévérance et du courage au travail. Soyez en sûrs que vous pouvez compter sur moi tant que les études resteront vos priorités, car notre salut viendra de là. Que Dieu vous assiste dans vos études.

A mes sœurs, Mireille, Luce, Marie Ange, Albane, Sophie

La bonne humeur, les rires, les joies, accueil chaleureux et votre conviction de voir en moi, un frère digne qui fera votre honneur et fierté. Soyez rassurées que j'aurais toujours besoin de vos oreilles attentives et de vos cœurs sensibles. Dieu m'a comblé en me donnant des sœurs. Je veux vous dire merci pour votre affection, ce travail est le vôtre.

A mes frères Jean Christian, Jacques Christian, Claude, Alain, Wilfried

Soyez assurés de ma foi en une fraternité inébranlable par la grâce de Dieu. Ce travail est le vôtre.

A Gracier Esther BINKO, toi qui souhaiterais m'accompagner dans l'aventure appelée la vie. Je tiens ici à te dire merci d'avance pour ton choix et pour ton plus grand Amour à mon égard, car là où il y'a l'amour, il y' aura le bonheur et la richesse. Sois alors rassurée que je serais toujours là pour te couvrir de toute mon affection et de toute ma tendresse que tu en auras besoin.

A Jean YAKANA, grand merci pour les biens faits.

Aux Amis et aînés de Dakar, **Dr NGABA Nestor, Serge BODA, TOROKPI Rodrigue, Dr LOGGOUET Aristide, Dr NGAYA Gilles, Firmin MAKAMA alias Hélio, Dr MOSSORO Diamant, Dr TEKPA Gaspard, Dr TEKPA Bertrand, Mondésire OUALOU**, grand merci pour vos conseils et soutiens lors des moments difficiles.

A mes amis (es) de Bangui, **Edouard, Magloire, Amos, Romulus, Dr MELI Nathalie, Nadia, Odile, Sonia**, je vous souhaite de rester mes amis, cela en vaut la peine.

Aux familles **BORI, MANGUÉ, POMODIMO, NGUEGUENE, NTELNOUBI, ZOUMALDE**, merci pour votre sourire et votre accueil.

A tous mes Promotionnaires, de la **36^{ième} Promotion de l'EISMV**, Promotion « French », nous avons passé des moments de durs labeurs, je vous souhaite, une réussite professionnelle et tout le bonheur du monde.

A tous mes collègues de la deuxième **Promotion de Master 2 Santé Publique Vétérinaire**.

A tous les personnels de l'Institut Pasteur de Bangui, qui m'ont accueilli lors de mon stage. Merci pour vos sourires et de votre accueil.

TRES SINCERES REMERCIEMENTS

Au Gouvernement Centrafricain et à la Coopération française pour avoir supporté ma scolarité pendant toutes mes années d'études à l'EISMV.

Au Dr. Emmanuel NAKOUNE, Responsable de laboratoire arbovirus et virus de fièvres hémorragiques de l'IPB

Soyez rassuré que je n'oublierais jamais vos conseils d'homme de science et vos encouragements au travail. Vos qualités humaines constituent pour nous un exemple à avoir dans la vie.

A Son Excellence Armel DOUBANE

Votre concours à ma réussite restera gravé en moi toute ma vie, Veuillez accepter toutes nos reconnaissances.

Au Directeur de l'EISMV de Dakar, le Professeur Louis Joseph PANGUI

Les mots me manquent pour vous dire toute ma reconnaissance pour les bienfaits. Vous n'avez ménagé aucun effort pour m'assister pendant les moments difficiles de ma formation. Merci que le Dieu d'Amour vous accorde une longue vie.

Au Pr Malang SEYDI, au Pr Cheick LY, au Pr Moussa ASSANE,

Au Pr Serge Nianghora BAKOU, Professeur accompagnateur de la 36^{ième} Promotion, soyez assuré de notre admiration

A Mme DIOUF, Documentaliste à l'EISMV,

A M. Aliou NACRO

Agent comptable de l'EISMV, merci pour vos soutiens et vos conseils que vous n'avez cessés de m'apporter. Votre simplicité et vos qualités humaines me marqueront toujours. Que Dieu tout puissant puisse veiller sur vous et votre famille.

Aux Docteurs Yakouba KANE, Alain Richi KAMGA WALADJO, GBATI, Rock LAPO, Philippe KONE, à l'EISMV de DAKAR

Aux Docteurs Ibrahim MAHAMAT SALE, Franckline ENEDE, Abdel-Aziz ARADA IZZEDINE pour tous leurs conseils et leurs soutiens.

Aux docteurs, NGOM, NYONZIMA, MWENEDATA, merci pour tout

Au Sénégal et son peuple

A l'amicale des Etudiants Vétérinaires Centrafricains de Dakar (AEVCAD)

A l'Amicale des Etudiants Vétérinaires de Dakar (AEVD)

A Tous les Promotionnaires, de la 36^{ième} Promotion de l'EISMV, Promotion «Cheryl Mary FRENCH »

A tous mes Professeurs de l'EISMV pour le savoir qu'ils m'ont transmis.

A tous les personnels de l'Institut Pasteur de Bangui, en particulier les Personnels de laboratoire d'arbovirus et fièvres hémorragiques : **Benjamin, Xavier, Francis, Eveline, Carine, Marylou et Fatou** ; avec qui j'ai passé des moments merveilleux pendant lesquels, j'ai bénéficié de leurs conseils et de leurs expériences de la vie et du travail. Pour vos qualités humaines, je n'aménagerais aucun effort pour revenir vers vous. Trouvez ici toutes mes reconnaissances.

A Gomez SAGNA, Léopold DIOUF, Samba FALL François TENDENG, Vigiles à l'EISMV

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réussite de ce travail.

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre président du Jury M. Bernard Marcel DIOP, Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar.

Nous sommes fort honorés de vous avoir comme président de jury de thèse. La spontanéité avec laquelle vous avez accepté cette invitation, malgré vos multiples occupations, nous démontre une fois de plus la grandeur de vos connaissances scientifiques, de vos qualités humaines et l'importance que vous accordez aux sciences vétérinaires. Veuillez accepter toutes nos reconnaissances.

A notre Maître, Juge, Directeur et Rapporteur de thèse M. Justin Ayayi AKAKPO, Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar.

Nous sommes très heureux et satisfaits d'avoir effectué sous votre conduite ce travail. Soyez rassuré que pendant cette période d'apprentissage, nous avons beaucoup appris.

Tout au long de nos études vous n'avez cessé de nous accompagner et de cultiver en nous les valeurs scientifiques. Vos qualités intellectuelles et humaines ont guidé notre choix sur votre service pour la soutenance de notre thèse.

Votre amour du travail bien fait, votre rigueur scientifique et votre disponibilité ont forcé notre admiration.

Que Dieu d'Amour vous garde et vous accorde une longue vie. Profonde reconnaissance.

A notre Maître et Juge Mme Rianatou BADA ALAMBEDJI, Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar.

C'est un réel plaisir et un honneur pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury de thèse. En dépit de vos nombreuses occupations vous avez accepté de venir juger ce travail. Votre compétence en virologie, en immunologie ainsi que vos conseils, nous aideront à combler les insuffisances.

Permettez-nous ici, Professeur, de vous réitérer nos sincères remerciements.

A notre Maître et Juge M. Yalacé Yamba KABORET, Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar.

C'est un honneur et un réel plaisir que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Votre simplicité, votre disponibilité, votre générosité et votre qualité scientifique sont pour nous un exemple.

Soyez assuré de notre admiration, hommages respectueux.

A notre Maître, Juge et Co-directeur, de thèse M. Alain LE FAOU, Professeur, à la faculté de Médecine de Nancy et Directeur de l'Institut Pasteur de Bangui.

Vous nous avez accueilli avec bienveillance, initié ce travail et vous nous avez guidé tout le long de sa réalisation. Vos qualités humaines, vos connaissances scientifiques et votre disponibilité nous ont profondément marquées.

Veillez croire à l'assurance de notre profonde reconnaissance

« Par délibération, la faculté et l'école ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leurs sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation ».

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique
ADNc : ADN complémentaire
AMV : Avian Myeloblastosis Virus (virus de la myéloblastose aviaire)
ANDE : Agence Nationale de Développement d'Élevage (Centrafrique)
ARN : acide ribonucléique
ARNm : ARN messenger
BHK : Baby Hamster Kidney (cellules de rein de jeune hamster)
CNR : Centre National de référence
CPTR : Centre de Prévention et de Traitement pour la rage
CVS : Challenge Virus Standard
dNTP : déoxynucléotide triphosphate
DTT : Dithiothreitol
EDS: Eau distillée Stérilisée
ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
ERA: Evelyn-Rokitnicki-Abelseth.
G: glycoprotéine
HDCV: Human Diploid Cell Culture Vaccine
HEP: High Egg Passage
ID: Intra Dermique
IGR: Immunoglobuline Rabique
IF: Immuno-Fluorescence
IFD: Immuno-Fluorescence Directe
IM: Intra Musculaire
IPB : Institut Pasteur de Bangui
KDa: kiloDalton
L : Protéine de l'ARN polymérase
LCR : Liquide Céphalo-Rachien
M : protéine de matrice
ML : maximum likelihood (maximum vraisemblance)
MMLV : Moloney Murine Leukemia Virus (virus leucémique murin de Moloney)

MP : Pitman-Moore
MRC : Maladie Réputée Contagieuse
N : nucléoprotéine
NJ : Neighbor-Joining (plus proche voisin)
Nm : nanomètre
nt : nucléotide
OIE : Organisation Mondiale de la Santé Animale
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
P : phosphoprotéine
Pb : paire de bases
PCR : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne)
PM : poids moléculaire
PV : Virus Pasteur
PVD : Pays en Voie de Développement
RCA : République Centrafricaine
RDC : République Démocratique du Congo
RT-PCR : Reverse transcriptase - polymerase chain reaction (transcription inverse et réaction de polymérisation en chaîne)
SAD: Street Alabama Dufferin
SAG : Street Alabama Gif
SNC : Système Nerveux Central
TAE : tampon Tris-acide acétique-EDTA
T CD4+ : lymphocyte T auxiliaire (helper) exprimant la protéine de surface CD4
Tris : Tris (hydroxyméthyl) aminométhane
UV : lumière ultraviolet
VSV : Virus de la Stomatite Vésiculeuse
Ψ : pseudogène

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte de la République Centrafricaine (RCA).....	1
Figure 2 : Carte de la ville de la Bangui	1
Figure 3 : Organisation du génome des Rhabdovirus	1
Figure 4 : Mode d'action de la polymérase	1
Figure 5 : Physiopathologie de la rage	1
Figure 6 : Interaction entre les 3 types de cycles épidémiologiques : rage canine, rage selvatique et rage des chiroptères.	1
Figure 7 : Distribution géographique des lignées Afrique 1, 2 et 3 de Lyssavirus du génotype 1 en Afrique.....	1
Figure 8 : Répartition géographique des isolats rabiques des lignées Afrique 2	1
Figure 9 : Electrophorègramme des amplicons après purification du segment du gène L des virus rabiques isolés à Bangui.....	59
Figure 10 : Méthode d'alignement des séquences partielles de nucléotides du gène L : Séquences des souches de Bangui et celles de souches de références.....	62
Figure 11 : Distribution des espèces suspectées de rage	1
Figure 12 : Distribution des prélèvements humains.....	1
Figure 13 : Distribution des positifs selon les espèces	1
Figure 14 : Distribution des animaux selon le sexe	1
Figure 15 : Répartition des cas de rage en 2006 à Bangui.....	68
Figure 16 : Répartition des de rage en 2007 à Bangui	69
Figure 17 : Répartition des cas de rage en 2008 à Bangui.....	70
Figure 18 : Variation de nombre de personnes consultées et vaccinées, et du nombre des animaux positifs pour la rage de 2006 à 2008.....	72
Figure 19 : Comparaison des séquences nucléiques de la souche BG1907 après inversion de la séquence antisens	1
Figure 20 : Comparaison de la séquence partielle de BG1907 à celle de la souche de réferecne.....	1
Figure 21: Alignement de séquences de nucléotides partielles du gène L des souches rabiques isolées à Bangui et de la souche PV.....	77

Figure 22: Alignement des séquences partielles de nucléotides du gène L de virus rabiques isolés à Bangui et de celles des souches de référence.....	81
Figure 23 : Arbre phylogénétique non enraciné.....	1
Figure 24 : Arbre phylogénétique radiale.....	1

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Structure du virus de la rage.....	17
Tableau II : Signes cliniques de 20 cas de rage humaine	30
Tableau III : Différents amorces utilisées.....	53
Tableau IV : Résultat global IFD de2006 à 2008	65
Tableau V : Résultat global de la RT-PCR de 2006 à 2008.....	73
Tableau VI : Homologie des séquences de nucléotides du gène L des virus rabiques isolés à Bangui.....	79

LISTE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE, LES RAGES ANIMALE ET HUMAINE	1
CHAPITRE I : DONNEES GENERALES SUR LA REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE ET LA VILLE DE BANGUI	1
I - LA REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE	5
II - LA VILLE DE BANGUI	6
II.1- CARACTERES DE L'URBANISATION	7
II.1.1 - Le centre ville.....	7
II.1.2 - Les lotissements	7
II.1.3 - Les zones de constructions traditionnelles	7
II.2 - RELIEF, CLIMAT ET POPULATION	8
II.2.1 - Relief.....	8
II.2.2 - Climat.....	8
II.2.3 - Population et milieu humain	8
CHAPITRE II : LES CARNIVORES DOMESTIQUES A BANGUI	1
I - LE CHIEN	10
I.1- MODE DE VIE DU CHIEN.....	10
I.2 - ROLE ET UTILISATION DU CHIEN	10
I.2.1- Le chien de garde	10
I.2.2 - Chien animal de compagnie	11
I.2.3 - Le chien, animal éboueur.....	11
I.2.4 - Chien, source de revenu	11
I.3 - CATEGORIE DE CHIENS	11
I.3.1 - Chien domestique	11
I.3.2 - Le chien errant occasionnel	12

I.3.3 - Le chien errant permanent.....	12
I.4 - CONSEQUENCE DE LA PRESENCE DU CHIEN DANS LA SOCIETE BANGUISOISE	12
II - LE CHAT.....	12
III - LES AUTRES ESPECES.....	13
CHAPITRE III : RAPPEL SUR LA RAGE.....	1
I - DEFINITION.....	14
II - SYNONYMIE.....	14
III - HISTORIQUE.....	14
IV - ESPECES AFFECTEES.....	15
V - IMPORTANCE DE LA RAGE.....	15
VI - VIROLOGIE.....	15
VI.1 - TAXONOMIE ET LES SOUCHES DE VIRUS RABIQUE.....	15
VI.1.1 - Taxonomie.....	15
VI.1.2 - Les souches de virus rabique.....	16
VI.2 - MORPHOLOGIE ET STRUCTURE	17
VI.2.1 - Morphologie.....	17
VI.2.2 - Structure.....	17
IV.3 - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET RESISTANCE	18
VI.4 - L'ARN GENOMIQUE	18
VI.4.1 - Organisation du génome	18
VI.4.2 - Les régions codantes	19
VI.4.2.1 - L'ARN leader.....	19
VI.4.2.2 - Les gènes de structure et leur ARNm	19
VI.4.3 - Les régions non codantes	20
VI.4.3.1 - Les signaux génomiques externes.....	20
VI.4.3.2 - Les régions intergéniques	20
VI.5 - LES PROTEINES VIRALES	21
VI.5.1 - La protéine N ou nucléoprotéine.....	21
VI.5.2 - La protéine P ou phosphoprotéine.....	21
VI.5.3 - La protéine M ou protéine de matrice	22
VI.5.4 - La protéine G ou glycoprotéine.....	22

VI.5.5 - La protéine L ou ARN polymérase.....	23
VI.6 - CULTURE CELLULAIRE	24
VI.7 - PROPRIETES BIOLOGIQUES	25
VI.7.1- Pouvoir pathogène	25
VI.7.2 - Pouvoir antigène.....	25
VI.7.3 - Pouvoir immunogène.....	25
VII - PHYSIOPATHOLOGIE.....	26
VII.1 - ENTREE DU VIRUS DANS L'ORGANISME	26
VII.2 - TRANSPORT JUSQU'AU SYSTEME NERVEUX CENTRAL	27
VII.3 - MULTIPLICATION INTRACEREBRALE.....	27
VII.4 - DISSEMINATION PERIPHERIQUE	27
VIII - SYMPTOMES	28
VIII.1 - CHEZ LE CHIEN	28
VIII.1.1 - La rage furieuse.....	29
VIII.1.2 - La rage paralytique ou mue	29
VIII.2 - CHEZ LE CHAT	29
VIII.3 - CHEZ L'HOMME	30
IX - LESIONS	31
IX.1 - LESIONS MACROSCOPIQUES	31
IX.2 - LESIONS MICROSCOPIQUES	31
IX.2.1 - Lésions microscopiques non spécifiques	31
IX.3.1 - Lésions microscopiques spécifiques	32
X - EPIDEMIOLOGIE	32
X.1. LES CYCLES NATURELS DE LA RAGE.....	32
X.1.1 - La rage urbaine	32
X.1.2 - La rage sauvage (selvatique)	33
X.1.3 - La rage des chéiroptères.....	33
X.2 - SITUATION DE LA RAGE DANS LE MONDE	35
X.3 - SITUATION DE LA RAGE EN AFRIQUE	35
X.3.1 - Epidémiologie classique	35
X.3.2 - Epidémiologie moléculaire.....	36

XI - DIAGNOSTIC	39
XI.1. CHEZ L'ANIMAL	39
XI.1.1 - Eléments épidémiologiques.....	39
XI.1.2 - Eléments cliniques.....	39
XI.1.3 - Eléments lésionnels.....	39
XI.1.4 - Diagnostic différentiel	39
XI.1.5 - Diagnostic biologique	40
XI.1.5.1 - Les prélèvements	40
XI.1.5.2 - Les techniques	40
XI.2 - CHEZ L'HOMME	42
XI.2.1 - Données épidémiologiques	42
XI.2.2 - Données cliniques	42
XI.2.3 - Diagnostic biologique	42
XI.2.3.1 - Les prélèvements humains	42
XII - TRAITEMENT	42
XII.1 - TRAITEMENT DE LA RAGE DECLAREE	42
XII.2 - TRAITEMENT POST EXPOSITION	43
XIII - PREVENTION.....	43
XIII.1 - CHEZ L'ANIMAL	43
XIII.1.1 - Prophylaxie sanitaire	43
XIII.1.1.1 - Mesures défensives	43
XIII.1.1.2 - Mesures offensives	43
XIII.1.2 - Prophylaxie médicale	45
XIII.1.3 - Prophylaxie médico-sanitaire.....	46
XIII.2 - CHEZ L'HOMME	46
DEUXIEME PARTIE : EPIDEMIOLOGIE DE LA RAGE ET ASPECTS MOLECULAIRES DU VIRUS RABIQUE A BANGUI AU COURS DE LA PERIODE DE 2006 A 2008	1
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES.....	1
I - LIEU ET PERIODE D'ETUDE.....	50
II - MATERIEL	50

II.1- MATERIEL BIOLOGIQUE	50
II.2 - MATERIEL DE LABORATOIRE	51
III - METHODES	53
III.1 - COLLECTE DES INFORMATIONS	53
III.2 - L'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE	53
III.3 - TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE	54
III.3.1 - Préparation des échantillons et règles de laboratoire	54
III.3.2 - L'extraction d'ARN viral.....	55
III.3.3 - Réaction de polymérisation en chaîne	56
III.3.3.1 - Synthèse de l'ADNc ou la RT	56
III.3.3.2 - Réaction PCR.....	56
III.3.3.3 - Détection de l'amplicon.....	57
III.3.3.4 - Purification du produit PCR	58
III.3.3.5 - Séquençage	59
III.3.3.6 - Alignement des séquences obtenues.....	59
III.3.3.7 - Analyse phylogénétique.....	61
IV - ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS	63
CHAPITRE II : RESULTATS.....	1
I - CARACTERISTIQUES DES PRELEVEMENTS ANALYSES.....	64
II - RESULTATS DE L'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE (IFD) ET DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE (RT-PCR).....	65
II.1 - RESULTAT DE L'IFD.....	65
II.1.1 - Rage animale.....	66
II.1.1.1 - Répartition des résultats selon les prélèvements	66
II.1.1.2 - Variation selon l'espèce.....	66
II.1.1.3 - Variation selon le sexe.....	67
II.1.1.4 - Répartition spatio-temporelle de la rage animale à Bangui	67
II.1.1.5 - Etude de la faune sauvage de la ville de Bangui	71
II.1.2 - Rage humaine.....	71
II.1.2.1 - Répartition des prélèvements selon les résultats	71
II.1.2.2 - Conséquences humaines de la rage canine.....	71
II.2 - RESULTATS DE BIOLOGIE MOLECULAIRE	73

II.2.1 - Résultats de RT-PCR	73
II.2.2 - Résultats de séquençage	73
II.2.2.1 - Analyse des séquences des souches isolées.....	73
II.2.2.2 - Analyse phylogénétique des souches de virus rabiques étudiées....	80
CHAPTRE III : DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS.....	1
I - DISCUSSION.....	84
I.1 - LIEU ET PERIODE D'ETUDE.....	84
I.2 - RAGE ANIMALE.....	84
I.3 - RAGE HUMAINE	87
I.4 - BIOLOGIE MOLECULAIRE	88
II - RECOMMANDATIONS.....	91
II.1 - AUX AUTORITES ETATIQUES EN CHARGE DE LA SANTE ANIMALE ET HUMAINE	91
II.2 - AUX AUTORITES DE L'AGENCE NATIONALE DE DEVELOPPEMENT D'ELEVAGE	92
II.3 - AUX SERVICES ADMINISTRATIFS DE GESTION ET DE LA SANTE HUMAINE	92
II.4 - AUX AUTORITES DE LA MUNICIPALITE DE LA VILLE DE BANGUI	93
II.5 - AUX PROPRIETAIRES DES CARNIVORES DOMESTIQUES.....	93
II.6 - COLLABORATION ENTRE LES MEDECINS ET LES VETERINAIRES.....	93
CONCLUSION GENERALE.....	1
BIBLIOGRAPHIE	1
WEBOGRAPHIE	1
ANNEXES	113

INTRODUCTION

La rage, souvent considérée comme une maladie du passé, reste malheureusement d'actualité dans certaines régions du monde. Les premières observations des symptômes de la rage consignées par écrit remontent à l'Antiquité et la première vaccination antirabique a été pratiquée, il y a 124 ans en 1885 par Louis Pasteur [98].

La rage est une zoonose virale à laquelle sont sensibles tous les mammifères à sang chaud. Elle est due à plusieurs virus du Genre *Lyssavirus* appartenant à la Famille des *Rhabdoviridae* qui présente un tropisme important pour les cellules nerveuses [14]. Elle est transmissible accidentellement à l'homme, généralement à la suite d'une morsure ou d'une griffure par un animal excréteur et entraîne presque toujours une mort rapide après le début de la phase clinique. L'incubation peut durer de quelques jours à plusieurs mois chez l'homme [55]. Elle est caractérisée par l'apparition d'un tableau clinique d'encéphalite dont les premiers symptômes, en général peu spécifiques, évoquent une atteinte du système nerveux central et une modification du comportement. Seul l'examen de laboratoire permet de porter un diagnostic de certitude de la rage [14], [32].

Cette pathologie reste un problème sérieux de santé animale et de santé publique dans de nombreux pays du monde et particulièrement dans les pays en voie de développement.

En effet, si la rage régresse dans certains pays Européens du fait de la vaccination orale des renards [21], elle reste endémique dans les pays en développement. L'OMS estime à 55 000 le nombre de décès humains imputables à la rage chaque année dans le monde [119]. En République Centrafricaine, la rage se maintient à un niveau endémique, avec des enzooties à l'allure épizootique dans la ville de Bangui la capitale [11] [47]. Chaque année des cas de rage humaine sont enregistrés [94]. Le principal risque de contamination humaine est représenté par les morsures de chiens domestiques ou errants. Ainsi, au cours de l'année 2004, l'Institut Pasteur de Bangui qui est le Centre National de Référence (CNR) pour la Rage, a examiné 20 cerveaux d'animaux suspects provenant de Bangui et 9 (cerveaux de chiens) ont été diagnostiqués positifs de rage (Immunofluorescence et confirmation par inoculation aux souriceaux nouveau-nés et culture sur cellules) [94]. Au cours de cette même année, 71 personnes ont été mises sous traitement après morsure par un chien

suspect de rage (36 personnes par des chiens connus et 35 autres par des chiens errants) [94]. De plus aucune campagne d'abattage systématique n'est mise en œuvre, depuis plus de 20 ans. A cela, s'ajoute le fait que les virus rabiques circulants à Bangui ne sont pas connus, sur le plan moléculaire. C'est ce qui a motivé le choix de notre travail qui consiste à réaliser une étude de l'épidémiologie de la rage et des aspects moléculaires du virus rabique à Bangui au cours de la période de 2006 à 2008.

Les objectifs de ce travail sont :

- Sur un plan général : Décrire l'épidémiologie de la rage et les aspects moléculaires du virus rabique à Bangui au cours de la période de 2006 à 2008.
- Sur les plans spécifiques :
 - Décrire la rage canine à Bangui de 2006 à 2008
 - Montrer l'impact de la rage canine sur la santé humaine
 - Rechercher les réservoirs sauvages des virus rabiques à Bangui
 - Réaliser une caractérisation moléculaire des souches de virus rabiques (isolats) étudiées par analyse phylogénétique, en les comparants aux souches de référence dont les séquences sont disponibles dans le *GenBank*.

Pour atteindre ces objectifs, nous allons effectuer une étude rétrospective sur 3 ans, de 2006 à 2008. Notre travail va se baser sur l'utilisation des prélèvements des cerveaux reçus et conservés à l'IPB, les données obtenues à partir du cahier de laboratoire de la rage (Centre collaborateur OMS) et le registre de consultation du Centre de Prévention et de Traitement pour la Rage (CPTR) de l'IPB.

Notre travail est subdivisé en deux parties :

- la première est une étude bibliographique sur la RCA, les rages animale et humaine ;
- la deuxième traite de l'épidémiologie de la rage et des aspects moléculaires du virus rabique à Bangui au cours de la période 2006 à 2008.

PREMIERE PARTIE :
**Etude bibliographique sur la
République Centrafricaine, les
rages animale et humaine**

CHAPITRE I : DONNEES GENERALES SUR LA REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE ET LA VILLE DE BANGUI

I - LA REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE

La République Centrafricaine (RCA) est un pays enclavé situé au centre du continent africain. La RCA couvre une superficie de 623 000 km². Elle partage une frontière commune avec la République du Tchad au Nord, La République démocratique du Congo (RDC) et la République du Congo au Sud, la République du Cameroun à l'Ouest et la République du Soudan à l'Est [107].



Figure 1 : Carte de la République Centrafricaine (RCA)

Source : [115]

II - LA VILLE DE BANGUI

Fondée en 1889 sur la rive droite du fleuve Oubangui par l'explorateur français SAVORGNAN DE BRAZZA, la ville de Bangui est située à 4° de latitude Nord et 16° de longitude Est à 380 m d'altitude.

Capitale politique et économique de la RCA, Bangui est le point de convergence de tous les axes de circulation de l'intérieur du pays.

La ville compte actuellement 8 arrondissements avec de nombreux quartiers populaires dont l'extension rapide est à l'origine d'une urbanisation anarchique.

La connaissance des caractéristiques physiques, de peuplement et de l'urbanisation de la ville de Bangui (figure 2) sont indispensables à une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la rage canine.

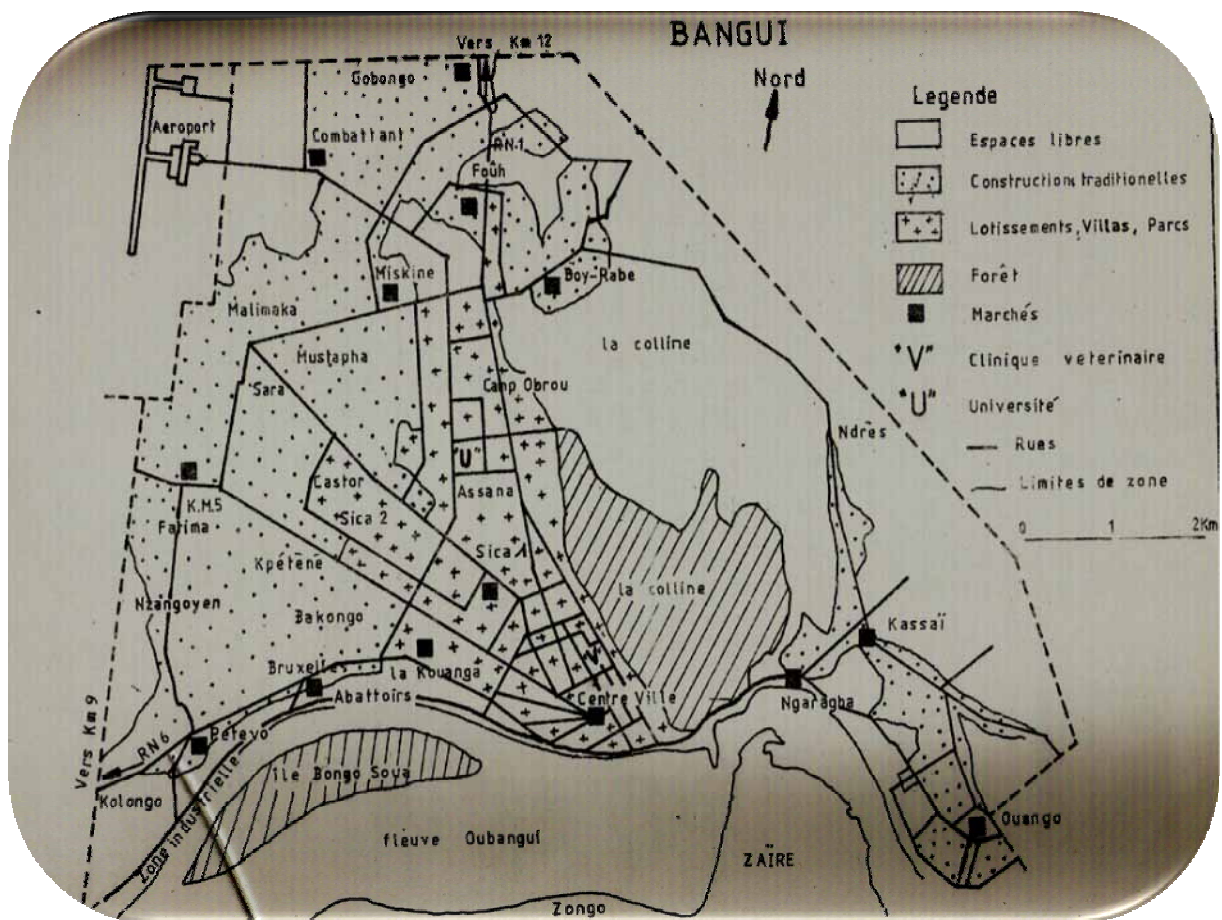


Figure 2 : Carte de la ville de Bangui

Source : [107]

II.1- Caractères de l'urbanisation

La ville de Bangui se compose d'une trentaine de quartiers de taille variable et dont les constructions sont également diverses selon leur localisation. En fonction de l'urbanisation, de l'état des rues et de la construction des maisons, nous distinguerons 3 groupes de quartiers :

- le centre ville
- les lotissements
- les constructions traditionnelles.

II.1.1 - Le centre ville

Le centre ville est installé au bord du fleuve et s'articule autour de la place de la République. Il comprend des villas modernes entourées de clôtures, des immeubles modernes qui abritent des locaux administratifs et des appartements de particuliers.

Les avenues qui rayonnent vers la périphérie regroupent les commerces, hôtels, banques, ambassades, etc. Ces constructions se distinguent nettement des constructions traditionnelles des quartiers alentours. Cette partie de la ville est habitée par des expatriés et des nationaux à revenus élevés. Les chiens divaguent très rarement dans les rues et dans le marché central.

II.1.2 - Les lotissements

Les lotissements sont les plus anciens quartiers viabilisés de la ville, il s'agit de : Lakouaga, Sica, Assana et Castor. Les maisons ont été construites par la classe sociale aisée d'autrefois, décédée ou retraitée aujourd'hui. Les maisons sont de plus en plus délabrées. Les clôtures sont rares ou inefficaces laissant s'échapper les animaux de compagnie qui ne sont presque jamais attachés.

II.1.3 - Les zones de constructions traditionnelles

Les zones de constructions traditionnelles, encore appelée "Kodros", sont des quartiers dont les maisons sont pour la plupart construites en briques de terre argileuse et couvertes de tôles. Elles se rencontrent dans les autres quartiers de la capitale.

Les concessions ne sont jamais clôturées. Certains “Kodros” sont tout simplement des quartiers d’habitations spontanées, possèdent une identité ethnique et conservent, avec leur chef de quartier l’organisation d’un village traditionnel.

II.2 - Relief, climat et population

II.2.1 - Relief

Bangui est une ville située dans une plaine. Elle est dominée par une chaîne de collines de faible altitude dont les plus hautes culminent à 600 m, ce sont les “Kagas”. Elles s’étendent au Nord-est de la ville. Dans la zone Sud la route bordant le fleuve relie l’Est et l’Ouest de la ville en passant au pied de ces collines. Dans les collines se trouvent les carrières, les plus grandes décharges publiques (celle de Boy-Rabe et de Foûh) et des grottes et terriers, refuges des chiens et animaux sauvages comme les chacals, les hyènes, etc.

Le Sud-ouest de Bangui est dans une plaine basse de 370 m d’altitude environ. Par endroit, nous trouvons de grandes surfaces inondées exigeant d’importants travaux de remblaiement avant toute tentative d’urbanisation. La ville présente donc en général un relief monotone, descendant lentement du Nord-est vers le Sud-est et se terminant sur les rives de l’Oubangui.

Bangui apparaît donc comme une petite ville peu peuplée du fait de l’exiguïté de l’espace (entre les collines et le fleuve et la commune de Bimbo), avec des portes d’accès multiples qui permettent la communication, la circulation des animaux et des hommes et la communication avec le reste du pays.

II.2.2 - Climat

Le climat est de type subéquatorial avec, classiquement, une saison des pluies longue de 9 mois de mars à novembre, et une saison sèche de 3 mois de décembre à février.

II.2.3 - Population et milieu humain

La population de la capitale est estimée à 687 634 habitants soit 16.3 % de celle du pays en 2007. En outre Bangui regroupe toutes les couches ethniques du pays

issues d'un fort exode rural. Ces ethnies sont classées globalement en groupes dont les plus importants sont :

- le groupe des Gbaya, ils sont les plus nombreux en RCA et à Bangui. Ils vivent surtout dans le nord de la ville (Gobongo, Foûh, Boy-Rabe) ;
- Le groupe Banda, également important occupe surtout le milieu de la ville constitué par les quartiers Malimaka, Miskine, Moustapha ;
- les groupes des Bantu, des Oubangiens et des Ngbandi localisés au Sud-ouest de la ville et sur les rives du fleuve (Fatima, Kpéténé, Pétévo et Bruxelles)

Avec la migration, on observe la présence d'étrangers, Nigériens, Tchadiens, Sénégalais, etc., la plupart sont musulmans et se consacrent au commerce au quartier du Km 5, le plus populaire de Bangui.

Après avoir pris connaissance de l'architecture et de l'urbanisation de la ville, le chapitre suivant va nous permettre de faire connaissance avec les principaux vecteurs de la maladie que sont les carnivores domestiques impliqués dans la transmission de la rage à l'homme.

CHAPITRE II : LES CARNIVORES DOMESTIQUES A BANGUI

L'enzootie rabique en Afrique tropicale est entretenue par les carnivores domestiques et plus particulièrement par le chien et le chat.

I - LE CHIEN

I.1- Mode de vie du chien

Les chiens à Bangui, sont le plus souvent de race locale, excepté quelques chiens appartenant à des expatriés. C'est une race prolifique malheureusement mal nourrie. Ces chiens sont laissés à eux-mêmes et pour couvrir leurs besoins, ils vont errer sur les dépotoirs et les nombreux marchés de la ville. Les propriétaires les plus gentils leur réservent les déchets de cuisine tels que les parages de viande et les restes de repas [11].

La chienne gestante vit dans un coin de la cour et au moment de la mise-bas, se cherche un nid dans un endroit protégé et pas forcément dans la parcelle des propriétaires. Ces propriétaires négligents n'interviennent en général que pour compter les chiots.

Si les propriétaires s'occupent très peu de leurs chiens, les profits qu'ils en tirent sont cependant nombreux.

I.2 - Rôle et utilisation du chien

Les chiens sont utilisés comme gardien, animal de compagnie, éboueur, source de revenu et animal de boucherie.

I.2.1- Le chien de garde

C'est le chien le plus choyé, il est élevé pour repousser les voleurs qui sont nombreux à Bangui. Il doit être nerveux et méchant. Un tel chien est presque toujours à l'attache le jour et libéré la nuit.

L'observation a montré que le chien toujours attaché et isolé de tout contact extérieur devient agressif contre tout étranger et surtout quand il est libéré.

I.2.2 - Chien animal de compagnie

Le chien de compagnie est libre dans ses mouvements et donc semi-errant. Il est appelé lorsqu'on a besoin de lui. C'est le compagnon de jeux des enfants qui en sont souvent les victimes. Les paysans de la banlieue l'utilisent comme compagnon de champs.

I.2.3 - Le chien, animal éboueur

C'est le chien qui intervient pour manger les débris alimentaires et les restes de repas, mais aussi les déjections des enfants.

I.2.4 - Chien, source de revenu

Nombreux sont les mauvais propriétaires qui n'interviennent que pour compter les chiots après la mise bas et évaluer le profit qu'ils peuvent tirer de la vente de ceux-ci. Huit chiots d'une portée constituent un bon revenu (3000 à 5000 FCFA par chiot) pour le propriétaire surtout lorsque nous savons qu'ils ne lui ont rien coûté.

I.3 - Catégorie de chiens

Dans la population canine en général, nous pouvons distinguer trois sous-populations : le chien domestique, le chien errant occasionnel et le chien errant permanent [1].

I.3.1 - Chien domestique

Le chien vit au domicile de son maître et est bien entretenu (nourri, soigné et vacciné). S'il est méchant, il est en laisse le jour et libéré la nuit. C'est la catégorie la moins dangereuse pour la santé publique sauf dans la mesure où il a des contacts avec les autres chiens errants. A Bangui, cette catégorie appartient aux expatriés et à quelques rares nationaux.

I.3.2 - Le chien errant occasionnel

Le chien errant occasionnel a un domicile fixe et un maître. Mais comme celui-ci ne pourvoit pas à tous ses besoins alimentaires, l'animal est obligé d'aller chercher sa pitance au dehors dans les poubelles ou sur les dépôts d'ordures. Les chiens domestiques peuvent venir grossir pour un temps cette catégorie de chiens errants occasionnels lorsqu'ils sont détachés le soir pour satisfaire leur besoin physiologique à l'extérieur de la maison. C'est la catégorie de chien la plus dangereuse sur le plan zoonotique. C'est la catégorie de chiens de beaucoup de Bangouais.

I.3.3 - Le chien errant permanent

Cette catégorie de chien n'a ni domicile fixe et ni maître. Ce sont des chiens abandonnés, parce qu'improductifs, soit trop vieux pour satisfaire les besoins de leur maître, soit de mauvais présage, ou enfin inaptes à la garde. Il peut s'agir également de descendants de chiens abandonnés. Un chien très malade est souvent écarté de la maison soit parce qu'on ne peut pas lui assurer des soins, soit parce que l'on craint une transmission de maladie aux enfants qui jouent souvent avec eux. Ces chiens errants peuvent être en contact avec les carnivores sauvages (chacal, hyènes...) [1]. C'est la catégorie de chien la plus fréquente à Bangui.

I.4 - Conséquence de la présence du chien dans la société Bangouaise

Si la présence du chien comme gardien du troupeau ou de la maison a un côté bénéfique, certaines attitudes dans son exploitation sont répréhensibles parce qu'elles favorisent soit directement ou indirectement l'entretien voire la diffusion des zoonoses parmi lesquelles la rage.

II - LE CHAT

Le chat est incriminé comme deuxième animal dans la transmission de la rage à l'homme dans notre pays [11]. Le chat est difficilement adopté par rapport au chien à cause de son caractère indépendant et discret. Il est habituellement élevé pour chasser les souris des maisons. Le chat est rarement nourri, car il se contente de ses proies chassées. Mais le nombre de chats dans la ville est peu important d'autant plus que c'est également un animal de boucherie.

III - LES AUTRES ESPECES

Les primates, les bovins, les ovins, les caprins et les porcins et autres animaux sauvages (chacal, genette, mangouste, écureuil ...) peuvent intervenir dans le cycle épidémiologique de la rage [11].

La connaissance des carnivores domestiques à Bangui permet d'aborder l'étude de la rage dans le chapitre suivant.

CHAPITRE III : RAPPEL SUR LA RAGE

I - DEFINITION

La rage est une maladie infectieuse, virulente, inoculée le plus souvent par morsure. Cette maladie commune à l'homme et à la plupart des mammifères est due à un *Rhabdovirus* neurotrope : le virus rabique. Sur le plan clinique, elle est caractérisée, après une longue période d'incubation, par une encéphalomyélite mortelle en règle générale, accompagnée, le plus souvent, de signes d'excitation, d'agressivité ou de paralysie. Sur le plan histologique, la signature de l'infection rabique est constituée par la présence d'inclusions cytoplasmiques acidophiles : les corps de Negri dans les neurones [98]. La rage est une maladie à déclaration obligatoire (MDO).

II - SYNONYMIE

Le terme rage dérive du latin *rabere* : être fou et trouve une appellation dans différentes langues. Ainsi, on a les termes :

- Rabies, en anglais
- Tollwut ou lyssa, en allemand
- Rabia, hidrofobia, en espagnol
- Rabbia, idrofobia, en italien
- Kobéla ti gbogbo linda, en Sango, langue nationale centrafricaine.
- Khath bou doff en Wolof.

III - HISTORIQUE

Dès l'Antiquité, le code babylonien d'Eshmuna (vers 2250) et l'Illiade d'Homère (vers 800) ont décrit les symptômes de la maladie chez le chien et suggéré qu'elle était transmise par morsure. Jusqu'à la fin du XIXe siècle, la cautérisation de la plaie infectée constituait la seule alternative à la mort.

Les premiers progrès dans la compréhension de la maladie sont dus à Zinke en 1804, puis Galtier en 1879, qui parviennent à transmettre la rage à des animaux

sains. En 1881, Pasteur, Roux, Chamberland et Thuillier montrent que le système nerveux est le principal site de réplication du virus. Enfin, en 1885, Pasteur met au point le premier vaccin contre la maladie, la première vaccination antirabique chez l'homme. En effet, le vaccin a été administré à un jeune berger alsacien de 9 ans, Joseph MEISTER, mordu cruellement par un chien enragé [98].

IV - ESPECES AFFECTEES

Tous les mammifères, domestiques ou sauvages, y compris les mammifères marins et l'Homme sont réceptifs au virus rabique et peuvent être infectés dans les conditions naturelles [101]. La réglementation centrafricaine considère la rage comme une maladie animale réputée contagieuse (MRC) chez toutes les espèces animales.

V - IMPORTANCE DE LA RAGE

L'importance de la rage est, avant tout, médicale (la rage déclarée évolue vers la mort) et hygiénique : pratiquement tous les cas de rage humaine sont d'origine animale [79].

L'importance de la rage est, également économique, car les pertes en animaux d'élevage peuvent être élevées : plusieurs dizaines de milliers de bovins meurent de rage transmise par les chauves-souris chaque année en Amérique du Sud [119].

Aussi le vétérinaire a un véritable rôle social de protection de la Santé Publique à jouer, puisqu'il a la charge du diagnostic et de la majeure partie de la prophylaxie de cette zoonose majeure [98].

VI - VIROLOGIE

VI.1 - Taxonomie et les souches de virus rabique

VI.1.1 - Taxonomie

Les virus rabiques appartiennent à la famille des *Rhabdoviridae*, et à l'ordre des *Mononégavirales*. Les *Rhabdoviridae* sont présents chez les Vertébrés, les Arthropodes et également chez les Plantes [83].

La famille des *Rhabdovirus* comprend 6 genres dont les *Lyssavirus*, avec le virus rabique, et les *Vesiculovirus*, avec le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV), modèle d'étude des *Rhabdoviridae* [10].

VI.1.2 - Les souches de virus rabique

La détermination de la séquence du gène N a permis de définir 7 génotypes (cf. annexe I, page 113) au sein des *Lyssavirus* [18]. Le génotype 1 comprend toutes les souches de virus rabique. Les autres génotypes (2 à 7) regroupent les virus apparentés véhiculés par les chauves souris.

Une souche de virus rabique qui n'a subi aucun traitement, est appelée "souche naturelle". Il en existe deux sortes :

- les souches "des rues" isolées d'animaux domestiques (canine principalement).
- Les souches "sauvages" isolées d'animaux non domestiques (carnassiers et chiroptères).

Les souches de laboratoire, qui ont des caractères stables, ont subi après isolement, de nombreux passages soit sur cellules, soit sur animal (lapin, souris, œuf embryonné) et sont appelées "souches fixes" [61] [100]. Elles servent aux travaux de recherche et à la fabrication de vaccins [39] (cf. annexe II, page 114). Les souches fixes dérivent de trois isolats de virus rabique principaux [26] :

- La souche Pasteur, isolée d'une vache en 1882, à l'origine des souches CVS (Challenge Virus Standard), PV (Pasteur Virus) et PM (Pitman-Moore),
- Une souche isolée d'un chien en Alabama en 1935 à l'origine des souches SAD (Street Alabama Dufferin) et ERA (Evelyn-Rokitnicki-Abelseth).
- Une souche provenant d'une jeune fille nommée Flury, décédée de la rage en 1939 aux USA, à l'origine des souches Flury LEP (Low Egg Passage) et Flury HEP (High Egg Passage).

VI.2 - Morphologie et structure

VI.2.1 - Morphologie

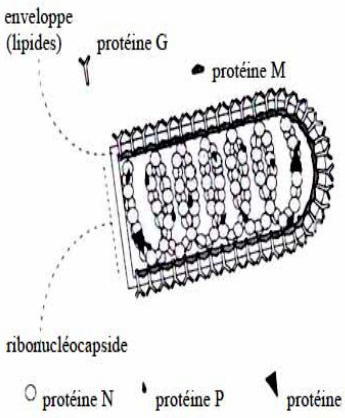
Au microscope électronique en coloration négative, le virus rabique se présente sous la forme d'une balle de fusil. C'est une particule cylindrique, hémisphérique à une extrémité, et plane à l'autre, qui mesure en moyenne 180 nm de long (100 à 300 nm) et 50 nm de diamètre [96]. Sa surface présente des spicules de 9 nm absents à l'extrémité plane de la particule virale [96].

VI.2.2 - Structure

Le virus rabique apparaît constituer de deux parties essentielles sur le plan structural et fonctionnel : la nucléocapside (de nature nucléoprotéique) et l'enveloppe virale (de nature glucido-lipido-protéique).

Précisément, chaque virion est composé d'une molécule d'ARN génomique et de trois protéines de la nucléocapside (N, P et L) et 2 protéines de l'enveloppe (M, G). Les protéines L, N et M ont un PM relativement constant tandis qu'on observe des différences importantes au niveau des protéines G et P. Ces variations de PM apparentes sont associées à différentes modifications post-transcriptionnelles telles que phosphorylation ou glycosylation [99].

Tableau I : Structure du virus de la rage [d'après 13 et 99]



Protéines	Poids moléculaire (KDal)	Poids moléculaire (%)	Moléculaire par virion	Modifications post-transcriptionnelles
L	180	72	20-150	?
G	70 (G II) 65 (G I)		1800	Glycosylation Palmitoylation
N	57		1750	Phosphorylation
P	41 (P II) 38 (P I)		950	Phosphorylation
M	25 (M II) 24 (M I)		1650	Palmitoylation
Génome	4 600	4	1	
Lipides		24		

L : ARN polymérase ARN dépendante ; G : glycoprotéine ; N : nucléoprotéine ; P : phosphoprotéine ; M : protéine de matrice. G existe sous deux formes GI et GII en fonction du niveau de glycosylation. P existe sous deux formes PI et PII en fonction du niveau de phosphorylation. M existe sous deux formes MI et MII en fonction du nombre de ponts disulfures internes.

Le nombre de protéines par virion a aussi été étudié (tableau I, page 17). Il reste sensiblement constant d'une souche à l'autre. Cela suggère que les virus rabiques ont un mode de constitution identique, basé sur des interactions protéines-ARN et protéines-protéines [46].

IV.3 - Propriétés physico-chimiques et résistance

La densité des particules est d'environ $1,2 \text{ g/cm}^3$ en gradient de chlorure de césium et d'environ $1,7 \text{ g/cm}^3$ en gradient de saccharose. Le coefficient de sédimentation est de 600S [5].

Le virus rabique est très fragile dans le milieu extérieur. Il est inactivé en quelques minutes à des pH inférieurs à 4 et supérieurs à 10. Il est rapidement détruit par la chaleur (à 40°C sa demi-vie est d'environ 4 heures). Il reste à l'état infectieux plusieurs jours entre 0 et 4°C et il est stable plusieurs années à -70°C .

La particule virale est détruite par les solvants (éther, chloroforme, éthanol 45%), et les détergents (ammoniums quaternaires). Le virus est inactivé par la beta-propiolactone au $1/4.000^{\text{ème}}$. Il est également sensible aux rayonnements ultraviolets et ionisants.

VI.4 - L'ARN génomique

VI.4.1 - Organisation du génome

L'ARN viral est linéaire, non segmenté, de polarité négative ou non infectieux [96] et composé d'environ 12.000 nucléotides ($4,2$ à $4,6 \mu\text{m}$ de long) [102]. Le génome présente de 3' en 5' :

- un site promoteur
- une séquence (~ 53-58 nt) transcrite, correspondant à l'ARN leader, non codant et correspondant également au signal d'encapsidation et aux séquences intervenant dans le choix entre la production d'ARNm ou d'antigénome [94]. Cet ARN leader, reconnu par la protéine N bloquerait les synthèses protéiques de la cellule hôte.

- 5 gènes viraux (N, P, M, G, L) séparés par des séquences intergéniques de taille variable (2 à 24 nucléotides) [117]. Ces régions intergéniques, variables en taille et en séquence, jouent un rôle dans la régulation de la transcription. Le segment séparant les gènes G et L est plus long et possède des codons AUG et UGA mais ne code pas de protéine : ce pseudogène Ψ n'a pas de fonction connue [99].
- une séquence non codante terminale.

Ces gènes sont bordés par deux séquences d'environ 10 nucléotides servant de signaux de début et de fin de transcription séparées par une séquence intergénique non codante de taille variable (2 à 24 nucléotides).

VI.4.2 - Les régions codantes

La transcription produit séquentiellement un ARN "leader" non codant et 5 ARN messagers codant les protéines virales.

VI.4.2.1 - L'ARN leader

L'ARN leader est un ARN court (55 à 58 nucléotides), transcrit à l'extrémité 3' du génome, qui n'est pas traduit en peptide et dont le rôle exact n'est pas connu. Chez le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV), modèle d'étude et proche du virus rabique, il intervient dans les événements majeurs de réplication/transcription, d'encapsidation et il inhibe les synthèses protéiques de la cellule hôte [80], [101].

Cette région leader à l'extrémité 3' du génome est très importante sur le plan fonctionnel puisque c'est là qu'intervient le complexe ARN polymérase et que débutent les phénomènes de transcription et réplication. C'est encore là que se situent les signaux nécessaires au choix entre la production d'ARNm ou d'antigénome [101].

VI.4.2.2 - Les gènes de structure et leur ARNm

Chaque gène commence par une séquence de 9 nucléotides conservés et se termine par une autre séquence de 9 nucléotides qui constituent les signaux génomiques de début (start) et de fin de transcription respectivement [102].

Ces séquences sont stables et identiques pour l'ensemble des *Lyssavirus*. Le signal de début de transcription se présente sous la forme de la séquence [AACAA...CT] et le signal d'arrêt sous la forme de la séquence [UGA 7U] ou [AGA 7U] sur l'ARNm [18], [102].

VI.4.3 - Les régions non codantes

VI.4.3.1 - Les signaux génomiques externes

Les extrémités du génome portent les signaux nécessaires au démarrage de transcription et à l'intervention de l'ARN polymérase en 3' du génome ou de l'antigénome avec en plus le signal d'encapsulation en 5'. Il existerait en 3' du brin (-) un signal supplémentaire nécessaire pour le choix entre la production des ARNm et de l'antigénome.

VI.4.3.2 - Les régions intergéniques

Les régions non-codantes délimitées par les séquences de début et de fin de transcription sont réduites chez le VSV aux dinucléotides GA ou CA. Alors que, chez les *Lyssavirus*, elles sont variables en taille et en composition d'une région à l'autre et d'une souche à l'autre. Ces régions jouent un rôle dans la régulation de la transcription.

Pour les gènes M et G, il existe chez certaines souches comme PV, deux signaux de fin de transcription qui selon leur lecture entraîne une terminaison alternative de la transcription avec une production de deux ARNm et de taille différente [102].

Tous ces mécanismes permettent une optimisation de la transcription du génome rabique afin de produire les différentes protéines en quantité proportionnelle à leur besoin (il faut beaucoup de N mais peu de L) [99].

- **Le segment ou la région intergénique G---L : le pseudogène Ψ**

Le segment G---L est flanqué de séquences qui correspondraient à des signaux de début et de fin de transcription. Il possède des codons AUG et UGA qui délimitent, sur les gènes, une zone de traduction protéique [102]. Le rôle reste inconnu.

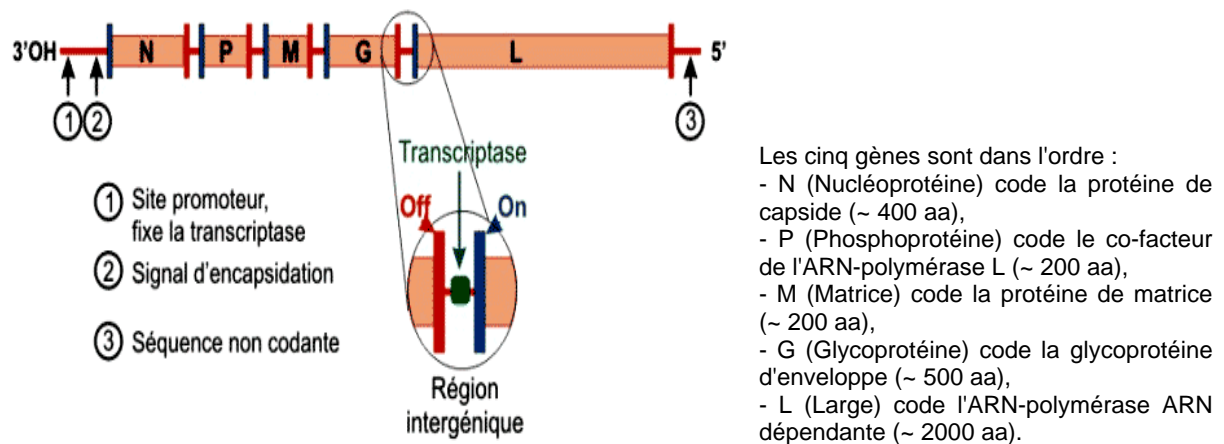


Figure 3 : Organisation du génome des *Rhabdovirus*

Source : [117]

VI.5 - Les protéines virales

VI.5.1 - La protéine N ou nucléoprotéine

C'est une protéine phosphorylée, longue de 450 acides aminés, associée à l'ARN génomique et formant avec lui la nucléocapside. Les séquences d'acides aminés sont très proches d'une souche à l'autre [31] : 98% de similitude entre la nucléoprotéine des souches ERA et CVS-11 et 99% entre la nucléoprotéine des souches PV et ERA [103]. Ces séquences sont également conservées pour des souches éloignées : 77 % d'homologie entre souches fixes (PV, ERA, CVS-11) et Mokola [18]. La nucléoprotéine joue un rôle structural en assurant, au brin d'ARN, une protection contre les ribonucléases et en le maintenant dans une configuration favorable aux phénomènes de transcription/réplication [99]. Elle est également impliquée dans le choix entre transcription et réplication.

Outre son rôle immunogène et structural, la nucléoprotéine pourrait intervenir dans la régulation de la multiplication virale [99].

VI.5.2 - La protéine P ou phosphoprotéine

C'est une protéine phosphorylée, de 297 acides aminés (303 acides aminés pour le virus Mokola) dont le rôle est mal connu [18]. Elle est très hydrophile surtout dans sa partie centrale et N^o terminale [114] avec de nombreux résidus de sérine et

thréonine, sites potentiels de phosphorylation [101]. Elle existe sous deux formes de phosphorylation inégale (HEP, CVS, PM) [29]. Sa séquence est bien conservée. Deux segments aux extrémités conservées (positions 1-50 et 201-245) seraient impliqués dans les interactions avec la nucléoprotéine d'une part et avec la protéine L, d'autre part en ce qui concerne l'extrémité N terminale [70].

La protéine P favorise la fixation de la polymérase sur son site promoteur en 3', elle maintient également la protéine N dans une conformation compatible avec l'encapsidation en évitant son agrégation lorsque sa concentration cellulaire augmente [10].

VI.5.3 - La protéine M ou protéine de matrice

Longue de 202 acides aminés, c'est la plus petite des 5 protéines virales. Elle participe à la morphogénèse virale par ses interactions avec les autres protéines virales. Sa position dans le virion reste incertaine. Longtemps considérée comme protéine de matrice localisée sur la face interne de l'enveloppe virale [38], de récentes études, réalisées sur le VSV, montrent qu'elle occuperait plutôt une position centrale et que la ribonucléoprotéine s'enroulerait autour d'elle et qu'elle ne serait en contact avec la membrane virale qu'aux extrémités du cylindre [8].

La protéine M inhibe les synthèses ARN, favorise l'enroulement de la nucléoprotéine et prépare le bourgeonnement des particules virales en regroupant les protéines G dans les structures membranaires cellulaires [100], étapes fondamentales avant la libération du virus hors de la cellule infectée. Les séquences de la protéine M sont peu conservées.

VI.5.4 - La protéine G ou glycoprotéine

C'est une protéine glycosylée, transmembranaire, longue de 505 acides aminés dans sa forme mature. A la surface du virion, elle se présente sous forme de spicules arrangés en trimères, [37]. Son rôle est fondamental dans l'établissement de l'immunité antirabique humorale et cellulaire. Elle est le seul antigène capable d'induire la production d'anticorps neutralisants [109]. Elle induit aussi des réponses cellulaires T helper et cytotoxiques [56]. Elle intervient dans le cycle infectieux du

virus rabique en se fixant sur les récepteurs de la membrane cellulaire hôte [76]. C'est la seule protéine qui soit synthétisée sur le réticulum endoplasmique.

VI.5.5 - La protéine L ou ARN polymérase

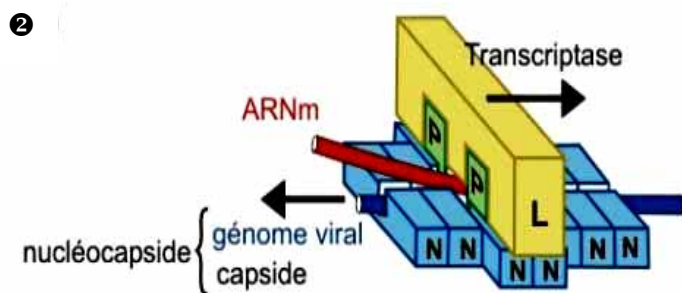
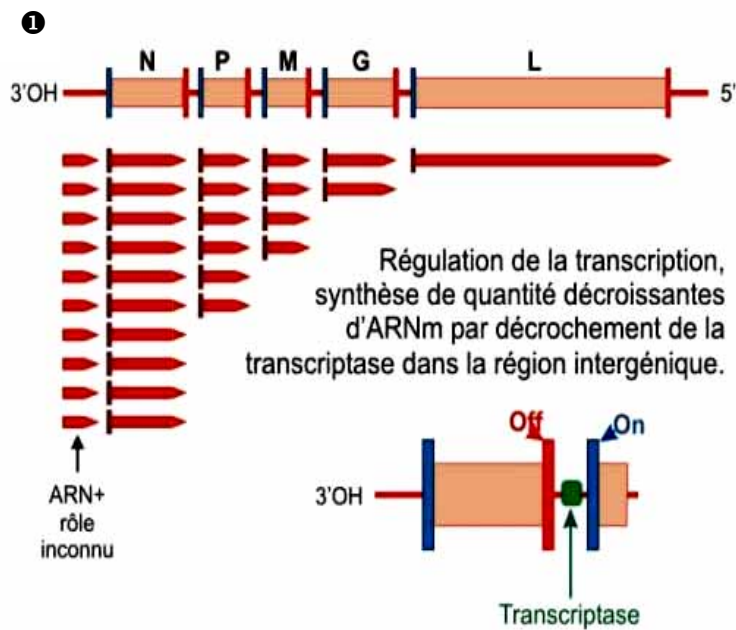
L'ARN-polymérase est une protéine de 2142 acides aminés chez le virus rabique (la souche PV) [103], son gène représente ainsi 60% du génome viral de l'extrémité 5' [103] et de 2127 acides aminés pour la souche SAD-B19 [29].

La protéine L se caractérise par un degré d'homologie significatif, supérieur aux autres protéines isofonctionnelles, en particulier la protéine N. La plus forte homologie est observée avec le VSV pour lequel 1/3 des acides aminés sont conservés et jusqu'à 85% de similitudes sont enregistrées, si les substitutions homologues sont prises en compte [103].

La protéine L est une sous-unité du complexe enzymatique formant la polymérase virale. Elle intervient avec la phosphoprotéine qui possède un rôle régulateur. Son niveau d'activité, dépend de facteurs tels que les rapports L/P et L/N dans la cellule infectée [113].

Associée à son cofacteur, la phosphoprotéine P, la protéine L assume à la fois les activités de transcription et de réplication du génome viral, en utilisant exclusivement l'ARN complexé à la nucléoprotéine comme matrice. La transcription des gènes viraux démarre à l'extrémité 3' du génome [15]. Un ARN leader, non codant, est synthétisé, puis 5 ARN messagers sont produits. A chaque séquence intergénique, l'ARN messenger synthétisé se détache du complexe transcriptionnel. Ce complexe peut alors démarrer la transcription du gène suivant, ou bien se détacher du génome viral et redémarrer la transcription à l'extrémité 3'. En raison de ce mécanisme, les ARN messagers codant pour les protéines virales successives sont synthétisés en quantité décroissante. Les séquences intergéniques, en favorisant ou non le décrochage du complexe transcriptionnel, permettent de moduler la quantité d'ARN messagers synthétisés.

La polymérase L possède également des activités de méthyltransférase et de polyadénylase. La coiffe et la polyadénylation permettent une traduction efficace des ARN messagers viraux.



Le génome reste encapsidé :
sous l'action de P, les protéines de capsid N
s'écartent au passage de la transcriptase

① Transcription des ARNm ; ② Détail du fonctionnement de la transcriptase ; N = nucléoprotéine ; P = phosphoprotéine ; L = protéine large ou ARN polymérase

Figure 4 : Mode d'action de la polymérase

Source : [117]

VI.6 - Culture cellulaire

Le virus rabique peut être cultivé *in vivo* par inoculation par voie intracérébrale aux animaux adultes ou nouveaux nés, *in ovo* par inoculation à l'œuf embryonné de poule ou de canne, et *in vitro* sur culture cellulaire [54].

Les neuroblastomes murins, en culture cellulaire sont très sensibles à l'infection rabique par rapport à d'autres systèmes cellulaires (BHK-21), quel que soit le type viral fixe ou sauvage [6], [7], [80], [104]. La diffusion de l'infection y est meilleure et la production virale importante.

Lorsque des cultures de cellules dissociées de tissus nerveux (embryons de rats ou de souris sont utilisées, on constate que 90 % des neurones, 24 heures après le début de l'infection, présentent l'antigène rabique contre seulement 1 à 10 % des cellules non neuronales, comme les cellules gliales [7], [53], [54], [105].

VI.7 - Propriétés biologiques

VI.7.1- Pouvoir pathogène

Le virus rabique possède un neurotropisme marqué. Il est présent préférentiellement dans certaines zones du système nerveux comme les cornes d'Ammon. Sa virulence dépend du nombre de virions inoculés mais aussi de la souche.

VI.7.2 - Pouvoir antigène

Des techniques affinées (anticorps monoclonaux produits en cultures cellulaires), ont permis de mettre en évidence des différences entre les souches de virus rabique [110], [111], [9].

En pratique, deux antigènes majeurs du virus rabique sont importants :

- la protéine de la nucléocapside (antigène interne) avec une spécificité antigénique commune aux *Lyssavirus* ;
- la glycoprotéine de l'enveloppe (antigène externe) est la seule structure qui induit la synthèse d'anticorps neutralisants. Tous les virus rabiques possèdent la même spécificité antigénique (réactions croisées complètes en séroneutralisation) qui diffère de celle des autres *Lyssavirus*.

VI.7.3 - Pouvoir immunogène

Lors de l'infection naturelle, pendant toute la phase d'incubation, le système immunitaire n'est pas stimulé et les taux d'anticorps, très faibles au début des symptômes, deviennent importants beaucoup trop tard, en général peu de temps avant la mort.

La réponse immunitaire vaccinale est très efficace et reste la base des traitements après contamination en l'absence de médicaments antiviraux adéquates. La vaccination par les vaccins antirabiques modernes préparés sur culture cellulaire (HDCV, VERO) procure une réponse immunitaire rapide et hautement protectrice, basée essentiellement sur l'apparition d'anticorps neutralisants dirigés contre la glycoprotéine, à laquelle participent les lymphocytes T CD4+ [79].

L'infection par le virus rabique confère à l'animal : une immunité spécifique à médiation cellulaire et humorale et non spécifique basée sur la production d'interféron [116] :

- L'immunité humorale : l'élément immunogène majeur est la glycoprotéine de l'enveloppe qui induit la synthèse d'anticorps neutralisants. La protéine G induit aussi des réponses cellulaires T helper et cytotoxiques [56], [9].
- L'immunité cellulaire : elle est assurée par des lymphocytes T cytotoxiques qui détruisent les cellules présentatrices de fragments de la protéine G [63]. Les deux protéines N et G interviennent dans l'immunité cellulaire [52].
- L'Interféron : le virus rabique vivant ou inactivé entraîne la production d'interféron γ , par les lymphocytes T, qui a une action inhibitrice sur la réplication virale [102]. Il est par ailleurs sensible à l'action de l'interféron. Il est donc possible de protéger les animaux ou l'Homme par l'injection des substances inductrices d'interféron ou d'interféron homologue [5].

VII - PHYSIOPATHOLOGIE

La physiopathologie est la même quelle que soit l'espèce animale concernée.

VII.1 - Entrée du virus dans l'organisme

La contamination se fait essentiellement par effraction de la peau, le plus souvent par morsure ou griffure, mais le virus peut franchir les muqueuses saines.

Le virus pénètre soit directement dans les terminaisons nerveuses soit se réplique localement dans le muscle strié, pour atteindre secondairement les jonctions neuromusculaires [19]. Au niveau de la synapse neuromusculaire, le virus rabique

se fixe sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine. Cependant, d'autres molécules participent à l'infection comme les glycolipides, les glycoprotéines, les phospholipides et surtout les gangliosides [105], [106].

VII.2 - Transport jusqu'au système nerveux central

Les fibres nerveuses impliquées dans le transport sont soit motrices, soit sensitives. Après pénétration dans le neurone, le virus est transporté jusqu'au péricaryon (lieu de réplication) par le flux axoplasmique rétrograde passif. Le virus utilise la voie neuronale stricte sans jamais emprunter la voie sanguine. Cette phase, cliniquement silencieuse correspond à l'incubation. Plus la pénétration du virus a lieu dans une région richement innervée (les mains chez l'homme), et plus les lésions sont proches du cerveau (tête), plus la durée d'incubation sera courte [23].

VII.3 - Multiplication intracérébrale

Une fois le péricaryon atteint, le virus rabique se multiplie activement dans les neurones. Certaines parties du cerveau sont préférentiellement infectées comme le système limbique (hippocampe, corne d'Amon), ce qui explique les modifications du comportement et l'agressivité des malades [69].

La dissémination du virus en phase avancée de la maladie, dans les différentes structures cérébrales, dépend de la souche virale et de l'espèce hôte [23]. La distribution du virus est plus importante dans le cortex, l'hippocampe et le thalamus chez les carnivores. Chez les herbivores, il se localise plutôt dans l'encéphale postérieur (tronc cérébral et cervelet) [74], ce qui explique les formes paralytiques chez ces animaux.

VII.4 - Dissémination périphérique

Bien avant l'envahissement du cerveau et l'apparition des signes cliniques, le virus diffuse de façon centrifuge dans l'organisme, par le flux axoplasmique antérograde, jusqu'aux glandes salivaires. A ce niveau, le virus se multiplie activement dans les épithéliums des acini pour se retrouver parfois à forte concentration dans la salive [69]. D'autres organes sont infectés plus tardivement comme le pancréas, les surrénales, le cœur mais aussi le derme et la cornée [23].

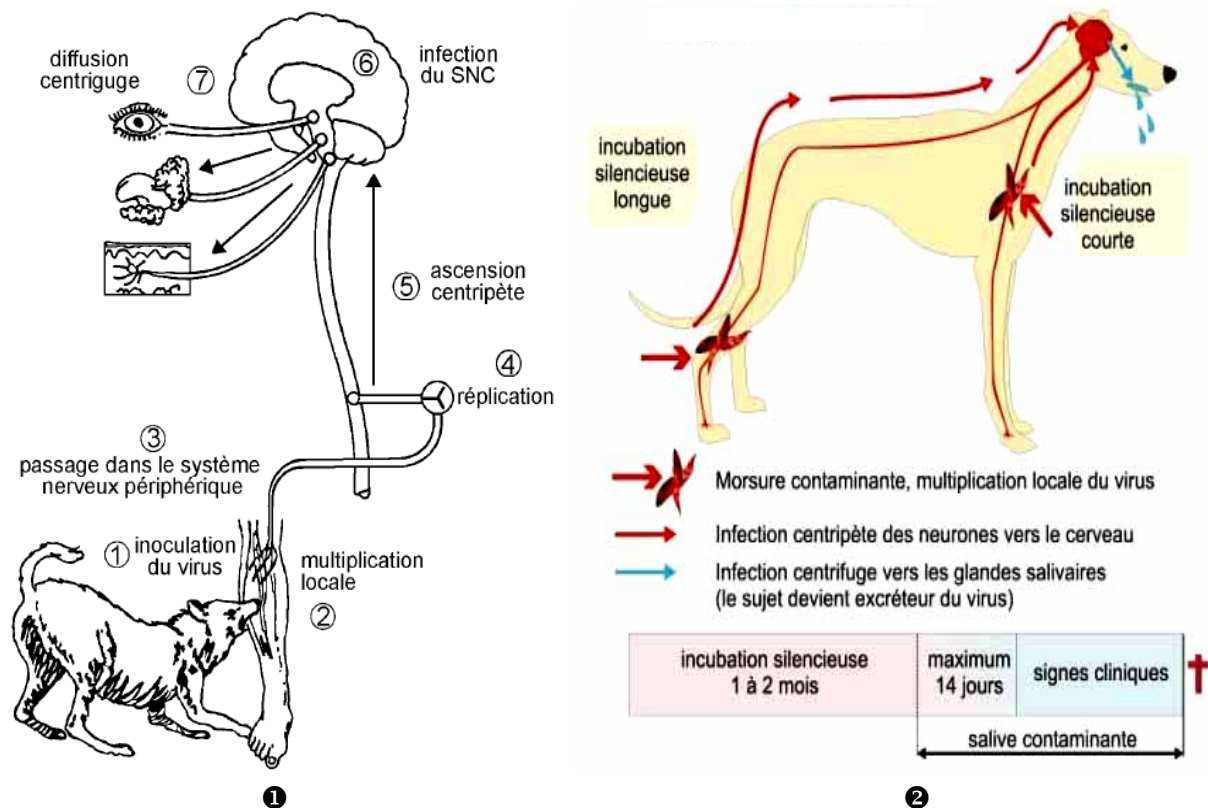


Figure 5 : Physiopathologie de la rage : ❶ chez l'homme ; ❷ chez l'animal

Source : [117], [118]

VIII - SYMPTOMES

Il est classique de distinguer une forme "furieuse" et une forme "paralytique". Cette distinction reste très artificielle puisqu'en fait, "entre ces deux extrêmes qui peuvent se retrouver chez les différentes espèces sensibles, toutes les variantes et toutes les combinaisons sont possibles" [98].

Dans ce sous chapitre, nous n'étudions que les espèces les plus représentées dans l'épidémiologie de la rage canine. Il s'agit du chien lui-même, du chat et de l'homme.

VIII.1 - Chez le chien

Dans nos pays, il y'a deux forme de rage furieuse et la rage paralytique ou mue, avec une prédominance de la première.

VIII.1.1 - La rage furieuse

L'incubation dure 1 à 2 mois. Elle évolue ensuite en 3 phases

- Phase prodromique : les premiers signes de rage consistent en simples modifications dans les habitudes de l'animal. Le chien est inquiet et moins obéissant. Cette phase dure 24 heures
- Phase d'état : il y'a apparition simultanée ou successive de signes psychiques d'agressivité et nerveux. Le chien est agité, inquiet puis brusquement se calme et se couche ; la voie du chien change. Il pousse un hurlement sourd et rauque, à deux tonalités. C'est le "cri rabique" ; l'animal devient ensuite furieux, agressif, mord tout ce qui lui est présenté. Cette agressivité est mise à profit dans le signe du "bâton". Le chien fuit droit devant lui, les yeux hagards, en proie à des troubles psychomoteurs et mord, s'il est empêché dans sa fuite. Le pharynx est paralysé entraînant une déglutition difficile. Le chien bave.
- Phase terminale : la paralysie ascendante débute au train postérieur et conduit vers une mort rapide en 4 ou 5 jours.

VIII.1.2 - La rage paralytique ou mue

Elle est la manifestation d'une infection par paralysie. Mâchoire pend, le chien ne peut ni mordre, ni manger, ni boire, ni crier. Cette forme muette est rare et évolue en 4 jours vers la mort.

En effet, les symptômes sont variés. En zone d'enzootie, tout chien qui présente des signes cliniques douteux qu'on peut rattacher à une maladie connue doit être suspecté de rage.

VIII.2 - Chez le chat

La rage ressemble à celle du chien, mais moins spectaculaire à cause de son caractère discret. En général, le chat se cache et meurt dans un coin. Le chat est cependant, le plus dangereux car occasionne souvent de plaies multiples par morsures et griffures profondes.

Pour mémoire, rappelons qu'il existe des formes "non mortelles" de rage animale, signalées dès 1883 par Pasteur [91] et fréquente chez une population d'hyènes tachetées en Tanzanie (Serengeti) [44].

VIII.3 - Chez l'homme

La maladie débute après une période d'incubation d'une trentaine de jours (variable 10 jours à plusieurs mois). Quelques prodromes précèdent le tableau clinique :

SOW en observant 20 cas de rage humaine a récapitulé entre 1980 et 1987 les symptômes suivants dans le tableau ci-dessous [90].

Tableau II : Signes cliniques de 20 cas de rage humaine [d'après 90]

Signes cliniques	Nombre de cas	Pourcentage
Trouble comportement	20	100
Hydrophobie	20	100
Aérophobie	13	65
Hallucination	10	50
Hypersialorrhée	10	50
Troubles respiratoires	9	45
Angoisse	8	40
Paresthésie	5	25
Troubles auditifs	4	20
Troubles moteurs	1	5

Le tableau II montre qu'il y'a des symptômes constants, trouble de comportement et d'hydrophobie observés dans 100 % des cas. Il y'a ensuite d'autres symptômes importants tels que : aérophobie (65 %), hallucination et hypersialorrhée (50 %), troubles respiratoires (45 %), angoisse (40 %), paresthésie (25 %) et les troubles auditifs (20 %) et moteurs (5 %).

En outre, SOW a noté d'autres signes non moins importants tels que : prurit au point de morsure, céphalée, propos incohérents, délire, dysphagie, fièvre montante, vomissement, agressivité avec tendance à mordre, fureur. L'évolution se fait par un coma hyperthermique et mort par arrêt cardio-respiratoire [32].

Les examens complémentaires ont montré : une hyperthermie constante et qui s'aggrave au cours du temps ; à l'auscultation, râle bronchique ; l'examen montre un liquide contenant des lymphocytes et de l'albumine, mais ceci est inconstant.

Des complications, tardives, peuvent apparaître chez l'homme en cas de prise en charge dans les services de soins intensifs. Il s'agit de diabète insipide, d'arythmies cardiaques, d'une instabilité vasculaire, de syndrome de détresse respiratoire, d'hémorragie digestive, de thrombopénie [32].

IX - LESIONS

IX.1 - Lésions macroscopiques

Les lésions macroscopiques sont des lésions non spécifiques, elles sont représentées par la présence le plus souvent de divers corps étrangers dans l'estomac et l'absence de matières fécales dans les segments postérieurs du tube digestif.

Les lésions de l'encéphale sont des lésions inflammatoires typiques d'une encéphalomyélite virale, inconstantes et parfois frustes, elles dépendent de l'espèce hôte et de la souche virale incriminée. Une congestion des méninges et un léger œdème cérébral sont observés [98].

IX.2 - Lésions microscopiques

IX.2.1 - Lésions microscopiques non spécifiques

Ce sont des lésions d'encéphalomyélite virale, des lésions ganglionnaires, des lésions vasculaires, périvasculaires et cellulaires (accumulation de cellules de la névroglie en foyers : gliose, ou autour des neurones : satellitose ; neuronophagie: destruction des neurones par des macrophages).

Ces lésions non spécifiques peuvent être absentes ou être dues à d'autres virus : virus de la maladie de Carré, de la maladie d'Aujeszky, de la maladie de Borna, etc.

IX.3.1 - Lésions microscopiques spécifiques

Les corps de Negri sont des inclusions éosinophiles intra cytoplasmiques correspondant aux sites de réplication du virus rabique dans le cytoplasme des neurones. Ces inclusions sont colorées en rouge par la technique de Mann (bleu de méthylène ; éosine). Les zones d'élection sont : la corne d'Ammon (assise interne des cellules pyramidales), les cellules pyramidales de l'écorce cérébrale, le cervelet (cellules de Purkinje). Ces inclusions ont une forme ovale ou arrondie, de 0,25 à 30µm sont appelées Corps de Negri et sont spécifiques de la rage. Au microscope électronique, elles sont hétérogènes enfermant des agrégats de virus rabiques [7].

X - EPIDEMIOLOGIE

X.1. Les cycles naturels de la rage

X.1.1 - La rage urbaine

La rage urbaine est encore appelée rage « citadine » ou « canine » ou rage des rues. Le principal vecteur est le chien, en particulier le chien errant, plus rarement le chat et les autres espèces domestiques [1], [83], [86]. Il est aussi le vecteur essentiel de la rage humaine. Les chiens errants sont les intermédiaires entre la rage sauvage et la rage des animaux domestiques [2].

La rage canine est la forme épidémiologique essentielle en Afrique et en Asie. Elle se rencontre également en Amérique du Sud et dans un très petit nombre de pays d'Europe (Turquie) [116]. Elle sévit de façon enzootique. En Afrique, elle s'entretient à l'état endémique avec des enzooties à l'allure épizootique [11], [32]. Au cours d'une année, une forte incidence saisonnière est observée d'octobre à janvier et d'avril à juin, correspondant aux périodes des chaleurs des chiennes, et parfois de décembre à avril, période de saison sèche, favorable à la chasse dans certaines régions [3].

L'enzootie présente des fluctuations en relation avec la biologie du vecteur canin déjà évoqué. Ces recrudescences surviennent entre autre au moment de rut période favorable au rassemblement et à la bagarre des mâles à la suite des femelles en chaleur et à la période annuelle de soudure alimentaire [4].

La rage humaine est consécutive aux morsures du chien mais aussi aux morsures et griffures du chat ; c'est donc dire que la contamination de l'homme vient surtout de la rage citadine dont la fréquence contribue à augmenter celle de la rage humaine. Les autres animaux domestiques : bovins, ovins, caprins, équidés et volailles ne sont que des victimes du chien errant infecté [2]. Ces animaux n'étant pas mordeurs par nature, posent donc un problème hygiénique secondaire. Mais, ils peuvent fortuitement contaminer l'homme par dépôt de la salive virulente sur la peau ou une muqueuse lésée. Ainsi donc, la rage canine est la plus dangereuse pour l'homme sans pour autant épargner les autres animaux domestiques.

X.1.2 - La rage sauvage (selvatique)

Les mammifères terrestres (chacal, hyène, mangouste, ...), peuvent transmettre la rage. La rage sauvage est à l'origine de cas sporadiques humains, sur tous les continents.

Selon les régions du monde considérées, de différents vecteurs sont retrouvés. En général, le rôle de vecteur est tenu par l'espèce locale la plus abondante.

Ces espèces vectrices sont capables de transmettre la maladie au sein de l'espèce et aussi d'en assurer la pérennisation, mais elles contaminent aussi des espèces différentes en particulier des herbivores (Bovin, Ovin, Caprin) et l'Homme, ces derniers, qui ne transmettent pas la maladie à d'autres espèces, constituent des impasses épidémiologiques [2].

X.1.3 - La rage des chéiroptères

La rage des chéiroptères est transmise par de multiples espèces de chauves-souris [62] : les espèces de chéiroptères insectivores sont des vecteurs de rage dans toutes les régions du globe y compris dans les pays indemnes de rage canine tels que les Iles Britanniques et l'Australie.

De multiples espèces de chauves-souris hébergent des *Lyssavirus* [38] (cf. annexe I , page 114). Les chiroptères peuvent excréter le virus dans leur salive pendant de longues périodes, (semaine à plusieurs années) sont des agents de contamination potentiellement redoutables [38], [66]. Les chauves-souris transmettent la rage par contact, griffures, morsures ou parfois aérosols. Les virus infectant spécifiquement les chéiroptères (génotypes 2 à 7) sont différents du virus de rage (génotype 1). Ce dernier est présent chez les chauves-souris hématothages ou vampires (*Desmodus rotundus*) qui en Amérique Latine transmettent la rage au bétail [6], [119].

Les cas de rage dus aux chéiroptères représentent moins de 5% des cas de rage animale répertoriés dans le monde et le faible nombre de cas humains peut être lié à la rareté des contacts mais aussi à une faible infectiosité [66].

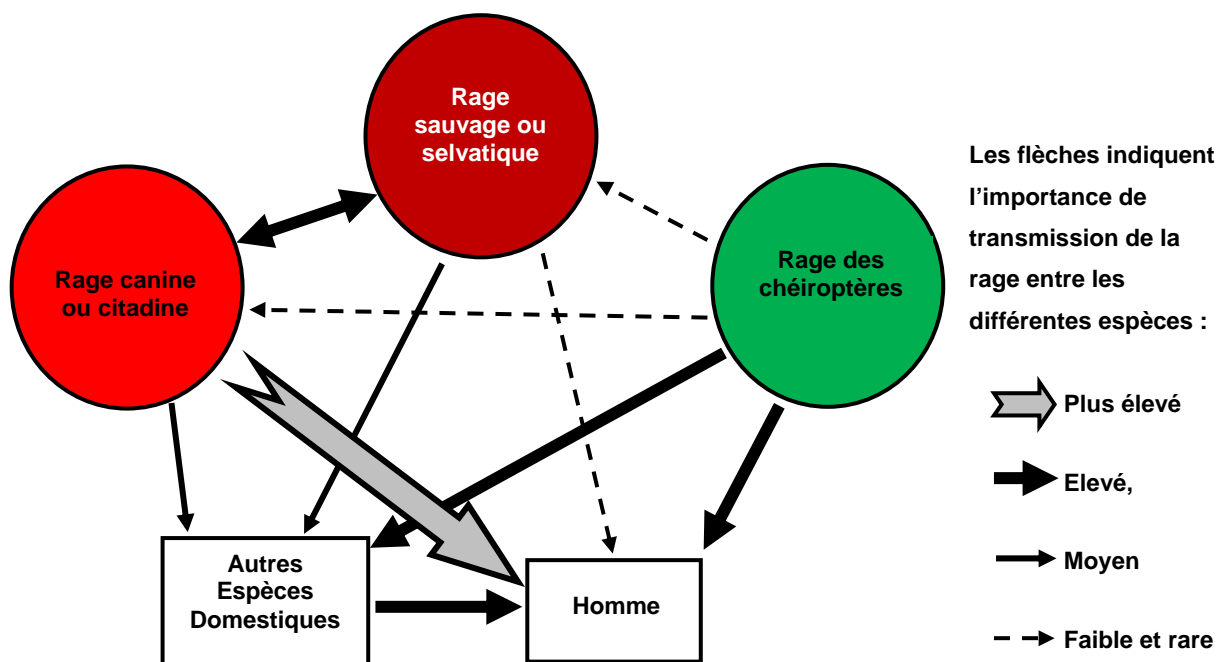


Figure 6 : Interaction entre les 3 types de cycles épidémiologiques : rage canine, rage selvatique et rage des chiroptères.

Source : [2]

X.2 - Situation de la rage dans le monde

Dans plus d'une centaine de pays et de territoires, la rage est enzootique chez l'animal. La rage canine est à l'origine de 99% des cas d'infection humaine et constitue une menace potentielle pour plus de 3,3 milliards de personnes vivant principalement en Asie et en Afrique [119]. Outre le chien domestique, diverses espèces de carnivores sauvages et de chauves-souris peuvent transmettre la rage à l'homme.

Cependant, le nombre de décès humains notifiés à l'OMS, comme étant dus à la rage, est probablement très inférieur à la réalité dans plusieurs pays d'enzootie comme la RCA, notamment chez le jeune enfant.

X.3 - Situation de la rage en Afrique

X.3.1 - Epidémiologie classique

En Afrique, le chien (*Canis familiaris*) est le principal vecteur et réservoir de la rage. Les chiens représentent plus de 75% des animaux enrégés dans la plupart des pays africains [29], [71]. L'Afrique paie un lourd tribut à cette maladie, avec 24 000 cas de décès humains annuels en dépit de la disponibilité de vaccins efficaces [49], [59].

Ces données sont très probablement sous-estimées, dans la mesure où de nombreux cas ne sont pas traités ou rapportés aux autorités sanitaires. De même, 95% des cas de rage humaine ne sont pas rapportés aux autorités sanitaires, et une personne (le plus souvent un enfant vivant en zone rurale) meurt de la rage toutes les 20 minutes [42], [119]. Une étude réalisée par CLEVELAND et *al.*, a montré qu'il existe en Tanzanie 4,9 décès humains chaque année pour 100.000 habitants, 100 fois plus que le nombre officiellement notifiés [27], [28]. Cette étude confirme une fois de plus la sous estimation des cas humains de rage dans les pays africains.

Par ailleurs, plus de 100 cas de rage sont signalés chaque année chez les chiens en Algérie, au Maroc, en Tunisie et en Égypte [28]. Au Maroc par exemple, 446 cas de rage animale et 23 cas de décès humains ont été rapportés en 2002. Alors que 86% des personnes qui sont mortes de la rage entre 1995 à 2001 n'avait pas reçu de traitement post exposition [41].

En effet, tous les cas de rage animale ne sont pas toujours signalés aux vétérinaires par la population dans la plupart des pays africains, à l'exemple du Madagascar [68], [78], du Sénégal [40], [67], du Mali [43], de la Côte d'Ivoire [85], [86], de la Centrafrique [11], [94], du Cameroun [60] et de l'Angola [29].

En Afrique, dans certains pays, le nombre de cas au sein de l'espèce canine est souvent sous-évalué par l'absence du réseau de surveillance épidémiologique et de diagnostic (diagnostic basé sur la clinique uniquement) [17]. Dans ces conditions, la rage de la faune sauvage est souvent ignorée. Certains herbivores sauvages tels que les antilopes (Le koudou en Afrique Australe) sont souvent des victimes de la rage sauvage [64].

Hormis les virus apparentés, la rage des espèces sauvages est une rage des mammifères terrestres. Ces espèces sauvages peuvent varier d'un pays à l'autre. C'est le cas du chacal (*Canis mesomelas*) qui est considéré comme le réservoir sauvage de la rage dans la région de Fatick au Sénégal [73]. La mangouste fauve (*Cynictis penicillata*) est considérée comme le principal vecteur de la rage en Afrique du Sud [108]. Alors que le chien est le principal vecteur de la maladie dans le reste des pays africains. [11], [43], [72].

X.3.2 - Epidémiologie moléculaire

Les analyses phylogénétiques (cf. annexe VII, page 120) ont déterminé l'existence de 7 génotypes de *lyssavirus*. Sur les sept génotypes, quatre génotypes (1, 2, 3 et 4) circulent en Afrique, et le virus rabique transmis par un chien appartient au génotype 1. Les études d'épidémiologie moléculaire de la rage en Afrique [19], [35], [58] ont révélé que 4 lignées de génotype 1 circulent sur le continent.

La lignée "Afrique 1a" inclut des isolats de chiens et de canidés sauvages issus du Gabon, de Madagascar et de nombreux pays situés dans la région nord équatoriale de l'Afrique. La lignée "Afrique 1b", regroupe ceux des pays d'Afrique centrale et du sud. Ces lignées "Afrique 1" sont semblables aux lignées de virus rabiques d'Europe et d'Asie, et ont été regroupés en une plus grande lignée appelée la Lignée Cosmopolite [58], [93]. Cette lignée cosmopolite est retrouvée en Afrique du nord, en Afrique centrale, en Afrique orientale et en Afrique du Sud [19], [58], [71], [93].

Les souches de virus rabiques de la lignée "Afrique 2" sont isolés sur des chiens domestiques répartis dans de nombreux pays localisés entre le tropique du Cancer et l'Equateur, plus particulièrement la Mauritanie, le Sénégal, la Guinée, la Côte-d'Ivoire, le Burkina, le Niger, le Tchad et le Cameroun (figure 7).

En revanche, la lignée "Afrique 3" est spécifique d'une espèce sauvage, la mangouste fauve retrouvée uniquement en République d'Afrique du Sud, de sorte qu'il constitue un cycle épidémiologique distinct de celui du virus rabique du chien [19], [35], [71], [108]. Une nouvelle lignée "Afrique 4" a été récemment identifiée en Egypte [19], [35]. Ces différentes lignées de virus se sont développées indépendamment sur le continent à partir de différents progéniteurs.

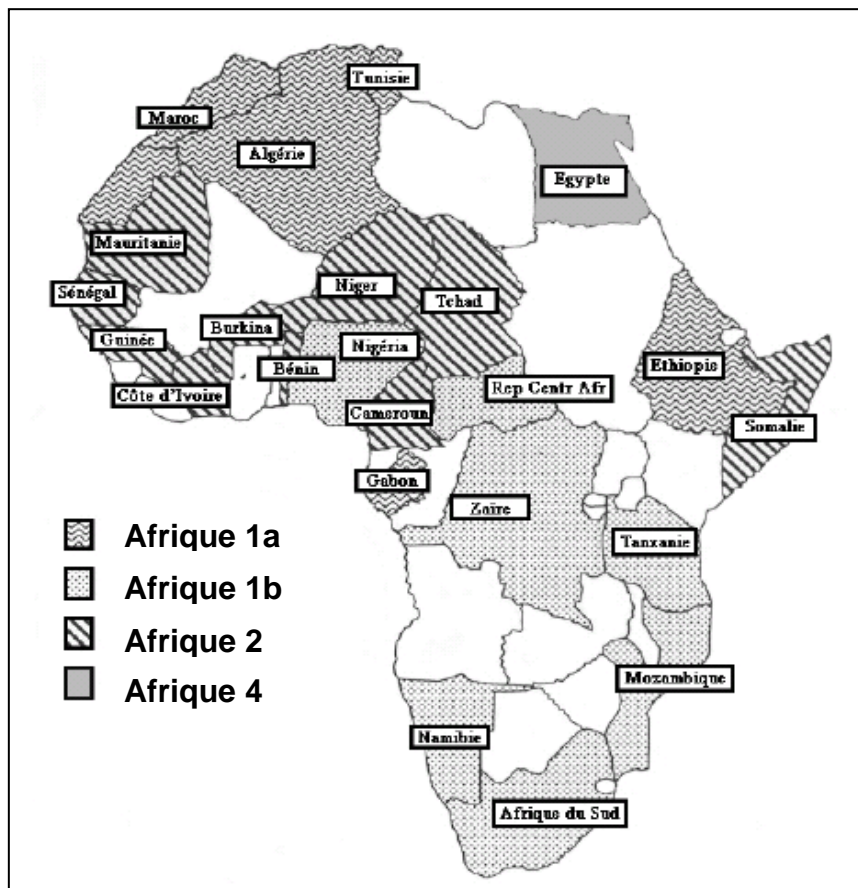
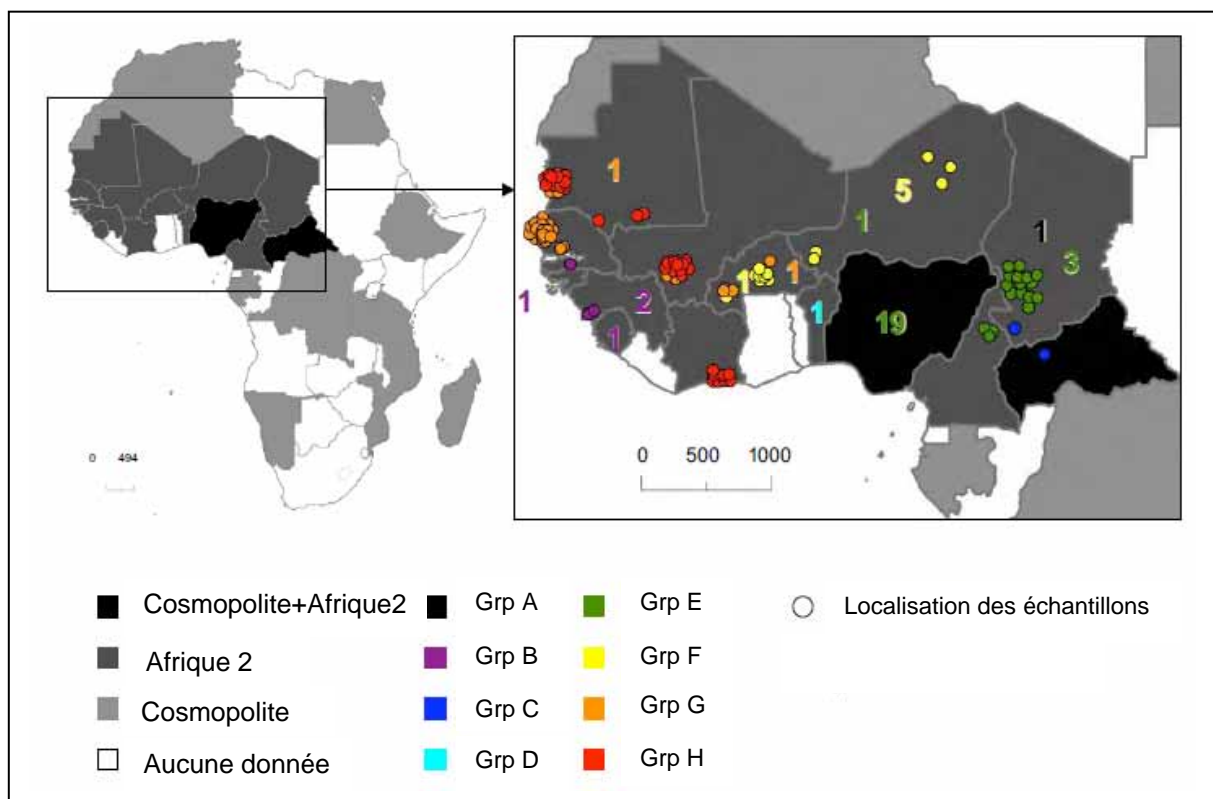


Figure 7 : Distribution géographique des lignées Afrique 1, 2 et 3 de *Lyssavirus* du génotype 1 en Afrique

Source : [19]

Cependant, l'étude moléculaire effectuée par TALBI et *al.*, [95] a montré que les lignées Afrique 2 disposent d'une large distribution en Afrique occidentale et centrale, notamment : Guinée (Groupe B), Sierra Leone (Groupe B), Sénégal (Groupes B et G), Niger (Groupes E et F), Nigeria (Groupe E), Mauritanie (Groupe A), Côte d'Ivoire, Burkina Faso (Groupes F et G), Cameroun (Groupe E), Bénin (Groupe D), Tchad (Groupes C et E), Mali (Groupes G et H) et RCA (Groupe C) [95].

Les lignées Afrique 2 ont une distribution géographique importante de l'Afrique de l'Ouest à l'Afrique Centrale, avec une faible association avec la lignée Afrique 1, en RCA et au Nigeria (figure 8). Par exemple, en RCA, la lignée Afrique 2 semble circuler dans le nord du pays, alors que les virus provenant du sud du pays, et notamment de Bangui, appartiennent à la lignée Afrique 1. Le groupe C est composé de deux virus isolés respectivement au sud du Tchad et à Bossangoa, au nord de la RCA [95].



Les numéros 1, 2, 3, 5 et 19 représentent les échantillons sans localisation précise, Grp = Groupe ; La localisation des échantillons est indiquée par des chiffres ou des taches de couleur. Les pays où les virus de la lignée cosmopolite sont trouvés sont affichés en gris clair, les pays où les virus des lignées cosmopolite et Afrique 2 sont trouvés, sont affichés en noir et les pays où les virus Afrique 2 sont trouvés, sont représentés en gris foncé.

Figure 8 : Répartition géographique des isolats rabiques des lignées Afrique 2

Source : [95]

XI - DIAGNOSTIC

XI.1. Chez l'animal

XI.1.1 - Eléments épidémiologiques

Les données recueillies sur le terrain permettent non seulement de conforter un diagnostic (nombre de cas, rareté de l'apparition simultanée de manifestations cliniques même en cas d'exposition à un seul animal enragé). Mais, ces données recueillies amènent également des informations sur le risque encouru par la population et les animaux. Il faut tenir compte des données spécifiques aux animaux concernés : rut, période de soudure alimentaire etc.

XI.1.2 - Eléments cliniques

Le diagnostic de la rage sur le terrain est très difficile car, chez l'animal, il n'existe pratiquement pas de critère clinique de rage : « Tout est rage et rien n'est rage ». Seule, l'évolution rapidement mortelle, avec paralysie progressive, a une très grande valeur diagnostique. D'une façon générale, en zone d'enzootie, on suspectera une rage devant :

- toute modification du comportement habituel d'un animal;
- toute gêne de la mastication ou de la déglutition.

XI.1.3 - Eléments lésionnels

Il n'y a pas de lésions macroscopiques caractéristiques de la rage. Cependant, le chien peut avoir des dents cassées, une plaie buccale, le pica et à l'autopsie, l'estomac est vide.

XI.1.4 - Diagnostic différentiel

Chez le chien, il faut différencier la rage des autres maladies à expression neurologique avec des signes d'excitation (la maladie de carré, la toxoplasmose, la maladie d'Aujeszky, le tétanos et les corps étrangers dans l'estomac ou l'intestin) des signes de paralysies tels que le botulisme, l'intoxication par le métaldéhyde ou des affections immobilisant la mâchoire inférieure (corps étranger dans la gorge, luxation

du maxillaire inférieur, paralysie de la mâchoire inférieure).

XI.1.5 - Diagnostic biologique

Les prélèvements doivent être adressés au Centre National de Référence (CNR) pour la rage ou à un laboratoire agréé. Les manipulations des prélèvements doivent être faites dans des conditions de confinement de niveau 3 (laboratoire P3) par du personnel vacciné. L'analyse biologique apporte le diagnostic de certitude de rage.

XI.1.5.1 - Les prélèvements

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire, sous le bénéfice du froid dans un triple emballage étanche accompagnés des renseignements détaillés : signes cliniques etc.

Selon l'espèce animale 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), en détachant la tête au niveau des vertèbres cervicales et uniquement le cerveau pour un gros herbivore.

XI.1.5.2 - Les techniques

En général, les recherches portent sur les zones particulièrement riches en virus rabique [21] : la corne d'Ammon, le bulbe rachidien, le cervelet, le cortex et les glandes salivaires.

❖ Diagnostic direct

➤ Immunofluorescence directe (IFD)

Des calques de corne d'Ammon sont soumis à l'action d'un conjugué fluorescent anti - nucléocapside du virus rabique (les témoins nécessaires sont réalisés pour vérifier le bon fonctionnement de la technique et la spécificité de la réponse). Les amas d'antigène du virus rabique sont ensuite cherchés au microscope à fluorescence et ils apparaissent sous forme de points plus ou moins gros, colorés en vert brillant sur fond noir, avec un pourtour plus lumineux [20].

➤ ELISA (Technique de sandwich)

C'est un test basé sur l'immunocapture de la nucléocapside du virus rabique. Les antigènes de l'échantillon à tester, se lient aux anticorps fixés à la surface de microplaque et le conjugué antirabique (anticorps couplé à la peroxydase) se fixe à l'ensemble pour former un complexe Ac-Ag-Ac/E. L'enzyme reliée au complexe est révélée en ajoutant le substrat : apparition d'une coloration jaune due à l'action de l'enzyme sur le substrat. [20]. Le test est simple, rapide, sensible et spécifique.

➤ Culture cellulaire

L'isolement du virus en culture cellulaire (cellules en lignées continues de neuroblastome de la souris) est très sensible et permet de porter un diagnostic confirmation rapide (moins de 24 heures par IFD). La technique est plus rapide, plus fiable et moins dangereuse que l'inoculation au souriceau nouveau né.

➤ Isolement sur souriceau nouveau-né

L'isolement sur souriceau N-nés, consiste à rechercher les antigènes viraux dans le cerveau des souriceaux nouveau-nés, préalablement infectés. Il faut attendre 20 jours pour connaître le résultat. C'est une technique de confirmation par immunofluorescence directe.

➤ Détection de l'ARN viral

A partir de la salive ou du LCR par amplification génique : RT-PCR (rétrotranscription de l'ARN viral en ADN qui est amplifié par réaction de polymérisation en chaîne) [20], [34]. Cette détection permet le génotypage, (amplification et séquençage des gènes N, G, et/ou L).

❖ **Diagnostic indirecte (Sérologie)**

On recherche par ELISA les anticorps dirigés contre la protéine G. Cette recherche n'a qu'un intérêt limité en diagnostic mais est indispensable pour les contrôles après vaccination

XI.2 - Chez l'homme

XI.2.1 - Données épidémiologiques

L'enquête au moment du diagnostic devra déterminer un facteur de risque professionnel ou accidentel, par exposition à un animal suspect de rage [98].

XI.2.2 - Données cliniques

Le diagnostic peut être difficile en l'absence de données épidémiologiques, surtout dans une région où la rage n'est pas endémique. C'est ainsi que la rage a pu être transmise par des dons d'organes, le diagnostic n'ayant pas été évoqué chez le patient donneur.

XI.2.3 - Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique utilise les mêmes techniques que pour les animaux et est souvent réalisé dans le même laboratoire agréé [20].

XI.2.3.1 - Les prélèvements humains

- **du vivant d'un malade** : Salive (par aspiration), biopsies cutanées (terminaisons nerveuses des follicules pileux du menton et de la nuque), appositions cornéennes avec une lame de verre et le LCR (intérêt limité)
- **Après la mort** : Après autopsie, cortex cérébral, hippocampe, glandes salivaires, œil.

XII - TRAITEMENT

XII.1 - Traitement de la rage déclarée

Chez l'animal, aucun traitement n'est mis en œuvre lors de rage déclarée. D'où la nécessité de mettre l'accent sur la prophylaxie.

Chez l'homme une prise en charge médicale est assurée dans un service de soins intensifs avec administrations de sédatifs et prise en charge des problèmes médicaux qui pourraient survenir.

XII.2 - Traitement post exposition

Selon les recommandations de l'OMS [119], [97], le traitement post exposition repose sur l'administration le plus tôt possible après l'exposition de vaccin antirabique associé éventuellement au sérum antirabique (IGR: Immunoglobuline Rabique). Un rappel de vaccin antitétanique (ou de sérum si l'individu n'est pas vacciné) est pratiqué et après les soins locaux, une prescription d'antibiotique permettra d'éviter une infection de la plaie (risque posé par les bactéries présentes dans la cavité buccale du chien : *Pasteurella* par exemple). Le traitement post exposition est bien codifié par TOMA et *al.*, [98] et rapporté par NODJIMADJI, 2008 [73].

XIII - PREVENTION

XIII.1 - Chez l'animal

La rage est une Maladie Réputée Contagieuse (MRC), soumise à déclaration obligatoire. Pour une meilleure prévention, il faut mettre en place la prophylaxie sanitaire, la prophylaxie médicale et la prophylaxie médico-sanitaire en vue des résultats satisfaisants.

XIII.1.1 - Prophylaxie sanitaire

XIII.1.1.1 - Mesures défensives

Les mesures défensives consistent en une protection des zones indemnes de rage. Ces mesures peuvent varier selon les exigences de chaque pays [48], [79] :

- interdiction d'importation des carnivores domestiques (Australie et la Nouvelle-Zélande) ;
- mise en quarantaine prolongée (6 mois), avec vaccination obligatoire au début de la quarantaine et contrôle sérologique (Grande-Bretagne, Irlande) ;
- certificat sanitaire attestant que l'animal est en bonne santé avec un résultat de laboratoire certifiant que l'animal est immunisé (France) [98].

XIII.1.1.2 - Mesures offensives

Les mesures offensives sont appliquées en zone d'enzootie rabique :

- Sur le plan général, les mesures offensives consisteront :
 - à capturer et à éliminer des chiens et chats errants. Ces mesures peuvent être organisées annuellement au travers des campagnes de vaccination de masse des chiens domestiques. Ces types de campagne ont été réalisés au Pérou et en Colombie par CHOMEL *al.*, [24], [25], en Tunisie par HADDAD et *al.*, [50] [51], par SEGHAIER et *al.*, [84] et à Pikine au Sénégal par LEYE [62] et MBOU [65]. Les chats domestiques devront autant que possible être associés à cet effort de vaccination.
 - à contrôler strictement la circulation des chiens et chats, en particulier, la circulation des chiens tenus en laisse, éventuellement avec muselière.

- Sur le plan individuel, les mesures à prendre vis-à-vis des différentes catégories d'animaux sont les suivantes :
 - L'animal sûrement enragé doit être sacrifié alors que l'animal suspect de rage sera mis en observation pour suivre l'évolution clinique, si l'animal risquait d'être la cause de contaminations humaines (animal très dangereux, échappé...), dans ce cas, il sera sacrifié et la tête sera envoyée au laboratoire de diagnostic.
 - L'animal contaminé (c'est-à-dire ayant été mordu par, ou ayant eu un contact étroit avec un animal enragé) doit être sacrifié, si il était en état d'immunité antirabique au moment de la morsure et si l'on peut contrôler correctement ses mouvements au cours des mois suivants, on peut envisager un rappel de vaccination et une conservation de l'animal [98].

Tout animal mordeur doit être mis en observation pendant 15 jours afin de vérifier l'évolution de son état de santé [98].

La mise en œuvre de l'ensemble de ces mesures fournit d'excellents résultats dans tous les pays possédant un système sanitaire bien structuré. Elles ont permis l'éradication de la rage canine de la quasi-totalité des pays d'Europe, des Etats-Unis, du Canada.

En revanche, leur application se heurte à de très grandes difficultés techniques et financières dans les pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique Centrale et du Sud dues à l'effectif de chiens errants et des ressources limitées.

La prophylaxie sanitaire sans remettre en cause son efficacité présente des défaillances organisationnelle et matérielle dans son application ; c'est pourquoi, la prophylaxie médicale reste le moyen le plus sûr pour protéger les espèces sensibles associées ou non à la prophylaxie médicale.

XIII.1.2 - Prophylaxie médicale

La prophylaxie médicale est complémentaire de la précédente et doit être pratiquée avec un vaccin de qualité par du personnel formé. Deux types de vaccin sont utilisés : les vaccins à virus vivants atténués et les vaccins à virus inactivés, ces derniers tendent à être de plus en plus recommandés [12]. Après vaccination un contrôle sérologique peut être nécessaire voire obligatoire pour s'assurer de la bonne qualité de la vaccination.

Les seuls vaccins à virus vivant autorisés en France, sont les vaccins utilisés chez les animaux sauvages, qui sont des vaccins à virus vivant atténué ou des vaccins préparés par génie génétique [99] : nous pouvons citer, selon une virulence résiduelle décroissante, le vaccin S.A.D.B19, le vaccin S.A.G.2 et le vaccin recombinant vaccine-rage élaboré par génie génétique, utilisés pour la vaccination orale des renards [75], [98].

Un chien vacciné contre la rage est à priori protégé contre celle-ci. Mais des cas d'échecs peuvent être observés après une vaccination Parmi les causes de ces échecs, l'animal vacciné peut être le premier incriminé. Naturellement certains animaux ne répondent pas à l'immunisation ou développent une réponse immunitaire très faible pour protéger leur organisme [98].

L'animal n'est pas le seul élément mis en cause ; un vaccin mal fabriqué ou mal conservé donnera les mêmes résultats. Enfin, les erreurs de manipulation, comme par exemple, le sous dosage du produit, peuvent aussi expliquer ces échecs.

XIII.1.3 - Prophylaxie médico-sanitaire

La vaccination seule ne peut résoudre le problème de la rage compte tenu du danger que représentent les chiens errants, difficiles à maîtriser. C'est ainsi qu'il faut associer à la vaccination des chiens domestiques, l'élimination des chiens errants et la protection des régions indemnes en contrôlant l'importation des chiens.

XIII.2 - Chez l'Homme

Chez l'homme, il est préférable d'utiliser de vaccins préparés sur culture cellulaire pour la vaccination humaine avant exposition, car ils présentent moins de risques et sont plus efficaces que les vaccins préparés sur tissus nerveux [97].

La vaccination avant exposition doit être proposée aux sujets ayant un risque élevé d'exposition comme le personnel de laboratoire qui travaille sur le virus rabique, les vétérinaires, les personnes manipulant des animaux ou celles qui sont chargées de surveiller la faune sauvage, ainsi que les autres personnes qui vivent ou qui voyagent dans des secteurs où la rage est endémique.

Cette vaccination nécessite trois doses par la voie intramusculaires de vaccin antirabique préparé sur culture de tissus à raison de 2,5 UI par dose, administrées aux jours 0 ; 7 et 28 Une injection de rappel sera administrée un an après la primo vaccination, avec ensuite un rappel tous les cinq ans [119], [97].

Chez l'adulte, le vaccin doit toujours être administré dans le deltoïde Chez le jeune enfant, la face antérolatérale de la cuisse est également acceptable La région fessière ne sera jamais utilisée pour injecter les vaccins, l'administration dans cette zone donnant lieu à des titres en anticorps neutralisants plus faibles [5].

La présence d'anticorps neutralisants chez les vaccinés doit être contrôlée sur des sérums prélevés 1 à 3 semaines après la dernière dose. En cas de risque permanent d'exposition à la rage, il est conseillé de pratiquer régulièrement des injections de rappel. Les rappels seront administrés en fonction des critères suivants :

- Toute personne qui travaille sur du virus rabique vivant dans un laboratoire de diagnostic, de recherche ou de production de vaccins, doit tous les 6 mois

contrôler son titre en anticorps neutralisants dirigés contre le virus rabique et le rappel est administré quand le titre tombe en dessous de 0,5 UI/ml [119], [97] ;

- Chez toutes les autres personnes soumises à un risque permanent d'exposition à la rage comme les vétérinaires, le personnel de laboratoire qui travaille sur le virus rabique. On pratiquera chaque année un titrage des anticorps neutralisants dirigés contre le virus rabique sur un échantillon de sérum ; si le titrage tombe en dessous de 0,5 UI/ml un rappel sera administré.

Nous retiendrons de ce chapitre que la rage est une maladie mortelle aussi bien pour l'homme que les animaux à sang chaud. Il existe un traitement vaccinal chez l'homme et non recommandé chez les animaux.

Ces connaissances générales sur la rage, nous permettent de comprendre ce qu'il en est de la maladie et des caractéristiques du virus en Centrafrique.

DEUXIEME PARTIE :
**Epidémiologie de la rage et
aspects moléculaires du virus
rabique à Bangui au cours de la
période de 2006 à 2008**

Malgré une meilleure connaissance de la rage, des principaux vecteurs et des moyens de lutte ; cette maladie continue de faire des victimes tant chez les animaux que dans la population humaine à Bangui.

Face à ce grave problème de santé publique, que représente la rage canine en Centrafrique et à Bangui en particulier, il était nécessaire de caractériser les virus rabiques qui circulent ; lesquels n'ont jamais fait l'objet d'étude moléculaire.

C'est dans cette optique que nous avons effectué l'étude portant sur l'épidémiologie de la rage et des aspects moléculaires du virus rabique à Bangui au cours de la période de 2006 à 2008.

Dans cette deuxième partie, nous présenteront le matériel et à les méthodes utilisés. Ensuite, après avoir traité les données, les résultats seront présentés. Ces résultats obtenus seront discutés et enfin, nous formulerons des recommandations pour une lutte efficace contre la rage animale et pour une meilleure prise en charge tant vétérinaire que humaine des personnes mordues ou griffées par des carnivores mordeurs.

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I - LIEU ET PERIODE D'ETUDE

La présente étude a été réalisée à l'Institut Pasteur de Bangui en collaboration avec la Clinique Vétérinaire de Bangui. Les prélèvements ont été effectués dans la ville de Bangui et dans la commune adjacente de Bimbo. Ce sont pour la plupart des cas chez des chiens malades et/ou mordeurs ou morts amenés par leur propriétaire. Les prélèvements ont été réalisés à la Clinique Vétérinaire publique de Bangui pour la plupart d'entre eux à l'exception d'un petit nombre de prélèvements provenant des cliniques vétérinaires des régions. Ces prélèvements sont adressés à l'Institut Pasteur pour le diagnostic biologique.

Le laboratoire d'Arbovirus et Virus de Fièvres Hémorragiques à l'Institut Pasteur de Bangui, ainsi que le centre de traitement antirabique de l'IPB, ont servi de cadre pour cette étude. Ce laboratoire assure les activités de diagnostics de la rage en RCA comme Centre National de Référence (CNR) pour la rage et joue aussi le rôle du centre collaborateur de l'OMS pour les Arbovirus et Virus de Fièvres Hémorragiques.

Notre étude s'est déroulée sur huit mois en deux phases, la première phase a été consacrée à la mise en place des techniques moléculaires, elle a duré, d'août à octobre 2008. La seconde a duré du mois d'août à décembre 2009.

II - MATERIEL

II.1- Matériel biologique

L'immunofluorescence directe (IFD) est effectuée sur les cerveaux de chiens, de chats, des caprins, des rongeurs et des chauves-souris provenant des cliniques vétérinaires. Ainsi que sur les prélèvements humains (salive) qui proviennent des hôpitaux. Les échantillons analysés sont conservés à - 80 ° C pour des études épidémiologiques complémentaires.

II.2 - Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire utilisé est composé :

❖ du matériel pour l'IFD :

- Gant à usage unique,
- Boîte de pétri,
- lamelles couvre-objet,
- lames porte-objet à immunofluorescence résistant à l'acétone ;
- ciseaux, étuve, pinces, pipettes,
- acétone à - 20°C, bleu d'Evans,
- chambre humide, PBS pH 7,2,
- Flacons pour conjugué antirabique de 25 et 75 mL Falcon® ;
- glycérine tamponnée, microscope à fluorescence.

❖ du matériel de biologie moléculaire :

- Broyeur plastique à usage unique (Dutscher)
- Kit d'extraction, QIAamp® Viral RNA Mini Kit (50), QIAGEN
- Kit de purification, QIAquick® Gel Extraction Kit (50), QIAGEN
- SuperScript II RT 100 µl (Invitrogen®, life technologies)
- SuperScript II RT, 5X First-Stranded Buffer with 250.0 mM Tris-HCl, pH 8.3; 375.0 mM KCl ; 15.0 mM MgCl₂ (Invitrogen®, life technologies);
- Expand Long Template (ELT) Buffer 10X with 17,5 mM MgCl₂ (Invitrogen®, Life technologies);
- Dithiothreitol (DTT) 0.1 mM (Invitrogen, life technologies);
- RNaseOUT Recombinant Ribonuclease Inhibitor 40.0 U/µL (Invitrogen®, Life technologies);
- dNTP : déoxynucléotide triphosphate 1 ml (Eurobio);
- Tampon Acetate EDTA pH 8.0 ;
- Ethidium Tris Acetate 125 mM ;
- Agarose LM-MP : Multipurpose agarose, low melting point ;
- BET : Bromure d'ethidium (Invitrogen);

- Colorant pour dépôt (électrophorèse) : Gel loading Buffer, 10X Bleu Juice™ (Invitrogen) ;
- SmartLadder ;
- Acétate de sodium 3 M, pH 5.6 ;
- Ethanol 70 % et 95 % (MERCK) ;
- EDS : Eau Distillée Stérilisée ;
- Pipettes 1, 2, 5, 10 et 25 mL Falcon® (Becton Dickinson, le Pont De Claix, France) ;
- Tubes de PCR : MicroAmp® (Applied Biosystems) ;
- Tubes polypropylène fond conique 15 mL BLEU MAX® Jr. (Becton Dickinson, Drogheda, Ireland) ;
- Tubes polypropylène fond conique 50 mL BLEU MAX® (Becton Dickinson, Drogheda, Ireland) ;
- Tubes eppendorf 1,5 mL (Eppendorf AG, Hamburg, Allemagne);
- Pipettes eppendorf : 10, 100, 200 et 1000 µL ;
- Bac à glace ;
- Glace pilée;
- Thermocycleur (GeneAmp* PCR System 9700) ;
- Centrifugeuse : Allegra™ 64 R Centrifuge, (BECKMAN COULTER);
- Micro-onde : MICRO-CHEF FM 2935, 900w (Moulinex) ;
- Gel casting block ;
- Cuve et générateur à électrophorèse : POWER PAC 3000 (BIO-RAD®) ;
- Imaging System: The Imager™ (Sony);

Les amorces du virus rabique du gène L ont été conçues à partir de la séquence nucléotidique la souche du Virus Pasteur (PV), fournies par l'Institut Pasteur de Paris. La séquence PV peut être obtenue à partir de la GenBank (n° d'accès M13215 sur site internet de la NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/index.htm>). Les amorces pour le gène L ont été nommées PVO5 et PVO6 (tableau III, page 52).

Le nom, la composition en bases et la position de ces différents oligonucléotides sont résumés dans le tableau III (page 52).

Tableau III : Différentes amorces utilisées [d'après 34, 92 et 16]

Amorces	Séquences des amorces	Position nucléotidiques
PV05 (sens)	^{5'} ATG ACG GAC AAY CTG AAC AA ^{3'}	7170-7189 de PV
PV06 (anti-sens)	^{3'} CCR TTC CAR CAG GTA GGD CC ^{5'}	7486-7467 de PV

En plus du matériel de laboratoire utilisé, nous avons également recueilli certaines données en consultant les cahiers de laboratoires de diagnostic, les fiches de prélèvements à l'IPB et les rapports du centre de traitement anti rabique.

III - METHODES

III.1 - Collecte des informations

Notre étude a exploité des registres de laboratoire de l'IPB et du Centre de Prévention et de Traitement pour la Rage (CPTR).

Pour chaque prélèvement, nous avons recueilli les informations relatives à l'origine géographique, aux dates de prélèvement et de diagnostic, à l'espèce, au sexe et au résultat d'analyse. Nous n'avons pas pris en compte l'âge car l'âge de certains animaux n'était pas connu.

Les prélèvements ont été soumis à l'immunofluorescence directe (IFD) et aux techniques moléculaires. L'IFD et la PCR ont été réalisées au laboratoire de l'IPB et le séquençage à Grenoble (France).

III.2 - L'immunofluorescence directe

Le cerveau, la corne d'Ammon et le bulbe rachidien sont prélevés et des empreintes sont faites sur une lame porte-objet pour IF (pour un prélèvement liquide, un étalement est effectué) en présence d'empreinte d'un témoin positif et d'un témoin

négatif. La préparation est séchée à l'étuve pendant 10 à 15 min avant fixation. Celle-ci est faite en plongeant la lame dans l'acétone à - 20°C pendant 15 min, Après séchage, le conjugué antirabique est déposé sur chacune des empreintes, le tout est placé sur un portoir dans une atmosphère humide et incubé à l'étuve pendant 30 min. Puis la lame est lavée à deux reprises dans du PBS à pH 7,2 pendant 5 min avec agitation. L'excès d'eau est éliminé et une goutte de glycérine est déposée sur chaque empreinte, et la lame est recouverte par une lamelle couvre-objet. La lecture est faite au microscope à fluorescence à l'objectif 40X. Le témoin positif est examiné en premier lieu et doit présenter une très forte fluorescence, et le témoin négatif ne doit en présenter aucune.

III.3 - Techniques de biologie moléculaire

Le principe général consiste à multiplier de façon exponentielle un fragment d'ADN de taille comprise entre 200 à 300 paires de bases (Pb). Le produit de l'amplification s'appelle un amplicon.

Pour les virus à ARN, l'amplification se déroule en deux étapes. Une première phase correspond à la copie de la séquence ARN en ADN complémentaire (ADNc) et une seconde phase correspond à une réaction PCR classique sur l'ADNc synthétisé (RT-PCR). Pour cela, il est nécessaire de connaître la séquence des régions qui délimitent le segment à amplifier. Ces séquences serviront à synthétiser des amorces oligonucléotides complémentaires utilisées pour la synthèse de l'ADNc et des amplicons.

Le séquençage des produits PCR nous permettra de faire l'étude épidémiologique moléculaire par analyse phylogénétique.

III.3.1 - Préparation des échantillons et règles de laboratoire

De petites quantités de matériel sont utilisées (2 g environ) à partir d'échantillons de cerveau, soit frais, soit conservés à -80°C pour des études rétrospectives. Pour vérifier la spécificité de la méthode, de nombreux témoins positifs et surtout négatifs seront utilisés à chaque étape de la RT-PCR.

La technique est réalisée directement sans adaptation préalable en culture cellulaire, ce qui pourrait introduire, sous certaines conditions, des modifications de séquences [16].

Lors de la mise en œuvre de la RT-PCR, certaines règles de laboratoire doivent être respectées [112]. Tout d'abord, la technique étant très sensible, les manipulations doivent être réalisées avec une grande rigueur car la plus infime contamination peut être amplifiée.

Par ailleurs, les étapes d'extraction et de synthèse de l'ADNc devront être réalisées dans une pièce différente de celle de la PCR proprement dite car l'amplification produit des millions de brins d'ADN qui sont autant de sources potentielles de contamination pour un autre échantillon.

III.3.2 - L'extraction d'ARN viral

Le kit Qiagen (QIAamp[®] RNA Mini Kit) commercialisée, est destinée à une purification rapide et performante de l'ARN total.

Après homogénéisation du cerveau infecté dans le tampon d'extraction (600 µl de PBS), 140 µl du surnagent homogénéisé est déposé dans un micro-tube de Nunc[®] de 1,5 ml et est lysé dans 560 µl du tampon AVL (reconstitué avec de l'éthanol à 96-100%) qui contient quant à lui de protéases. Le tampon AVL permet également d'optimiser les capacités de liaison de l'ARN sur ce gel. Le surnagent et tampon AVL sont vigoureusement mélangés sur un vortex, ce qui permet d'obtenir une solution homogène et une lyse efficace. Ce mélange est incubé à température ambiante (15-25°C) pendant 10 min. On ajoute 560 µl de l'éthanol (96-100%) au mélange, l'ensemble du nouveau mélange est homogénéisé 15 min puis centrifugé brièvement.

Après centrifugation, 630 µl de la solution (les lysats) est ensuite déposée dans une colonne contenant un gel de silice sur lequel va se fixer l'ARN. Les caractéristiques physicochimiques de la colonne sont telles que les protéines et les autres contaminants qui pourraient inhiber la PCR ne soient pas retenus sur la membrane. L'ARN retenu sur la colonne après deux centrifugations successives, est lavé à l'aide de 2 autres tampons 500 µl AW1 et 500 µl AW2. Cette opération permet d'éliminer

par centrifugation la totalité d'éventuels contaminants sans affecter la liaison de l'ARN à la colonne.

L'étape d'élution consiste à placer la colonne à ARN dans un micro-tube de 1,5 µl suivi d'addition de 60 µl du tampon AVE, ce qui permet d'obtenir un ARN purifié directement utilisable en PCR qui peut être conservé à - 80°C pendant environ une année.

III.3.3 - Réaction de polymérisation en chaîne

III.3.3.1 - Synthèse de l'ADNc ou la RT

La synthèse de l'ADNc débute par l'hybridation de l'ARN total extrait (6 µl d'ARN à 0,5 mg/ml), l'amorce sens (2 µl) et 2 µl d'eau ultrapure stérile à 65 ± 5 °C pendant 10 minutes. L'ensemble est ensuite refroidi dans de la glace fondante.

La transcription inverse est réalisée en ajoutant une solution appelée tampon RT contenant :

- dNTP (déoxyribonucléotide triphosphate) 10mM, RNAsin® inhibiteur de Rnase ou de la dégradation des ARNm,
- DTT (Dithiothréitol) 10mM, un tampon spécifique de l'enzyme (tampon 5X),
- RNase, le SuperScript® II qui est la reverse transcriptase MMLV (Moloney Murine Leukemia Virus) ou AMV [57], [88],
- et avec d'EDS (Eau Distillée Stérilisée) permettant d'obtenir un volume de 20 µl dans chaque microtube.

L'incubation dure 90 minutes (1h30min) à 42°C. Le milieu de transcription inverse n'est pas standardisé et varie beaucoup d'un laboratoire à l'autre.

III.3.3.2 - Réaction PCR

Nous préparons au préalable le tampon de PCR contenant :

- le dNTP 10mM,
- du MgCl₂ 25mM,
- les deux amorces de sens à 10µM (PV05) amorce anti sens à 10µM (PV06)

- et l'enzyme GoTaq® Flexi DNA polymérase (Promega M8305). Cette enzyme extraite d'une bactérie thermophile (*Thermophilus aquaticus*) a la particularité d'être très efficace à haute température (70-75°C).

A ce mélange nous ajoutons 2µl d'ADNc à amplifier de sorte que le volume final soit de 50µl.

L'ensemble est soumis à différents cycles de dénaturation, hybridation et élongation en utilisant un thermocycleur ((GeneAmp* PCR System 9700) ; au niveau du thermocycleur

Il se déroule une :

- | | | |
|------------------------|---------|-----------|
| - dénaturation à 94° C | 3min | 1 cycle |
| - dénaturation à 94° C | } 30sec | 35 cycles |
| - hybridation à 58° C | | |
| - élongation à 72° C | | |
| - élongation à 72° C | 3min | 1 cycle |

La transcription inverse et l'amplification ont été réalisées successivement dans le même thermocycleur compte tenu de la ressemblance des solutions tampons utilisées.

III.3.3.3 - Détection de l'amplicon

❖ Préparation de gel d'agarose

Le gel d'agarose à 1.5 % est préparé à partir de 3 g d'agarose (Invitrogen, Life technologies) qui est dissout à chaud dans 200 ml de tampon Tris-Acétate-EDTA = Ethylene-Diamine-Tetra-Acetic acid (TAE) préparé dans le laboratoire. Après refroidissement, nous ajoutons quelques microlitres de bromure d'éthidium (Invitrogen, Life technologies) qui est un agent fluorescent s'intercalant entre les bases d'ADN.

➤ **Electrophorèse**

La vérification de l'amplification se fait par électrophorèse sur gel d'agarose dont le principe repose sur la migration différentielle des fragments de différentes tailles soumis à un champ électrique. L'ADN étant chargé négativement va migrer vers la anode. La migration se fait dans le tampon TAE.

Dans chacun des puits du gel préparé, 5 µl du produit de PCR est déposé et la migration va se faire sous une tension de 100 volts pendant 30 minutes en présence de 3 à 5 µl du marqueur de poids moléculaire Smart ladder (Invitrogen, Life technologies). Après migration, l'ADN amplifié est visualisé sous lumière Ultra Violette (312 nm) ce qui permet de vérifier que la taille obtenue correspond bien à ce qui était attendu (300 Pb).

III.3.3.4 - Purification du produit PCR

En vue de purifier l'ADN amplifié, la totalité de la solution PCR est déposée sur un gel d'agarose à 0.75 % qu'on fait migrer à 85 Volts pendant une heure à une heure 30 minutes en présence de marqueur de taille moléculaire. Les bandes spécifiques sont ensuite découpées en référence du marqueur de poids moléculaire puis traitées selon le protocole QIAGEN[®] de purification. Il s'agit d'une solubilisation du gel à chaud puis passage sur colonne en présence des tampons PE (750 µl Buffer PE du kit QIAGEN[®]) et EB (30 µl Buffer EB 10 mM Tris-Cl, pH 8,5). L'ADN fixé sur la membrane de la colonne est purifié par lavage (deux fois pour le tampon PE et une fois pour le tampon EB) avant d'être élué. Les lavages avec le tampon PE 2 fois et le tampon EB une fois, se font par centrifugation pendant 1min à chaque lavage, ce qui permet le recueil du produit PCR purifié dans les tubes en vue de l'envoi pour le séquençage.

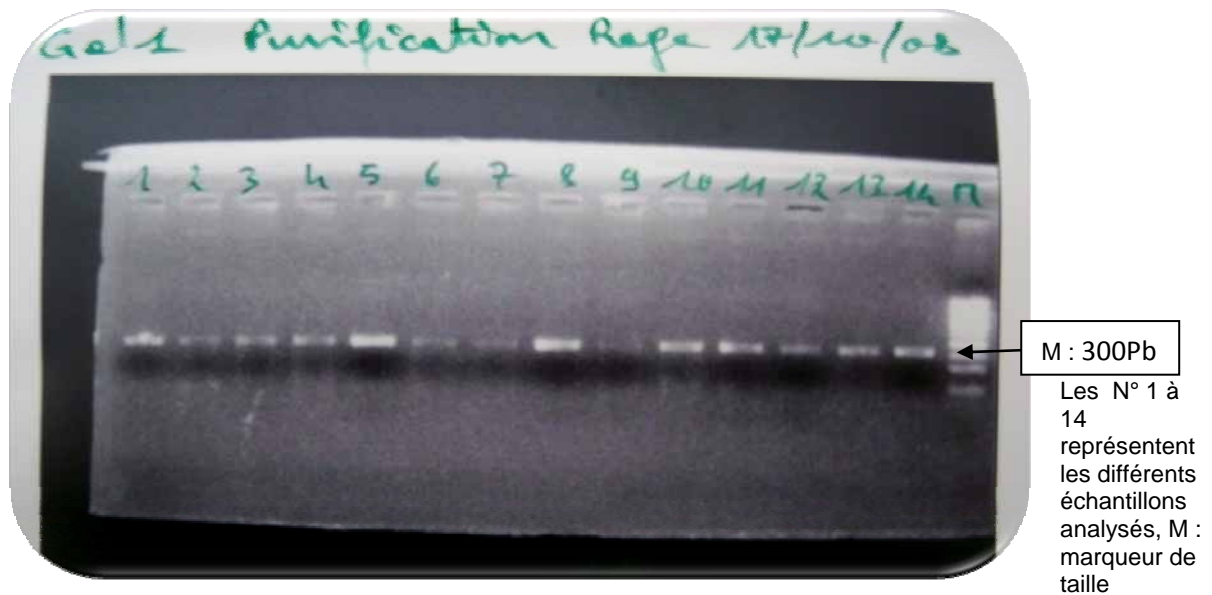


Figure 9 : Electrophorégramme des amplicons après purification du segment du gène L des virus rabiques isolés à Bangui

Photo : [Institut Pasteur de Bangui]

III.3.3.5 - Séquençage

L'ADN obtenu est purifié à l'aide du Kit QIAquick® Gel Extraction, QIAGEN selon les instructions du fabricant. Comme pour l'amplification génique, un Kit commercial de séquençage BigDye® Terminator v1.1 d'Applied Biosystem, ABI PRISM® 3100-Avant a été utilisé pour déterminer la séquence nucléotidique des ADN. Une seule amorce spécifique (celles utilisées pour la RT-PCR) pour chacun des deux brins d'ADN et complémentaire de l'extrémité 3' de ce brin (sens pour un brin et anti sens pour l'autre) a été utilisée. Les détails techniques du séquençage se trouvent à l'annexe VI (page 119).

Les séquences des fragments amplifiés ont été déterminées par la société Cogenics - Genome Express (Grenoble, France).

III.3.3.6 - Alignement des séquences obtenues

Pour comparer deux ou plusieurs séquences, il est nécessaire de les aligner. Lorsque les séquences sont alignées, il est possible d'identifier l'emplacement des mutations depuis leur divergence à partir de leur ancêtre commun. L'alignement aura

une incidence sur les distances entre 2 espèces différentes, ce qui influencera la phylogénie. Il y a plusieurs programmes disponibles sur internet, pour l'alignement de séquences. Ceux-ci sont tous fondés sur des modèles mathématiques différents qui permettent de comparer deux ou plusieurs séquences de façon la plus optimale possible.

Dans notre étude nous avons utilisé le programme informatique CLUSTALXND (1.81) pour le calcul de pourcentage de similitude pour chaque paire de séquence (nombre de nucléotides différents entre deux séquences, divisé par le nombre de sites examinés).

a- Principe

La recherche de séquences homologues de nucléotides dans les banques de données constitue une étape essentielle de notre travail. Il nous paraît donc important de faire ici une revue sur la méthodologie de la recherche de similitude dans les banques de séquences (GenBank). Le domaine d'application de la recherche de similitude ne se limite pas à l'évolution moléculaire et à la phylogénie. La recherche de relations évolutives est également le moyen le plus simple et le plus efficace pour obtenir des indices sur la fonction d'un gène nouvellement séquencé : si deux gènes dérivent d'un ancêtre commun, il est probable qu'ils aient une fonction et une structure similaires. Cette approche donne souvent des résultats intéressants car désormais, la taille des banques de données est telle qu'environ 30% à 60% des séquences nouvelles sont homologues à des gènes déjà identifiés.

b- Alignement multiple

Les séquences nucléiques obtenues à l'aide de chaque couple d'amorces (une séquence avec l'amorce sens et une avec l'amorce antisens) sont alignées entre elles avec le logiciel MultAlinND, après inversion de la séquence antisens avec le logiciel INVCMPND (sur le site d'INFOBIOGEN ; <http://bioinfo.hku.hk/services/>).

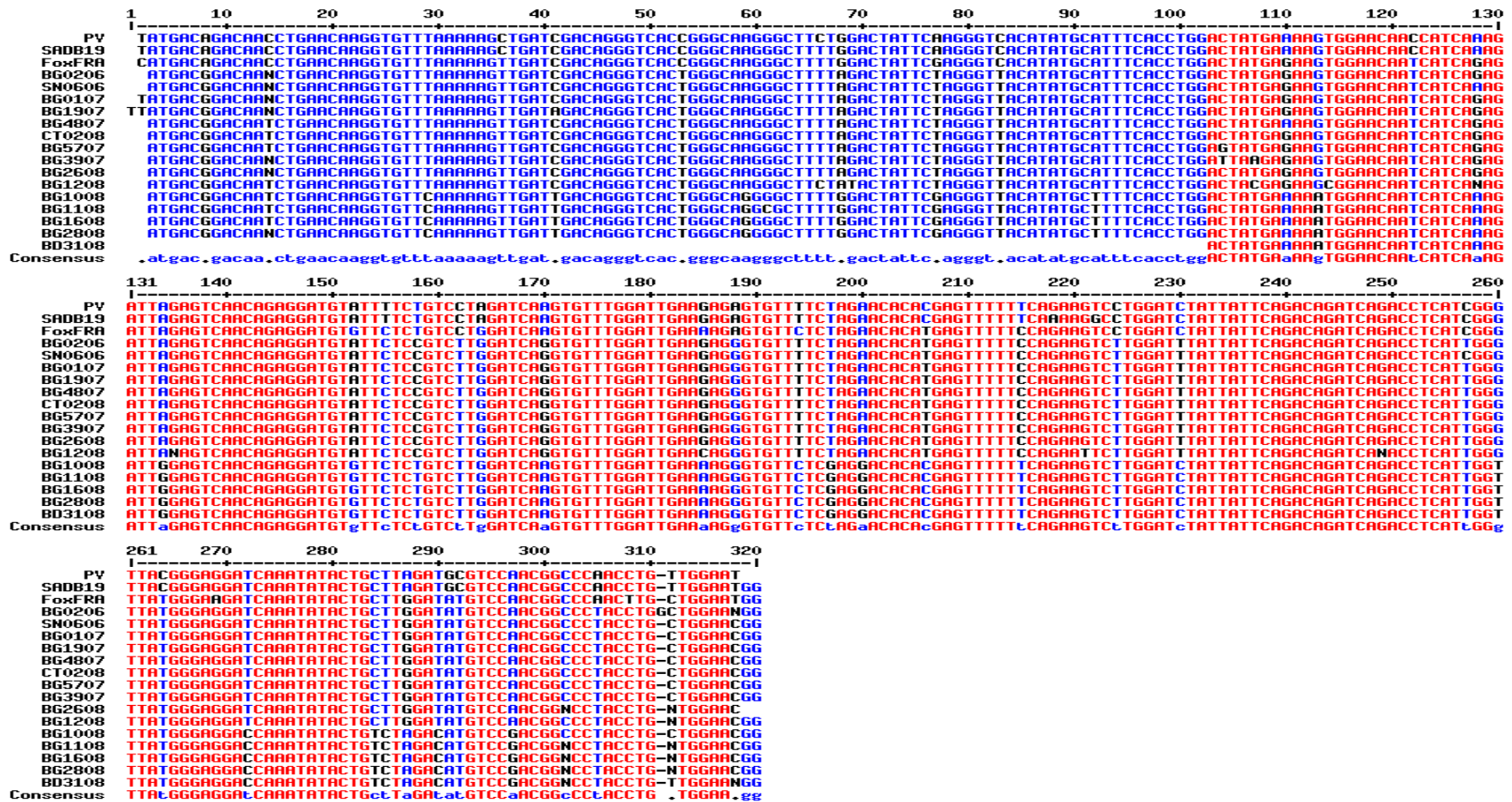
Toutes les séquences obtenues à l'aide des différents couples d'amorces pour chaque virus sont alignées entre elles, puis comparées aux séquences partielles du gène L de la souche de référence.

Les séquences alignées sont corrigées et il en résulte une séquence consensus qui correspondrait à la séquence nucléique de la souche étudiée. De cet alignement multiple, Il est possible de déduire le pourcentage de similitude, d'identité ou de divergence entre différentes souches (voir résultats).

III.3.3.7 - Analyse phylogénétique

Les séquences nucléiques des isolats de RCA ont été complétées par celles de 19 autres virus rabiques (isolés en Amérique, Europe et Asie) du genre *Lyssavirus* de la famille des *Rhabdovirus* tirées de *GenBank*. Toutes ces séquences ont été traduites au format Fasta puis alignées avec le logiciel CLUSTALXND (1.81).

Les régions des séquences mal alignées présentant une ambiguïté ont été éliminées avec le logiciel GblocksND (http://molevol.ibmb.csic.es/Gblocks_server) afin d'avoir des séquences homologues devant permettre de reconstruire les relations évolutives entre les virus. Ces relations évolutives peuvent être représentées par des arbres phylogénétiques.



BG = Bangui, CT = Carnot, BD = Bاندرو, CT = Carnot, SN = Sosso-Nakombo, PV = Virus Pasteur, SAD = Street Alabama Dufferin, Fox FRA = Virus isolé chez un renard en France.

Figure 10 : Méthode d'alignement des séquences partielles de nucléotides du gène L : Séquences des souches de Bangui et celles de souches de références

Un arbre phylogénétique est un graphique composé de nœuds et branches où une seule branche connecte deux nœuds adjacents. Les nœuds représentent des unités taxonomiques et les branches définissent les relations de parenté entre les unités taxonomiques.

La méthode de maximum de vraisemblance (Maximum Likelihood : ML) est appliquée pour la construction de l'arbre phylogénétique. C'est une méthode qui estime la probabilité d'observer les données selon un arbre et un modèle d'évolution. Le ML utilise toutes les informations du jeu de données et tous les arbres possibles et tient compte d'un modèle explicite d'évolution et produit des hypothèses sur l'évolution des caractères. Le ML est recherché avec le programme selon le modèle General time-reversible (GTR). Les valeurs statistiques placées sur les nœuds sont calculées par le Bootstrap (estimation de la robustesse des branches des arbres) en comparant cent fois la séquence de chaque souche à celles des autres. Si un arbre est robuste, c'est-à-dire fortement soutenu par les données, alors sa variabilité sera faible. Par contre si un arbre est peu robuste il aura une grande variabilité. Une valeur de Bootstrap de 100 % est équivalente à un nœud vrai ou robuste.

IV - ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les données ont été saisies en utilisant le logiciel EXCEL de Microsoft® Office. Puis analysées par le logiciel Rcommander. Le test de chi-deux ($P < 0.05$) a été utilisé pour la comparaison des proportions.

Après traitement de nos données, nous avons obtenu des résultats qui seront présentés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE II : RESULTATS

I - CARACTERISTIQUES DES PRELEVEMENTS ANALYSES

La figure 11 montre que sur les 103 prélèvements, 96 (93.2 %) sont des cerveaux de chien, 3 (2.9 %) des cerveaux de chats et 4 (3.9 %) des cerveaux de caprins. Le chien est donc la principale espèce victime de rage suivi des caprins et du chat.

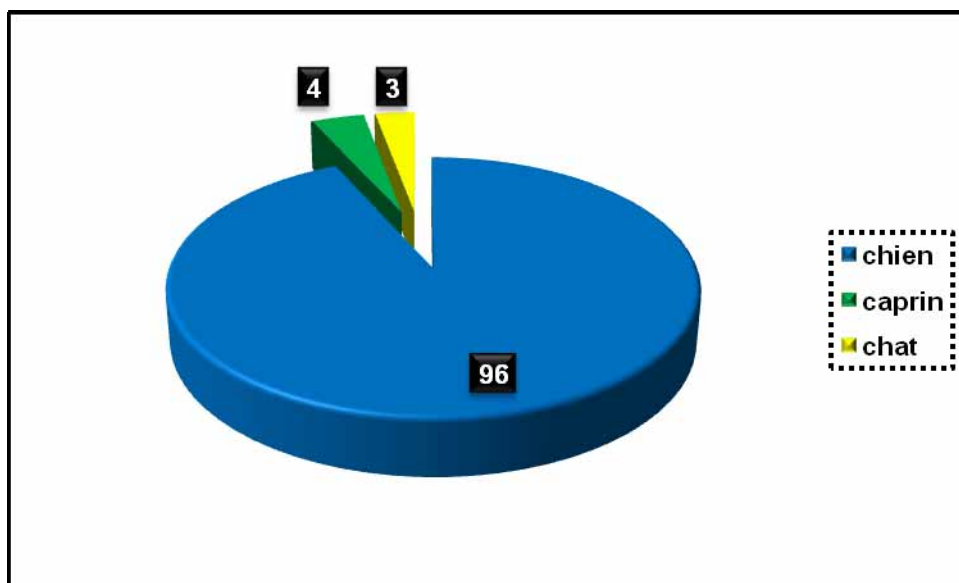


Figure 11 : Distribution des espèces suspectées de rage

Au cours de la période 2006 à 2008, 5 prélèvements humains (figure 12, page 64) ont été reçus. Ils sont constitués uniquement de salive, et suivent la répartition suivante : 1 (20 %) prélèvement en 2006, 3 (60 %) en 2007 et 1 (20 %) en 2008.

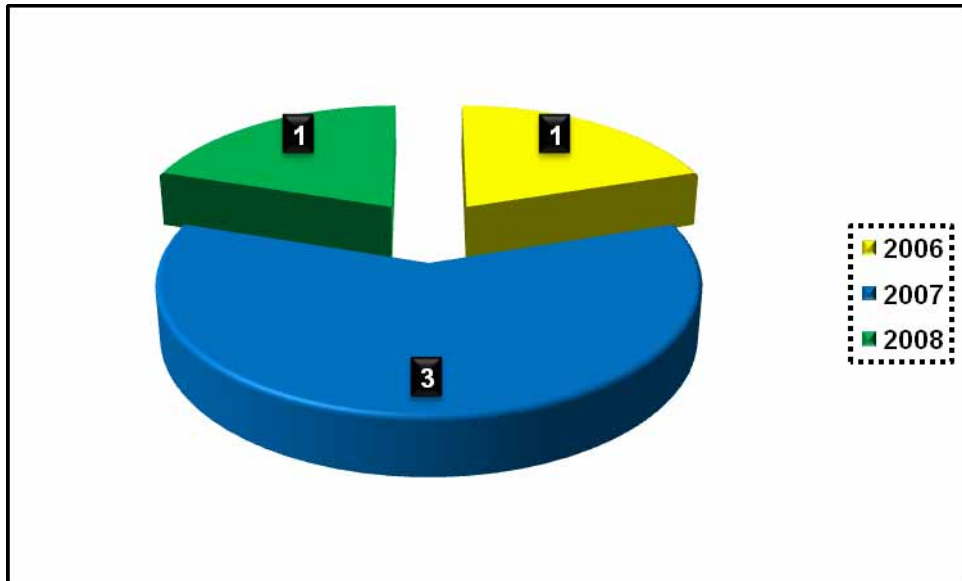


Figure 12 : Distribution des prélèvements humains

II - RESULTATS DE L'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE (IFD) ET DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE (RT-PCR)

II.1 - Résultat de l'IFD

Tableau IV : Résultat global en IFD de 2006 à 2008

	Prélèvements		Résultats			
			Rage animale		Rage humaine	
	Animal	Humain	Positif	Négatif	Positif	Négatif
Nombre	103	5	86	17	4	1
Pourcentage	100	100	83,5	16,5	80	20

Les 18 échantillons négatifs n'ont pas été analysés par une autre technique, qui pouvait permettre de confirmer ces résultats négatifs.

Selon le tableau IV (page 64), nous avons enregistré et examiné d'août 2006 à décembre 2008, 108 prélèvements provenant des animaux et des humains, parmi lesquels 90 se sont révélés positifs.

- Rage animale : 103 prélèvements dont 86 positifs, soit 83,5 % ;
- Rage humaine : 5 prélèvements dont 4 positifs, soit 80 %.

II.1.1 - Rage animale

II.1.1.1 - Répartition des résultats selon les prélèvements

Le diagnostic de la rage au laboratoire nous a permis également de connaître le nombre des espèces mises en cause et de faire une répartition des cas de rage en fonction de l'espèce, du sexe ainsi qu'une répartition spatio-temporelle de la rage dans la ville de Bangui.

II.1.1.2 - Variation selon l'espèce

La figure 13 montre que parmi les positifs, il y'a : 81 chiens soit 94.2 %, 3 chèvres, soit 3.5% et de 2 chats soit 2.3 %.

Le chien représente l'espèce la plus concernée par la rage, d'où le rôle épidémiologique majeur qu'il joue dans l'entretien du virus rabique.

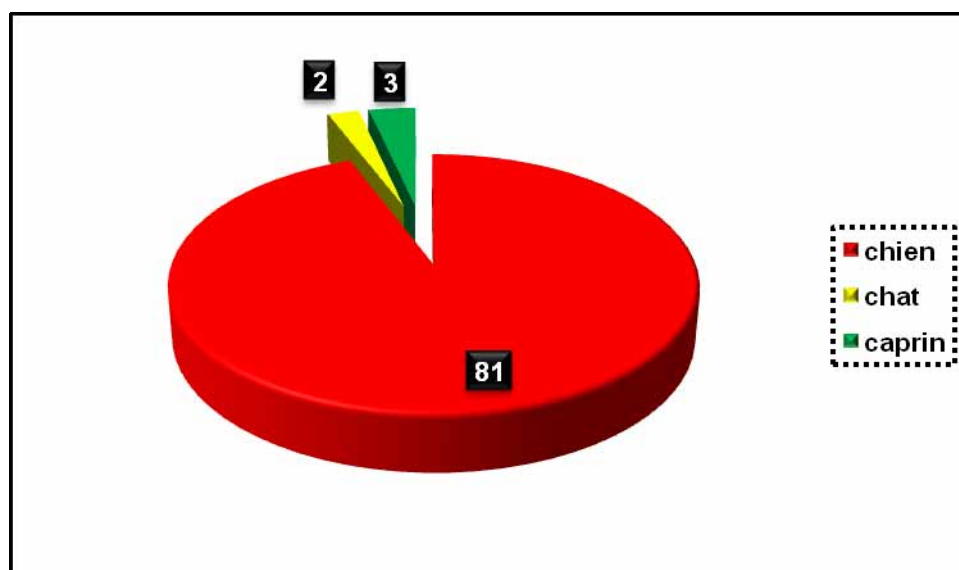


Figure 13 : Distribution des positifs selon les espèces

I.1.1.3 - Variation selon le sexe

La figure 14 montre la distribution des positifs selon le sexe. Ainsi, 53 des animaux sont des mâles soit 61.6 % et 33 femelles, soit 38.4 %. Donc, les mâles sont beaucoup plus impliqués dans la transmission de la rage que les femelles.

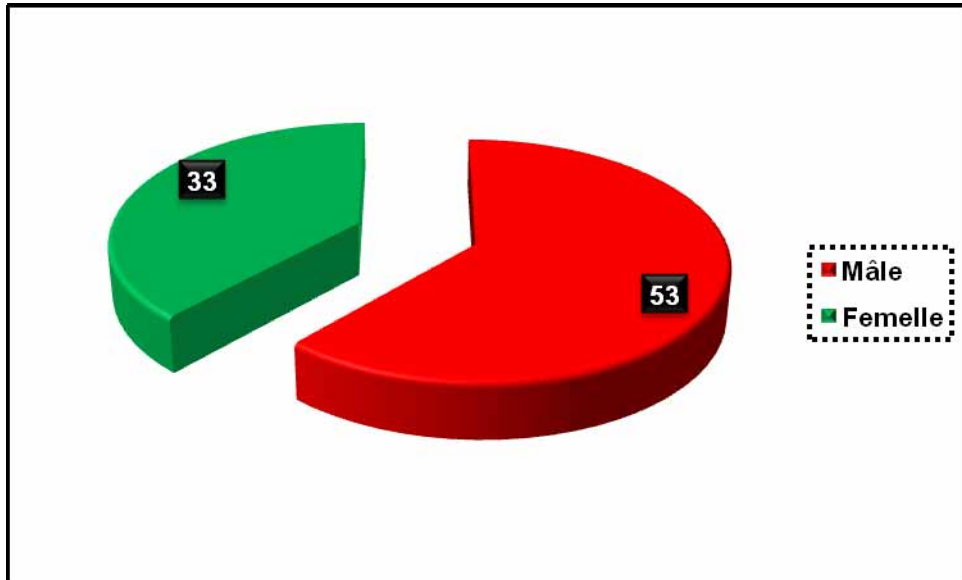
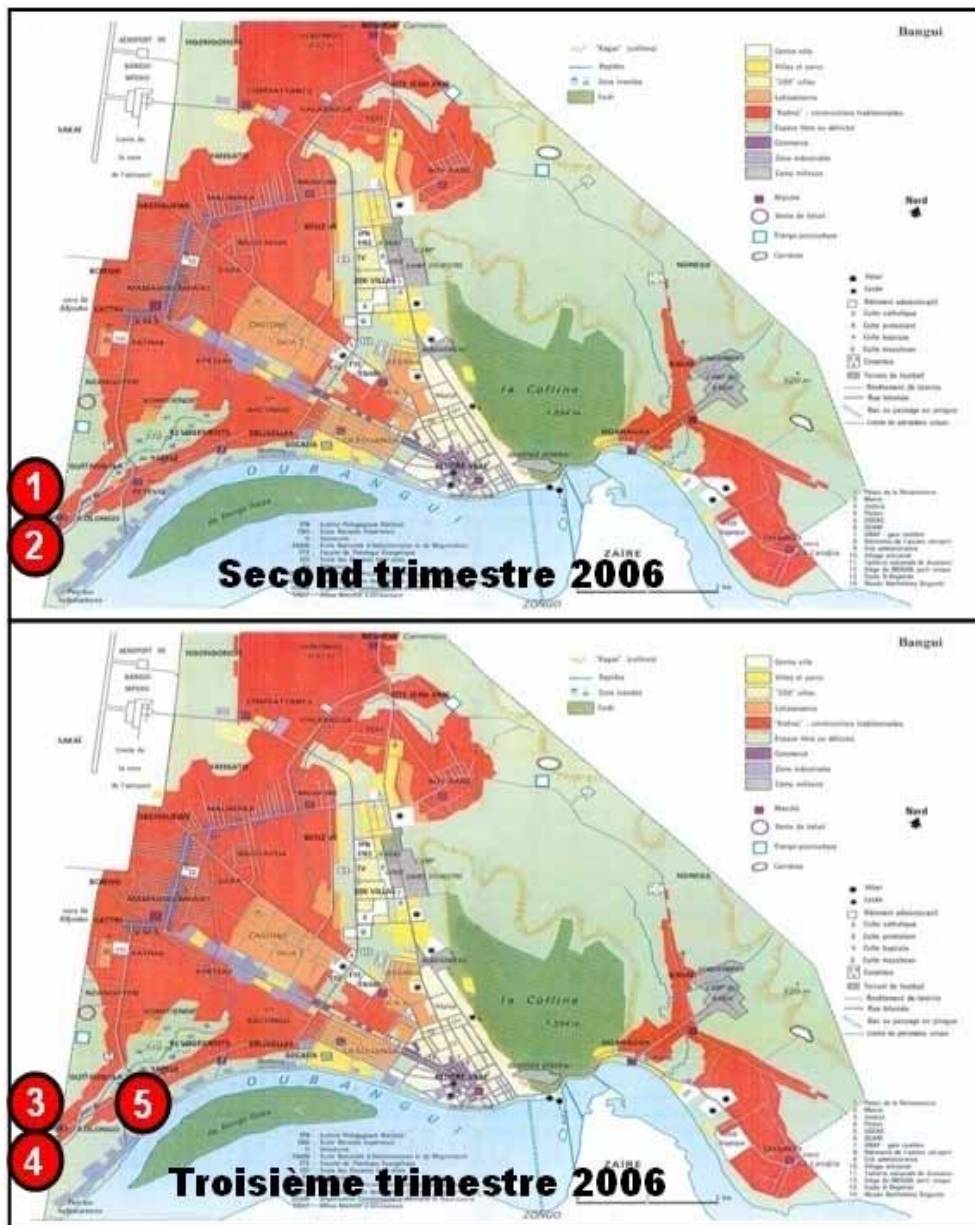


Figure 14 : Distribution des animaux selon le sexe

II.1.1.4 - Répartition spatio-temporelle de la rage animale à Bangui

Après 18 mois de résultats négatifs, c'est-à-dire de janvier 2005 à juillet 2006 ; c'est au 2nd trimestre 2006 que 2 cas de rage canine ont été observés à Bimbo aux portes de la ville. Au 3^{ème} trimestre, il y'a eu de 2 cas à Bimbo et 1 cas au quartier Pétévo au sud de la ville, localité voisine de Bimbo. Donc en 2006, 5 cas de rage ont été observés en passant de 2 cas au second trimestre à 3 cas au troisième trimestre (figure 15 à la page 67).



Les numéros représentent les cas de rage dans différents quartiers de la ville

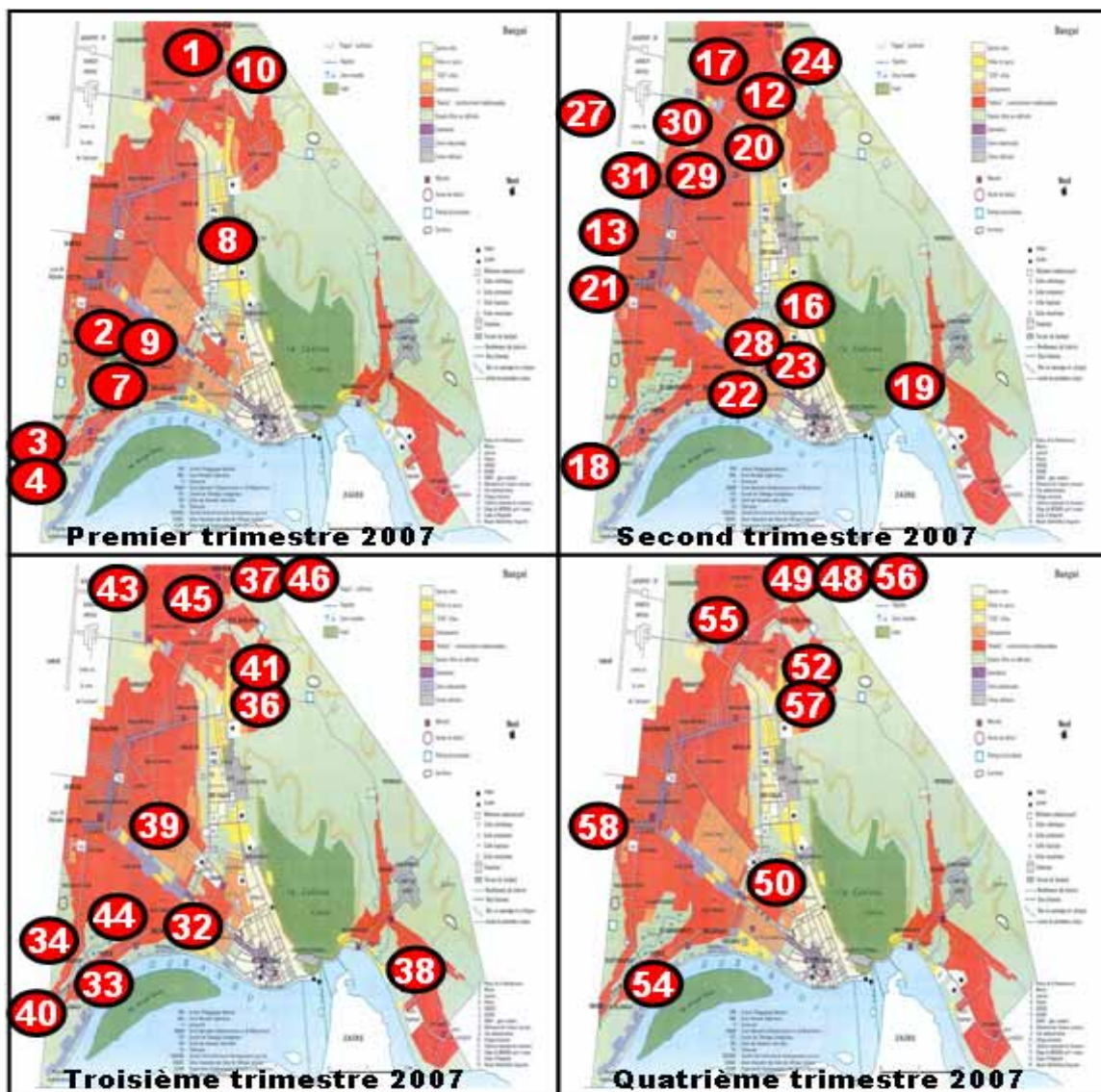
Figure 15 : Répartition des cas de rage en 2006 à Bangui

La figure 16 indique (page 68) la répartition des différents cas de rage observés en 2007. Au second trimestre, 8 cas de rage sont observés (3 au nord, 2 à Bimbo, 3 au Sud). Au second trimestre, 14 cas de rage sont observés sur l'ensemble de la ville, ce qui donnerait l'impression d'une épizootie. Cela correspondrait au premier pic de l'enzootie.

Vient ensuite le troisième trimestre où l'enzootie s'est maintenue avec 13 cas répartis également sur l'ensemble de la ville. Enfin, 9 cas ont été observés au dernier

trimestre de l'année 2007. Ici la majorité des cas est localisée dans les quartiers nord de la ville.

Les premiers cas enregistrés en janvier provenaient des quartiers nord et sud de la ville. Puis, il y'a eu extension dans toute la ville. La majorité des cas reste localisée dans les quartiers nord et sud avec quelques cas près du centre ville et au sud-est où sont les quartiers résidentiels



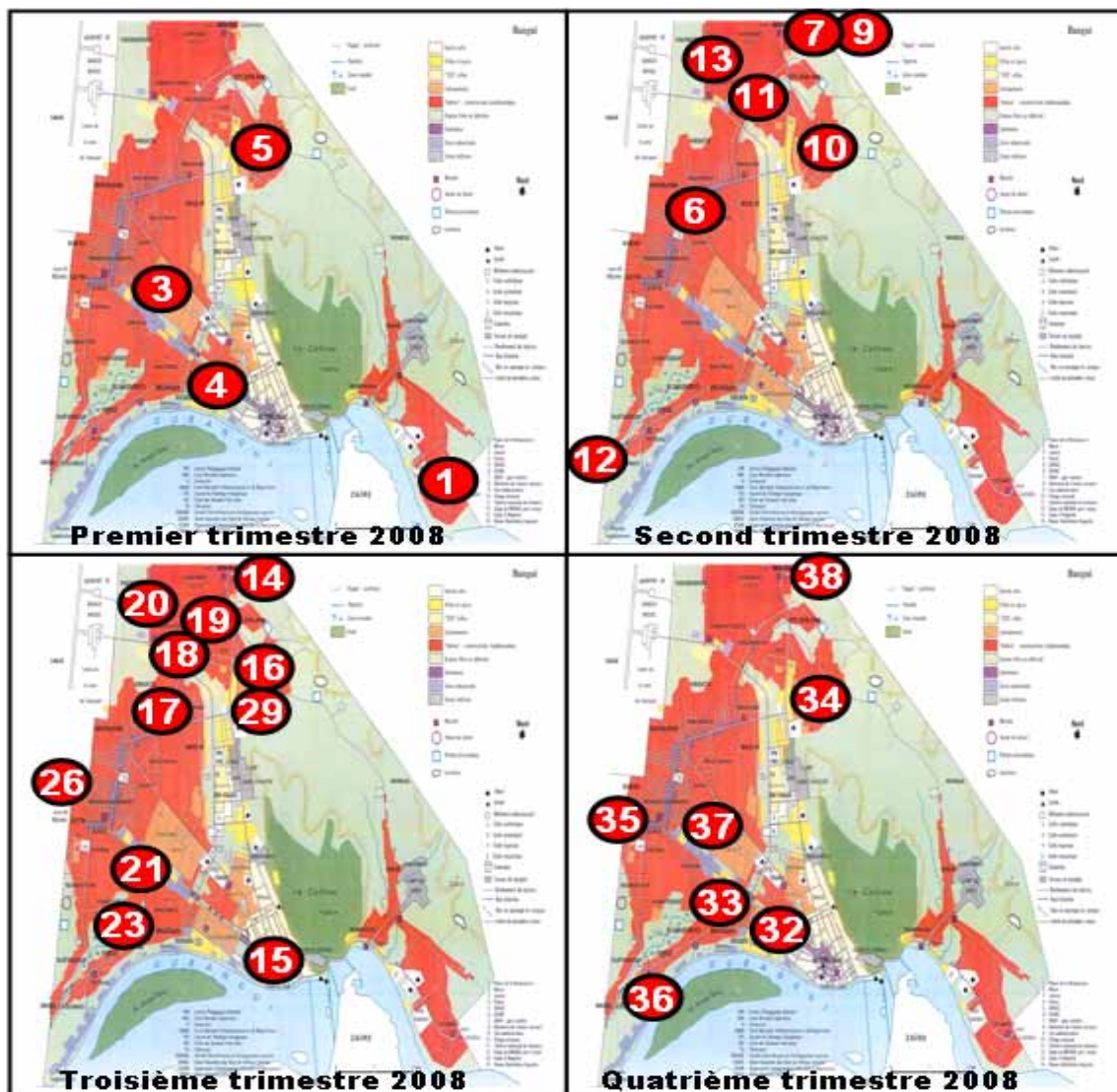
Les numéros représentent les cas de rage dans différents quartiers de la ville

Figure 16 : Répartition des de rage en 2007 à Bangui

L'année 2008 débute avec 4 cas au premier trimestre, 7 cas au second trimestre et 11 cas au troisième trimestre. Cette augmentation correspond au deuxième pic de l'enzootie. La distribution des cas observés au quatrième trimestre est de 7 animaux positifs, et est peu importante par rapport au troisième trimestre (figure 17, page 70). Donc l'enzootie qui s'est atténuée pendant le premier et le second trimestre, a connu un rebond au troisième trimestre avant de s'atténuer en fin d'année 2008.

Ici les cas sont 2 fois moins nombreux qu'en 2007 et disséminés. Cependant ils se concentrent également dans les quartiers nord et sud. Deux cas isolés ont été observés dans les quartiers résidentiels.

Notons que quelques cas ont été observés au début de l'année 2009 à Bangui.



Les numéros représentent les cas de rage dans différents quartiers de la ville

Figure 17 : Répartition des cas de rage en 2008 à Bangui

II.1.1.5 - Etude de la faune sauvage de la ville de Bangui

Les petits rongeurs et les chauves-souris, de différentes espèces, présents dans la ville, ont été capturés : 48 chauves-souris et 341 rongeurs ont été ainsi recueillis. La recherche du virus rabique à partir du cerveau de ces animaux a été négative.

II.1.2 - Rage humaine

II.1.2.1 - Répartition des prélèvements selon les résultats

De 2006 à 2008, 5 prélèvements humains ont été analysés au laboratoire : dont 1 en 2006, 3 en 2007 et 1 en 2008 (cf. figure 12, page 64).

Sur la totalité des prélèvements, un seul est négatif, c'est le prélèvement de 2008 (tableau IV, page 64), alors que 4 des prélèvements sont positifs : (2 cas en 2007, et 1 cas en 2006 et 2008). Les deux cas observés en février 2007 correspondaient à un enfant de Bangui et un adulte du nord du pays venu à Bangui. Tous les deux sont décédés rapidement après le diagnostic. Le cas de 2008 correspondait à un enfant mordu et non vacciné décédé en novembre 2008.

De manière globale, la rage humaine à Bangui a enregistré huit décès entre 2006 et 2008 : 1 cas en 2006, six cas en 2007 (3 cas non analysés au laboratoire) et un cas en 2008. Les victimes étaient des enfants et des personnes âgées.

Cependant des cas cliniques ont été rapportés mais sans qu'un prélèvement ait été fait et 4 suspicions de rage ont été posées en 2007 et 1 cas en 2008.

II.1.2.2 - Conséquences humaines de la rage canine

La figure 18 (page 72) indique que le nombre de personnes mordues et qui ont été consultées en 2006 (448) est plus faible que celui de 2007, alors que le nombre de personnes consultées en 2007 (707) est inférieur à celui de 2008 (727).

Par contre, le nombre de cas de rage canine notifié en 2007, est supérieur à celui de 2008.

La figure 18 montre une superposition du nombre des personnes mordues (consultées et vaccinées et du nombre des animaux positifs. Elle indique une variation croissante de 2006 à 2008 du nombre de personnes reçues au CTAR de l'IPB. Le nombre d'animaux positifs est croissant de 2006 à 2007. Par contre, une baisse est observée en 2007 - 2008.

En 2006, 67 personnes ont été vaccinées (vaccination volontaire, payante), en 2007, 538 et en 2008, 329. L'institut Pasteur de Bangui ne vaccine gratuitement contre la rage qu'en cas d'exposition (morsure par un animal suspect ou enragé), seulement depuis mai 2007. En effet, le nombre de vaccinations est plus élevé en 2007 (538) qu'en 2008 (329) du fait d'une exposition plus importante au risque. Un petit nombre de personnes (63) a été vacciné en 2006.

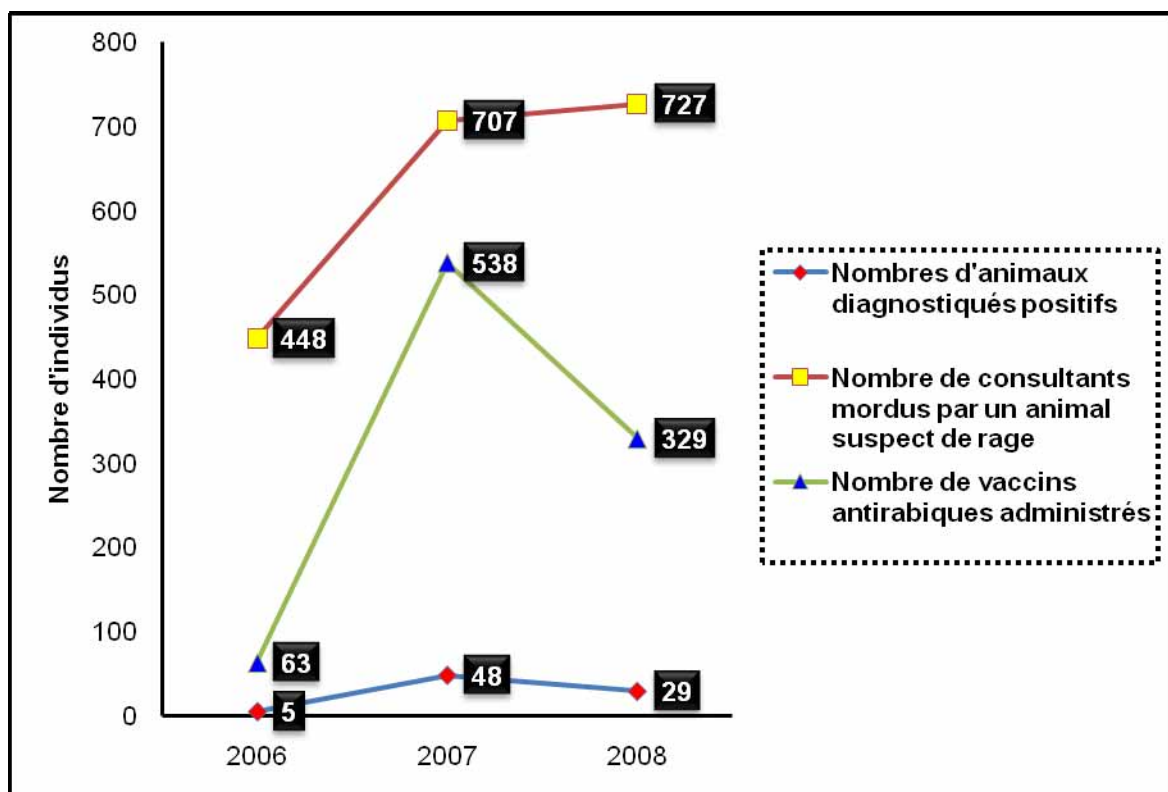


Figure 18 : Variation de nombre de personnes consultées et vaccinées, et du nombre des animaux positifs pour la rage de 2006 à 2008

II.2 - Résultats de biologie moléculaire

II.2.1 - Résultats de RT-PCR

Le génome du virus de la rage a été extrait à partir de 71 cerveaux d'animaux positifs et a été analysé positif (RT-PCR) pour 66 échantillons, soit 93% contre 7% des échantillons négatifs (tableau V).

Tableau V : Résultat global de la RT-PCR de 2006 à 2008

	Prélèvements positifs à l'IFD	Résultats RT-PCR	
		Positif	Négatif
Nombre	71	66	5
Pourcentage	100	93	7

II.2.2 - Résultats de séquençage

Le séquençage n'a été possible que pour 53 amplicons, ce qui représente 80,3 % des 66 souches amplifiées. Sur les 53 séquences, 50 sont exploitables alors que les 3 autres ne le sont pas.

II.2.2.1 - Analyse des séquences des souches isolées

Les séquences nucléotidiques obtenues à l'aide des amorces sens et anti-sens ont été alignées entre elles (figure 19, page 74).

Cette figure 19 montre que les deux séquences sens et inverse complémentaire appartenant à la souche BG1907 sont identiques. L'identité totale entre les séquences, correspond aux résidus ou nucléotides rouges.

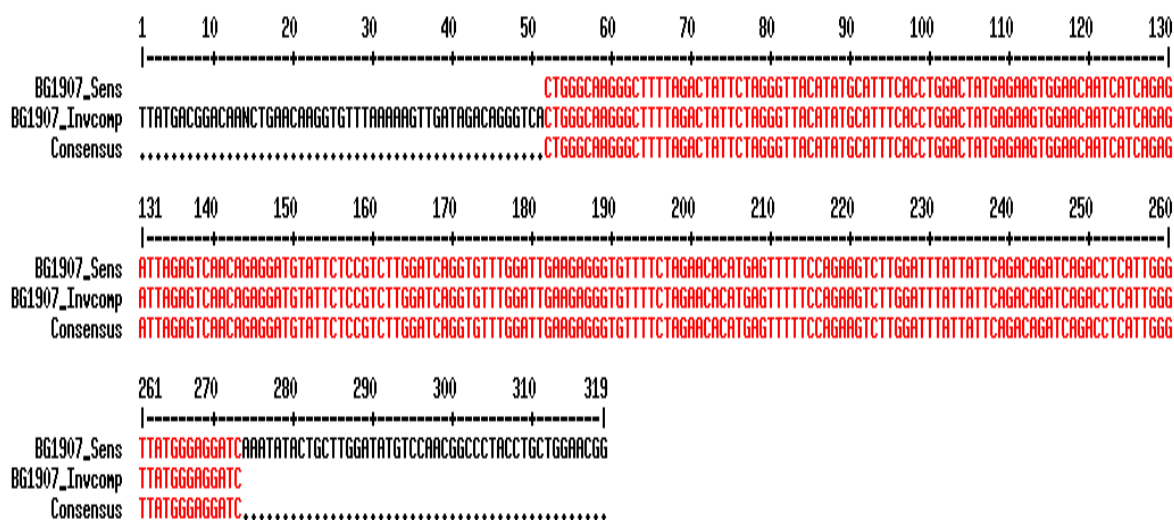


Figure 19 : Comparaison des séquences nucléiques de la souche BG1907 après inversion de la séquence antisens

Après vérification de la qualité des séquences nucléotidiques de chaque souche isolée à l'IPB (figure 19), les séquences de BG (exemple BG1907) et de la souche de référence PV sont ensuite alignés. Le pourcentage d'homologie entre la souche de référence PV et la séquence de la souche BG1907 est de 90 %, (figure 20).

Figure 20 : Comparaison de la séquence partielle de BG1907 à celle de la souche de référence

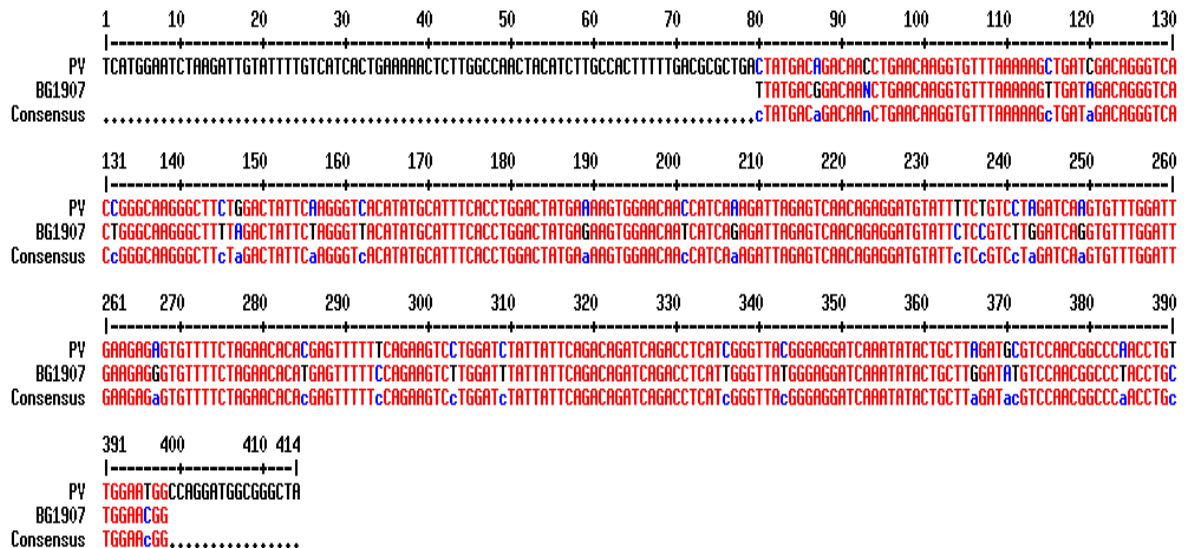
❖ Alignement multiple des séquences

En raison de similarité entre plusieurs séquences, en vue de faciliter l'analyse, nous n'avons pas inclus certaines séquences dans l'alignement.

Sur la figure 21 (page 76), le rouge indique le niveau de consensus élevé, le bleu correspond à un consensus moyen et le noir signifie un consensus faible entre les différents résidus des séquences BG et la séquence PV.

Seuls les nucléotides qui diffèrent de la souche de référence PV sont affichés. Les points indiquent des nucléotides identiques, le signe moins (-) indique les suppressions ou délétions de nucléotides et la lettre N représente une erreur.

La souche BG0206 présente seule une insertion d'une guanine, en position 311, qui reste à vérifier par une étude complémentaire. Les résidus 134 à 151, 171 à 184 et 273 à 283 sont conservés. Les séquences montrent 2 groupes de virus proches : les souches BG206 à BG2808 (lignes 2 à 10) d'une part et les souches BG1008 à BG3108 (lignes 11-15) d'autre part. Au sein de ces deux groupes des variations mineures existent entre ces souches. Ceci est bien mis en évidence dans le tableau



VI (page 78) où deux groupes d'homologie apparaissent bien distincts. Seule, la séquence (BD3108) est incomplète, elle n'a aucun effet sur l'alignement.

➤ **Caractéristiques des séquences obtenues**

La taille de la séquence partielle nucléique du gène L des isolats de Bangui varie entre 217 et 318 paires de bases (figure 21, page 76). L'organisation du segment partiel L de ces souches est identique à celle de la souche de PV.

Le tableau VI (page 78) déduit de l'alignement des séquences nucléotidiques de Bangui (cf. figure 21 page 76) permet d'observer une divergence qui varie de 9 % à 13 % par rapport à la souche de référence PV, soit 87 % à 91 % d'identité entre les différentes séquences BG et PV. Les séquences partielles du gène L des souches BG1008, BG1108, BG1608, BG2808 et BD3108 ont le taux de divergence le plus élevé (13 %) alors que la souche SN0606 a le pourcentage le plus faible (9 %).

Les différences obtenues entre les séquences partielles du gène L des souches de BG varient entre 1 % à 14 %. Ces pourcentages représentent le taux de divergences entre les quatorze séquences de BG et celle de BD3108.

Tableau VI : Homologie des séquences de nucléotides du gène L des virus rabiques isolés à Bangui

Séquences	PV	BG0206	SN0606	BG0107	BG1907	BG4807	CT0208	BG5707	BG3907	BG2608	BG1208	BG1008	BG1108	BG1608	BG2808	BD3108
PV	90	91	90	90	90	90	90	90	89	90	88	87	87	87	87	87
BG0206		98	99	99	98	99	98	98	98	99	98	89	89	90	90	89
SN0606			99	99	98	99	98	98	98	98	96	90	90	90	90	88
BG0107				99	99	99	99	99	99	99	96	90	90	90	90	88
BG1907					99	99	99	99	99	99	96	90	90	90	90	88
BG4807						99	99	98	98	98	96	91	90	91	90	89
CT0208							99	99	99	99	96	91	90	90	90	88
BG5707								99	98	98	96	91	90	90	90	88
BG3907									98	98	96	90	89	89	90	88
BG2608										96	96	90	90	91	91	88
BG1208												88	88	88	88	86
BG1008													99	99	99	98
BG1108														99	99	99
BG1608															99	99
BG2808																99
BD3108																

G = Bangui, CT = Carnot, BD = Bandoro, CT = Carnot, SN = Sosso-Nakombo, PV = Virus Pasteur et les chiffres indiquent le pourcentage d'homologie ou d'identité entre les différentes souches virales

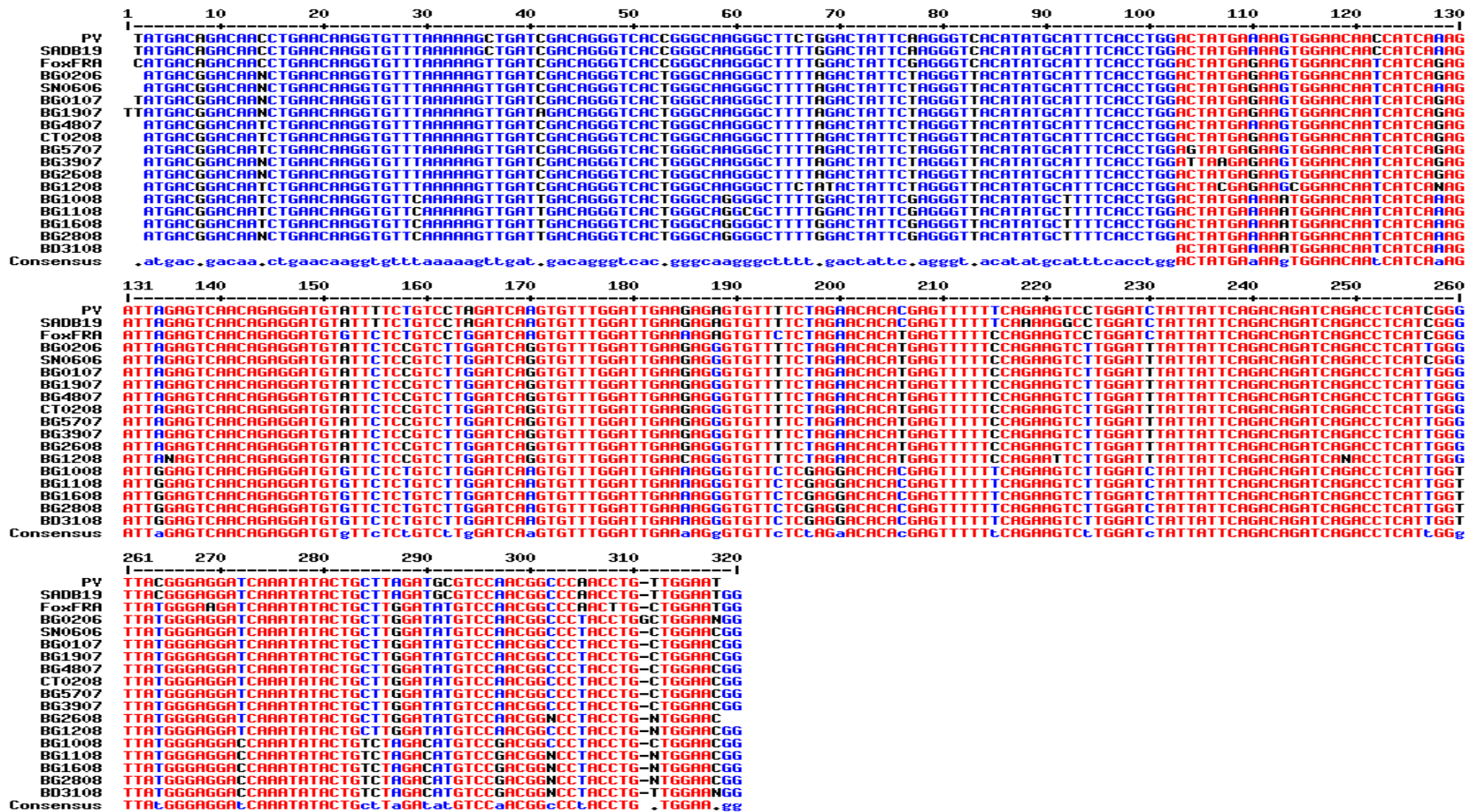
II.2.2.2 - Analyse phylogénétique des souches de virus rabiques étudiées

L'analyse phylogénétique permet d'établir d'une part la position phylogénétique de ces virus et d'autre part d'indiquer, si possible les différentes lignées. Les séquences partielles du gène L des virus rabiques isolés à Bangui ainsi que les trois autres virus rabiques de référence (PV, SAD19 et FoxFRA) extraits de GenBank, ont été alignées sous ClustalX (1.83) puis les régions présentant une ambiguïté ont été supprimées à l'aide du programme Gblocks (cf. matériel et méthodes) afin de servir à la construction de l'arbre phylogénétique.

L'arbre phylogénétique obtenu montre d'une manière globale trois grands groupes ou lignées bien distinctes : Le premier groupe est représenté par les lignées "Afrique 1". Ces lignées sont soutenues par une valeur de bootstrap de 97 % et sont constituées des souches de virus isolés à Bangui et provenant en majorité de la ville de Bangui (BG), de Carnot (CT) et de Sosso-Nakombo (SN). Rappelons que les souches CT et SN sont issues des localités situées dans le Sud-ouest de la RCA.

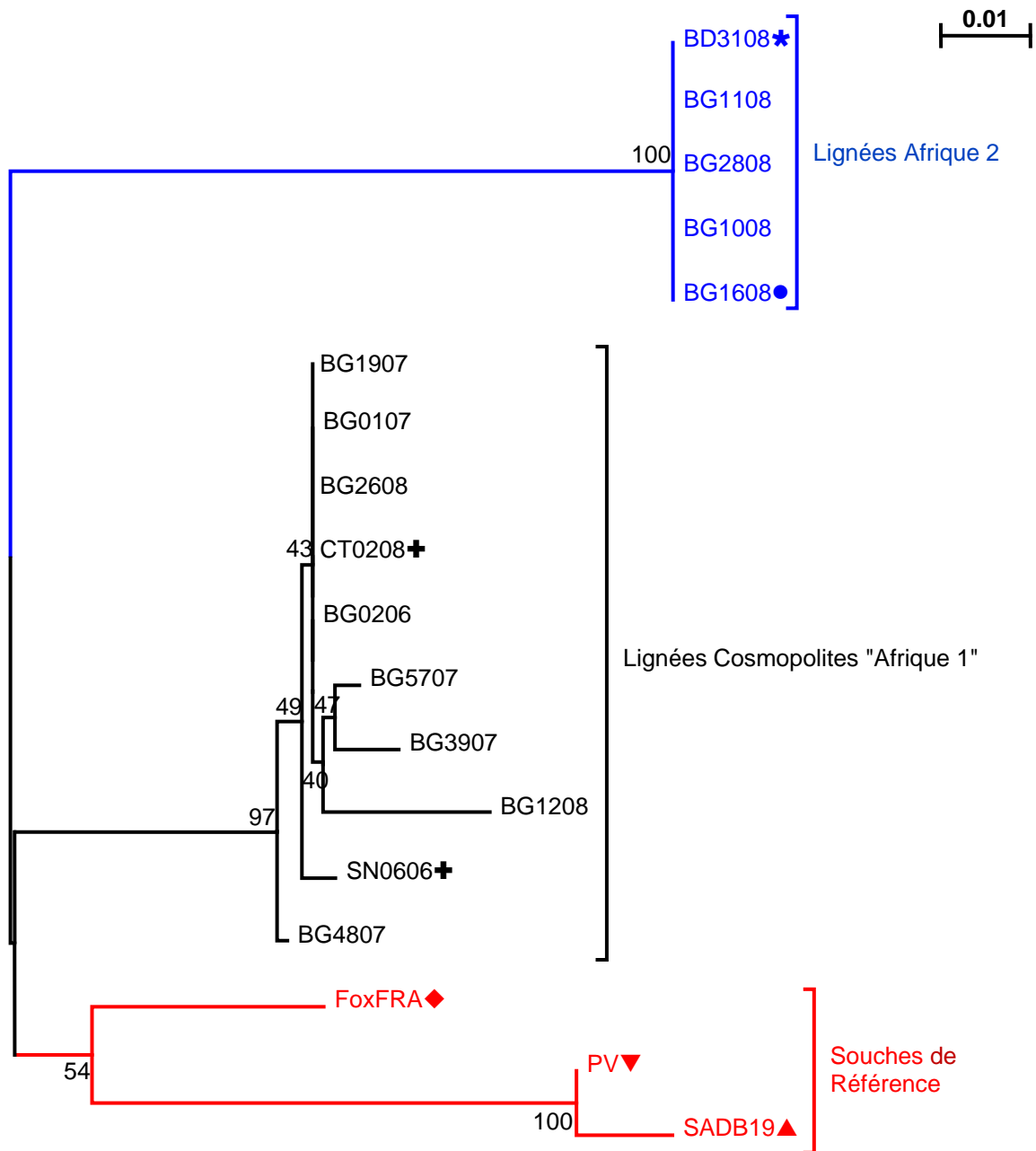
Le second groupe correspond aux lignées "Afrique 2" qui sont composées de cinq (5) souches, toutes de 2008. Ces souches proviennent de ville de Bangui à l'exception de la souche BD3108 qui est originaire de la localité de Bandoro située au nord de la RCA. Les lignées Afrique 2 sont soutenues par une valeur de Bootstrap de 100 %. Signalons que la souche BG1608 est d'origine caprine alors que toutes les autres souches sont d'origine canine. Les souches virales CT0107, SN0606 et DB3108 ont été incluses dans l'analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques des virus isolés à Bangui dans un but comparatif.

Le troisième groupe correspond aux souches de références que sont PV, SAD19 et du renard (FoxFRA). Les séquences des ces souches sont disponible sur GenBank. Les souches de référence sont quant à elles soutenues par une valeur de bootstrap de 54 %. Elles présentent cependant deux sous groupes à savoir le sous groupe FoxFRA et le sous groupe PV, SAD19 qui est soutenu par une valeur de bootstrap de 100 %.



BG = Bangui, CT = Carnot, BD = Bando, CT = Carnot, SN = Sosso-Nakombo, PV = Virus Pasteur, SAD = Street Alabama Dufferin, Fox FRA = Virus isolé chez un renard en France, le symbole (-) indique les suppressions et la lettre N représente une erreur

Figure 22: Alignement des séquences partielles de nucléotides du gène L de virus rabiques isolés à Bangui et de celles des souches de référence



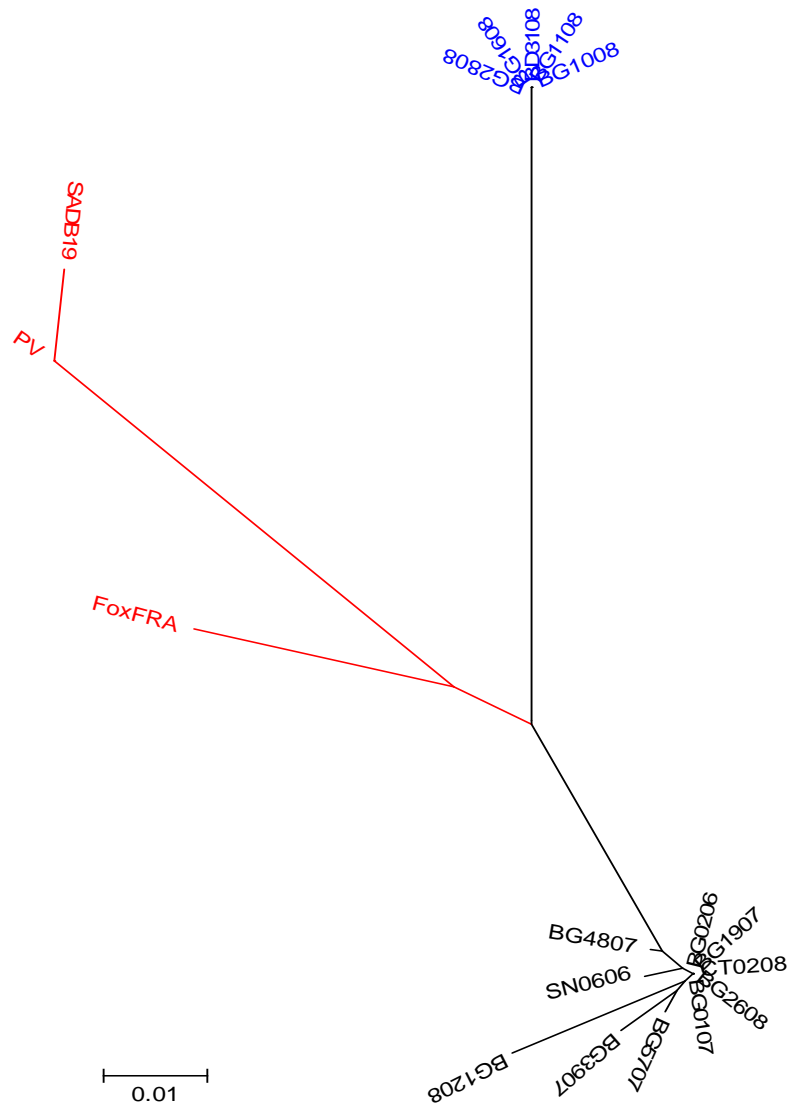
Arbre phylogénétique obtenu à l'aide des séquences partielles nucléotidiques du gène L par la méthode Neighbor Joining (NJ).

L'échelle des barres représente le pourcentage de substitution par site. Les nombres sur les nœuds sont les valeurs de Bootstrap et les valeurs inférieures à 40 % ont été supprimées ; BG (Bangui) : Sud de la RCA ; ● BG1608 : Souche caprine ; * BD (Bandoro) : Nord de la RCA ; + CT (Carnot) et SN (Sosso-Nakombo) : Sud-Ouest de la RCA ; ◆ FoxFRA : Renard, France ; ▼ SAD19 (Street Alabama Dufferin) : Amérique du Nord, souche vaccinale de SAD) ; ▲ PV (Virus Pasteur) : Europe, souche vaccinale.

Figure 23 : Arbre phylogénétique non enraciné

La figure 24 montre également une présentation radiale de l'arbre phylogénétique ci-dessous. Cet arbre indique la répartition en 3 groupes bien distincts des souches virales analysées.

En effet, elle confirme l'observation constatée au niveau de l'arbre phylogénétique non enraciné de la figure 23 (page 81).



Cet arbre exprime la relation phylogénétique entre les souches virales de Bangui.

Figure 24 : Arbre phylogénétique radiale

CHAPTRE III : DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS

I - DISCUSSION

I.1 - Lieu et période d'étude

La ville de Bangui a été retenue comme zone d'étude parce que, la grande partie des prélèvements provenaient de Bangui et de Bimbo, la ville périphérique. La proximité de la population de Bangui avec la clinique vétérinaire permet à la clinique de recevoir les animaux mordeurs suspects de rage. Cette relation de proximité se traduit d'une part par l'envoi des prélèvements au laboratoire de rage, et d'autre part, par l'envoi des personnes mordues au Centre de Prévention et de Traitement de la Rage (CPTR) de l'IPB.

La période d'étude de trois ans est peut être trop courte pour une meilleure description de l'épidémiologie de la rage à Bangui. La durée de notre étude est différente de celle effectuée par BINGA sur l'épidémiologie de la rage à Bangui sur la période de 1976 à 1987 [11]. Malgré la durée d'étude courte, les trois années nous ont permis d'effectuer une caractérisation des virus rabiques identifiés à IPB au cours de la même période.

I.2 - Rage animale

La figure 11 (page 63) montre que les chiens sont la première espèce victime de rage, car 93.2 % des prélèvements sont d'origine canine. Cette situation est comparable à celles décrites par BINGA [11] et par MORVAN et *al.*, [68]. Ces auteurs avaient trouvé respectivement que 97.19% et 84 % des échantillons reçus étaient composés de chiens mordeurs et suspects de rage.

Notre résultat peut être comparé aussi aux résultats constatés en Côte - d'Ivoire où des cerveaux de chien représentaient 74.3 % de prélèvements reçus au laboratoire [85].

Sur la totalité des prélèvements examinés, 83.5 % sont positifs ; ce résultat est proche de ceux observés par d'autres auteurs : 98.35 % à Bamako [43], 90 % en Côte-d'Ivoire [85], 64.74 % et 59 % à Bangui [11], [47].

La figure 13 (page 65) indique que 81(94,2 %) cas de chiens positifs. Cela confirme que les chiens constituent l'espèce principale dans la transmission de la rage. Cette forte prévalence de la rage chez les chiens est comparable de celles signalée à Bamako (95.97 %) [43] et relativement proche de celle observée à Bangui (97.76 %) [11]. Par contre, notre résultat est relativement élevé par rapport au constat de CLIQUET *et al.* , qui est de 75% [29]. Le nombre élevé des chiens enrégés justifie le fait que l'espèce canine est la plus sensible et plus impliquée dans les différents cycles épidémiologiques de la rage. Le chiffre de 81 est sous estimé et peut être multiplié par 2, puisque tous les cas de rage animale ne sont pas toujours signalés par la population aux services vétérinaires en RCA [11], [94] ; comme par exemple dans certains pays : dont le Madagascar [68], [78], le Sénégal [67], la Côte d'Ivoire [85], [86], le Cameroun [60], et l'Angola [29]. Cela peut se justifier par le manque d'information et de sensibilisation de la population sur le danger que représente la rage en santé publique [42]. De plus, dans ces pays, les données épidémiologiques sont rares [42]. Cette rareté s'explique par le fait que les autorités politiques n'accordent pas assez d'importance à la rage lorsqu' il y'a d'autres problèmes prioritaires de santé publique tels que le SIDA, le paludisme et la tuberculose qui viennent occulter la gravité de cette zoonose majeure [29].

Le chien est l'espèce la plus infectée par le virus rabique à Bangui, pour des raisons multiples parmi les quelles : l'architecture des quartiers populaires, le fait que la majorité des chiens ne soient pas à l'attache et l'absence totale de clôtures et parfois même de limites entre les parcelles font que le contact entre les bêtes est inévitable. Les propriétaires des chiens, très pauvres le plus souvent, ne peuvent pas les nourrir et les laissent libres dans leur déplacement. Les propriétaires, plus sensibles ne sollicitent les services vétérinaires que très tardivement lorsque le chien est très malade, et là encore, il y a des réticences quant à l'achat des médicaments. Pour compléter leur ration, ces chiens se retrouvent tout naturellement dans les nombreux marchés de la ville, les décharges publiques et autour des poubelles.

Ces regroupements sont des occasions de disputer la nourriture et de véritables bagarres. Il en est de même autour des chiennes en chaleur.

L'analyse de la figure 14 (page 66) montre que sur l'ensemble des animaux positifs 53 sont de sexe mâle (61.6 %), alors que 33 des animaux malades sont des femelles soit 38.4 %. Cette situation s'explique par le regroupement des chiens autour des femelles en chaleur. La bagarre entre les chiens représente le facteur déterminant dans la transmission de l'agent pathogène entre les mâles [11].

Les figures 15, 16 et 17, (Pages 67, 68 et 70) montrent la répartition de la rage dans la ville de Bangui de 2006 à 2008. Nos résultats correspondent à ceux rapportés par BINGA [11]; celui-ci décrit également que la rage canine est majoritairement localisée dans les quartiers populaires et la banlieue où la structure de l'habitation et l'ignorance, la pauvreté ou la négligence des propriétaires sont à l'origine de la divagation des animaux dans ces quartiers où nous trouvons une population importante de chiens errants. Cependant quelques cas ont encore été observés en 2009 dans la ville.

Au cours de notre étude, nous avons envisagé de rechercher les principaux réservoirs sauvages de la rage à Bangui. Les rongeurs (rat, souris et musaraigne) peuvent transmettre la rage [11], Nos résultats sont différents de ceux rapportés par BINGA [11], qui a rapporté qu'au Maroc, il a été établi avec certitude le rôle du rat dans la transmission de la rage. Cependant, nos résultats sont comparables à ceux constatés en Tunisie. En effet, BINGA rapporte [11] qu'il n'y avait pas eu de preuve de l'existence de la rage chez les rats. Au moins 10 cerveaux des chauves-souris ont été analysés à la PCR, les résultats étaient tous négatifs.

Les résultats obtenus et discutés nous permettent de dire que la technique l'IFD reste l'une des meilleures méthodes de diagnostic rapide permettant d'obtenir des résultats fiables pour une étude d'épidémiologique de la rage. Cette méthode a été utilisée dans l'étude de la rage en Côte-d'Ivoire [85], au Mali [43] et à Madagascar [68]. Elle est l'une des techniques recommandées par l'OMS et l'OIE [20].

I.3 - Rage humaine

La répartition des prélèvements humains examinés de 2006 à 2008, permet de constater que l'année 2007 est la plus meurtrière. La prise de conscience de la population vis-à-vis du danger que représente la rage a permis de passer de 4 cas diagnostiqués positifs en 2007 à 1 cas en 2008. Ces chiffres ne reflètent pas vraiment la réalité du fait que tous les cas de rage humaine ne sont pas toujours rapportés aux autorités sanitaires en Tanzanie [27].

Cette situation est comparable à celle observée à Bangui : 5 cas entre 1985 à 1987 par BINGA, 1 cas en 1986 et en 1987 [11]. La même situation prévaut également dans certains pays comme le Sénégal [40], [67], [73] ; la Côte - d'Ivoire [85], le Mali [43] et en Angola [29] ; dans ces pays, le nombre de cas humains est faible par rapport à ce que nous avons trouvé.

La figure 18 (page 72) montre à quel point la rage canine constitue un problème de santé publique, car elle est à l'origine de blessures contaminantes pouvant conduire à la mort d'homme, si aucune mesure de prophylaxie n'est mise en place [119]. En effet, nous constatons une grande différence entre le nombre des animaux mordeurs positifs au diagnostic expérimental et le nombre des personnes mordues consultées. Cette différence peut s'expliquer par le fait qu'un chien enragé mord plusieurs personnes et de plus la majorité des chiens enragés ont des propriétaires connus. En outre, les personnes peuvent être victimes des carnivores non retrouvés [28].

Ces observations sont comparables à celles rapportées par d'autres auteurs [11], [67], [73] et [43]. Cependant, le nombre croissant des personnes consultées de 2006 à 2008 s'explique d'une part par la vaccination antirabique rendue gratuite chez les personnes mordues par un animal diagnostiqué positif. Et d'autre part, par la prise de conscience de la population qui n'hésite pas à se présenter à la clinique vétérinaire en cas de morsures.

La majeure partie de la population ignore totalement le rôle du chien dans la dissémination de la rage et du danger que représente cette maladie. Il faut le plus souvent l'intervention heureuse d'une personne avertie, pour conseiller une consultation à un individu mordu. Mais, il n'est pas rare qu'un mordu ne tienne pas

compte de ce conseil par négligence. Il trouve un arrangement à l'amiable avec le propriétaire du chien qui lui procure des médicaments pour la cicatrisation de la plaie et de l'argent pour le consoler [11].

La différence entre le nombre de personnes consultées et le nombre de personnes vaccinées (qui ont reçu les trois doses) s'explique par le fait que seules les personnes ayant été mordues par un carnivore déclaré positif au diagnostic expérimental ou en fuite, reçoivent les trois doses de vaccin antirabique. Cette différence est due aussi à l'abandon par les consultants du traitement post exposition ou de l'arrêt du traitement après diagnostic négatif pour la rage, de l'animal mordeur.

I.4 - Biologie moléculaire

Soixante six isolats de virus de la rage à Bangui ont été examinés en PCR et 71 à l'IFD. En effet, la PCR est reconnue très sensible, et pourtant 5 des 71 isolats positifs à l'IDF se sont avérés négatifs en PCR. Cette situation peut s'expliquer par la dénaturation de l'ARN viral due à une mauvaise conservation après le diagnostic direct en immunofluorescence. Dans la réalisation de la PCR, nous avons utilisé les amorces PVO5 et PVO6 pour l'amplification et le séquençage de la région cible. Cela est comparable à la méthode employée par BOURHY et *al.*, en 2005 [19]. Après séquençage, nous n'avons pu analyser que 50 séquences sur 66 échantillons amplifiés, ce qui peut s'expliquer par l'absence de l'ADN dans la préparation pour PCR.

La comparaison issue de l'alignement des séquences de BG1907 avec la souche PV (figure 19, page 74) nous a permis de constater que les séquences des virus étudiés ont une grande homologie avec celle de la souche de référence. Cette identité est une preuve que nos séquences proviennent des virus de la rage.

L'alignement multiple des séquences d'étude (cf. figure 21, page 76) montre des zones faiblement, moyennement et hautement conservés. Cette variation entre les séquences de souches BG et la séquence de virus PV se traduit par une substitution ou une délétion de certains nucléotides subie par les isolats de BG. Cette situation est également comparable aux résultats obtenus en Afrique du Sud [108]. Les séquences partielles du gène L des virus de BG ont une taille qui varie entre 217 et

318 paires de bases. Dans notre étude, la taille attendue lors de l'électrophorèse sur le gel d'agarose est de 300 paires de bases. Cette taille est proche de celle obtenue par BOURHY et *al.*, [15] qui est de 317 paires de bases (Pb). Une seule séquence (BD3108) a une longueur de 217pb. Ceci est sans doute dû à une délétion mais il faudrait obtenir d'autres isolats présentant la même caractéristique pour confirmer ce résultat et savoir si cette souche circule dans le pays.

La divergence observée entre les séquences partielles du gène L des virus de BG et celle de la souche de référence PV (Tableau VI, page 78) va de 9% à 13 %. Les souches BG1008, BG1108, BG1608, BG2808 et BD3108 ont le taux de divergence le plus élevé (13 %) alors que la souche SN0606 a le pourcentage le plus faible (9 %). Ces chiffres expliquent la différence existant entre les nucléotides des virus de BG par rapport à la souche PV. Ils peuvent aussi traduire la distance qui existe entre les virus circulant à Bangui et le virus pasteur (PV). Des divergences similaires ont été observées à travers l'étude d'épidémiologie moléculaire des virus rabiques en Afrique du Sud [108].

L'alignement (figure 21 page 76), nous a également permis de constater que le taux de divergence entre les souches partielles du gène L des isolats de Bangui varie de 1 % à 14 %, entre les quatorze autres séquences de Bangui et celle BD3108 de Bandoro (Tableau VI page 78). Ces taux observés sont comparables au taux de divergence le plus élevé constaté par VON TEICHMAN et *al.*, chez les différentes espèces animales étudiées en Afrique du Sud [108].

Les lignées "Afrique 1" et "Afrique 2" sont différentes sur le plan phylogénétique. Cette répartition est renforcée par les souches CT0208 (CT : Carnot) et SN0606 (SN : Sosso Nakombo) qui ont pour origine les localités du sud-ouest de la RCA. Alors que la souche BD3108 (BD : Bandoro) provient du nord du pays [95].

Nos résultats nous témoignent de la présence en République Centrafricaine, plus particulièrement à Bangui, de ces deux lignées Afrique 1 et 2 qui circulent. Ces résultats confirment ceux de certains auteurs [19], [35], [36], [58], [71].

La présence des lignées cosmopolites en RCA est connue, alors que celle des lignées Afrique 2 n'était pas prouvée, il fallait attendre les travaux effectués par

TALBI et *al.*, [95] pour se rendre compte de la présence d'une souche de lignée Afrique 2 isolée en 2007 et localisée au nord du pays précisément à Bossangoa.

Nos résultats (les figures 23 et 24, pages 81 et 82) confirment la présence des lignées Afrique 2 au nord de la RCA avec la souche BD3108 provenant de cette partie du pays. Ces souches Afrique 2 ont été identifiées en 2008 chez les chiens, une année après l'identification de la souche de Bossangoa par TALBI et *al.*, [95].

La circulation des lignées Afrique 2 à Bangui est due peut être à une mutation génétique subie par les lignées Afrique 1. Mais l'hypothèse la plus probable est le flux migratoire des personnes et des animaux du nord du pays vers Bangui la capitale. Il peut aussi s'agir de virus provenant des pays d'Afrique occidentale et du Tchad [20], [95].

Les séquences obtenues ne permettent pas une étude fine de l'augmentation des cas en 2007. Les séquences étudiées sont peu variables puisque qu'elles diffèrent peu au sein d'une lignée. Pour suivre l'évolution du virus au cours du pic enzootique, il conviendrait d'utiliser une région du génome correspondant à une structure moins stable. Par exemple le gène G est un bon candidat car en général les glycoprotéines d'enveloppe virale peuvent varier dans leur séquence sans nuire ni à leurs propriétés biologiques ni à leur structure antigénique (les régions correspondantes sont conservées mais le reste de la protéine peut varier de façon importante).

Une étude ultérieure permettra de suivre l'extension des souches de virus dans la ville et pourrait contribuer à la détermination de leur origine de provenance.

Au terme de cette étude moléculaire des virus rabiques circulant à Bangui, nous pouvons dire qu'elle pourra contribuer à l'amélioration de données épidémiologiques disponibles en vue d'une lutte efficace contre cette infection. Dans une moindre mesure, les méthodes moléculaires seront employées à moyen et long terme dans le diagnostic de confirmation de la rage humaine.

Les résultats de cette étude, nous permettent de formuler des recommandations à l'intention des autorités étatiques ainsi qu'aux différents acteurs qui interviennent dans la lutte et la prévention de cette zoonose redoutable.

II - RECOMMANDATIONS

La rage est une zoonose majeure qu'il faut à tout prix combattre par l'adoption de stratégies nouvelles pour un meilleur contrôle et une lutte efficace. Car la lutte contre la rage est manifestement insuffisante en RCA.

Il convient donc au terme de notre étude de soumettre aux autorités sanitaires et municipales, et aux propriétaires des carnivores domestiques des recommandations.

II.1 - Aux autorités étatiques en charge de la santé animale et humaine

Nous recommandons :

- d'inscrire la rage sur la liste des maladies à surveillance épidémiologique ;
- d'organiser des opérations de sensibilisation sur la rage dans tout le pays afin d'éveiller la conscience des personnes sur l'importance de la maladie et la nécessité de la déclaration des cas de morsure ;
- de vulgariser les messages de prévention sur la rage des carnivores en Sango et en français par le biais des médias (radio et télévision) ;
- de promouvoir la vaccination des chiens domestiques en subventionnant le coût et en multipliant les lieux de fournitures des vaccins en zone urbaine et rurale afin de permettre aux propriétaires de carnivores domestiques les plus démunis d'y avoir accès ; cela n'est possible qu'à travers des partenariats avec des bailleurs de fonds ;
- d'organiser annuellement des campagnes de vaccination de masse des chiens domestiques. Ces types de campagne ont été réalisés au Pérou et en Colombie par CHOMEL *al.*, [24], [25], en Tunisie par HADDAD et *al.*, [50] [51], par SEGHAIER et *al.*, [84] et à Pikine au Sénégal par LEYE [62] et MBOU [65]. Les chats domestiques devront autant que possible être associés à cet effort de vaccination.
- d'organiser des campagnes d'abattage des chiens errants dans l'ensemble de la ville et de Bimbo, car ceux-ci véhiculent le virus rabique. Les chiens qui ne seront pas atteints par cette lutte physique seront vaccinés par voie orale à l'aide d'un vaccin vivant confectionné sous forme d'appât [92]. Cette technique
- a été utilisée lors des campagnes de lutte contre la rage du renard [75].

- de améliorer les conditions de la mise en observation des animaux mordeurs en mettant à la disposition des vétérinaires praticiens les moyens matériels et financiers nécessaires;
- de créer un programme national de lutte intégrée contre la rage en RCA associant médecins et vétérinaires ou santé animale et santé humaine, pour mieux élaborer les stratégies de prévention et de lutte contre cette zoonose :
- de former le personnel de santé sur la prise en charge des personnes mordues ;
- de subventionner le coût du traitement antirabique post-exposition en partenariat avec l'OMS et l'IPB ;

II.2 - Aux autorités de l'Agence Nationale de Développement d'Elevage (ANDE)

Nous recommandons :

- d'établir une collaboration étroite entre les médecins et les vétérinaires sur le terrain pour de meilleurs résultats dans la lutte contre la rage ;
- d'inciter tous les propriétaires des carnivores domestiques à vacciner leur chien ;
- de sensibiliser la population à amener les chiens mordeurs pour la mise en observation ;
- d'empêcher la population d'abattre les chiens mordeurs, mais si cela arrivait, leur demander d'amener les cadavres pour diagnostic de laboratoire ;
- de maintenir en permanence des équipes spécialisées dans la capture et la destruction des chiens errants tant dans les milieux urbains que ruraux ;

II.3 - Aux services administratifs de gestion et de la santé humaine

Nous suggérons :

- D'accroître l'accessibilité géographique et financière du traitement antirabique après contamination afin de rendre disponible les sérums et les vaccins antirabiques à usage humain dans les pharmacies ;
- d'impliquer dans la lutte contre la rage, les points focaux des structures sanitaires de chaque centre hospitalier ;

- d'établir une collaboration étroite entre les médecins et les vétérinaires sur le terrain pour de meilleurs résultats dans la lutte contre la rage ;
- de faire des vaccinations préventives obligatoires aux personnels de laboratoire et des agents de terrains ;

II.4 - Aux autorités de la municipalité de la ville de Bangui

Nous recommandons :

- d'informer et de sensibiliser la population de la ville de Bangui et de la commune Bimbo sur la maladie et commencer cette sensibilisation très tôt au niveau des écoles primaires et collèges ;
- d'informer la population du danger que représentent les chiens errants occasionnels ou permanents ;
- d'éliminer les carnivores domestiques errants dans la ville à travers des campagnes d'abattage.

II.5 - Aux propriétaires des carnivores domestiques

Nous recommandons :

- de vacciner leurs carnivores domestiques et de bien s'en occuper ;
- d'amener les animaux mordeurs chez le vétérinaire pour la mise en observation.

II.6 - Collaboration entre les médecins et les vétérinaires

Une étroite collaboration entre les médecins et les vétérinaires est indispensable pour une lutte efficace contre la rage. Pour ce faire, une coordination des services des ministères concernés (Ministère de la Santé Publique et de la Lutte contre le Sida et le Ministère du Développement Rural) assurée par la directeur de la santé animale de l'ANDE (Agence National Développement d'Elevage) et la direction de la santé publique.

CONCLUSION GENERALE

La rage est une zoonose majeure due à un virus neurotrope du genre *Lyssavirus*. Elle se caractérise cliniquement, après une longue période d'incubation, par le développement d'une encéphalomyélite aiguë avec des signes nerveux variés diversement associés, évoluant vers une paralysie précédant de peu la mort.

Les premières observations des symptômes de la rage consignées par écrit remontent à l'Antiquité et la première vaccination antirabique a été pratiquée il y a 124 ans en 1885 par Louis Pasteur.

Cette pathologie reste un problème sérieux de santé animale et de santé publique dans de nombreux pays du monde et particulièrement dans les pays en voie de développement.

En République Centrafricaine comme dans bien de pays d'Afrique subsaharienne, les données à l'échelle nationale sur les aspects épidémiologiques de la rage sont rares, pour la simple raison qu'il n'y a pas assez d'études initiées dans ce domaine. A cela, s'ajoute le manque de volonté politique claire des autorités pour lutter contre la rage. En plus, les caractéristiques des virus rabiques circulant dans le pays et à Bangui en particulier, ne sont pas connus.

C'est dans ce cadre que cette étude sur l'épidémiologie de la rage et les aspects moléculaires du virus rabique à Bangui au cours de la période 2006 à 2008 a été initiée.

Au terme de notre étude rétrospective et prospective de 2006 à 2008, nous avons pu analyser : des prélèvements et des données récoltées dans les registres de laboratoire et du Centre de Prévention et de Traitement pour la Rage (CPTR) de l'Institut Pasteur Bangui (IPB). Il ressort de cette étude que :

➤ **Sur le plan de la rage animale ;**

Le chien est l'espèce animale victime de la rage car 93.2 % des prélèvements viennent des chiens ;

La totalité des prélèvements animaux analysés à l'immunofluorescence directe (IFD) sont positifs, ce qui a permis d'avoir 83.5 % de cas de rage positifs.

L'analyse des données montre que les mâles sont plus infectés que les femelles, 61.6 % de mâles contre 38.4 % de femelles.

La distribution de la rage à Bangui s'étend à tous les quartiers de la ville en majorité les quartiers populaires, avec des chiens souvent laissés à l'abandon, et non vaccinés. Par contre, dans les quartiers aisés, les concessions sont closes et les chiens souvent attachés. Ceci explique le faible nombre de cas dans le centre ville et à l'est le long du fleuve où s'étendent les quartiers résidentiels.

Aucun réservoir sauvage n'a pu être mis en évidence.

➤ **Sur le plan de la rage humaine**

Sur la période d'étude, quatre cas de rage humaine ont été confirmés à l'immunofluorescence directe (IFD) sur 5 prélèvements reçus. Ce nombre est relativement faible. La mise en place du Centre de Prévention et de Traitement de la Rage à l'Institut Pasteur de Bangui pourrait jouer un rôle dans la limitation des cas humains à cause du traitement antirabique systématiquement administré aux personnes mordues qui se font consulter.

La rage canine est un sérieux problème de santé publique en République Centrafricaine (RCA) car, elle cause chaque année des centaines de morsures qui coûtent chères à la population sur le plan de la prise en charge médicale et vaccinale.

Il existe une sous-déclaration de cas de rage due au manque de sensibilisation de la population, la pauvreté et l'éloignement ou l'absence des centres de santé adaptés.

➤ **Sur le plan de la biologie moléculaire**

Les techniques moléculaires ont été utilisées à l'Institut Pasteur de Bangui (IPB) pour la caractérisation de virus rabiques isolés.

Les virus rabiques isolés à Bangui appartiennent à deux lignées : "Afrique 1" et "Afrique 2" retrouvées dans de nombreux pays d'Afrique de l'ouest et au Cameroun. Pour une meilleure efficacité de la lutte contre cette zoonose à Bangui, nous recommandons :

- **Aux autorités étatiques de la santé animale et humaine**

- d'inscrire la rage sur la liste des maladies à surveillance épidémiologique afin que tous les cas de morsures d'animaux et de rage soient enregistrés et déclarés.
- d'organiser des formations de pratiques pour le personnel soignant (prise en charge thérapeutique, diagnostic, conduite à tenir, élaboration d'une brochure).
- d'organiser des journées de sensibilisation sur la rage afin d'éveiller la conscience des personnes sur l'importance et le danger de la maladie.
- de vulgariser les messages de prévention dans les différentes langues locales par le biais des grands médias (journaux, radios rurales et télévisions) ; l'information sur le terrain (centres de santé, organismes locaux de tous ordres, lieux de rassemblement, etc.).
- de rendre fonctionnel les laboratoires régionaux d'élevage et de recherches vétérinaires.
- de promouvoir la vaccination des chiens domestiques en subventionnant le prix des vaccins.
- d'organiser annuellement des campagnes d'abattage des chiens errants dans l'ensemble dans la ville et de contrôler la population canine errante ;
- d'accroître l'accessibilité géographique et financière du traitement antirabique afin de rendre disponible les sérums et les vaccins antirabiques à usage humain dans les pharmacies de médecine humaine ;
- de former le personnel de santé sur la prise en charge des personnes mordues ;
- de subventionner le coût du traitement antirabique post-exposition en partenariat avec l'OMS et l'Institut Pasteur de Bangui (IPB) ;

- **Aux autorités de l'Agence Nationale de Développement d'Elevage**

- Etablir une collaboration étroite avec les médecins en mettant en place un réseau pour la lutte contre la rage afin d'avoir un meilleur suivi des personnes mordues par les animaux suspects de rage.

- **Aux services administratifs de gestion et de la santé humaine**

- d'impliquer dans la lutte contre la rage, les points focaux des structures sanitaires de chaque centre hospitalier ;
- de participer à la prise en charge des personnes mordues par des animaux suspects de rage en subventionnant le coût du traitement antirabique post-exposition ;
- d'établir une collaboration étroite entre les médecins et les vétérinaires sur le terrain pour de meilleurs résultats dans la lutte contre la rage ;

- **Aux autorités de la municipalité de la ville de Bangui**

- d'informer et de sensibiliser la population de la ville de Bangui et de la commune de Bimbo sur le danger de la maladie et ceci très tôt au niveau des écoles primaires et collèges ;
- d'informer la population sur le risque que représentent les chiens errants;
- de mettre en place un programme annuel de contrôle de la population des chiens et chats errants.

- **Aux propriétaires des carnivores domestiques**

- de vacciner leurs carnivores domestiques et de bien s'en occuper ;
- d'amener les chiens chez le vétérinaire pour la mise en observation lorsqu'il mord quelqu'un et la mise en place des mesures prophylactiques.

Ces recommandations ne sauraient être efficaces sans une étroite collaboration entre les vétérinaires et les médecins sur le terrain pour une meilleure prise en charge des personnes mordues par les animaux suspects de rage.

Nous interpellons les autorités étatiques en charge de la santé animale et humaine pour qu'ils mettent en place des études supplémentaires portant sur l'étendue du territoire Centrafricain en vue d'améliorer les données épidémiologiques disponibles. Car il n'y a pas assez de données disponibles sur les rages animale et humaine concernant l'ensemble de la République Centrafricaine (RCA).

BIBLIOGRAPHIE

1 - AKAKPO A. J., 1985

Le chien dans la société noire africaine : un réservoir de rage.

In: «Rabies in the tropics».- E. Kuwert et coll. Ed. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg-786 p

2 - AKAKPO A. J. et BADA-ALMBEDJI R., 2001

Aspects épidémiologiques et cliniques de la rage animale au Sénégal. Communication journée Rage, Institut Pasteur, Dakar

3 - AKAKPO A. J. et BORNAREL P., 1982

Epidémiologie de la rage en Afrique de l'Ouest.

Xème journées médicales de Dakar, janvier, 1982.

4 - AKAKPO A. J., NDIAYE A. L. et SALUZZO J., 1984

La rage en Afrique de l'ouest : un problème de santé publique d'actualité
Médecine d'Afrique noire, **31** (5) : 275-282.

5 - ATANASIU P., 1982

Rôle de l'interféron dans l'immunité anti-rabique.

Comp. Immun. *Microbiol. Infect. Dis*, **5** (1-3) : 123-127

6 - ATANASIU P. et GAMET A., 1975

Le virus rabique en culture cellulaire, sa multiplication et ses constituants biochimiques.

Bull. Inst. Pasteur, **73** : 25-32 .

7 - ATANASIU P., LEPINE P. et SISMAN J., 1969

Réplication du virus rabique fixe et du virus des rues chez le souriceau nouveau-né.

C.R. Acad. Sc. Paris, **269** (D): 1226-1229.

8 - BADRANE H., BAHLOUL C., CASTIGNOLLES N., CHAMBERT B., GONTIER C., JACOB Y., KOUZNETZOFF A., LE MERCIER P., MORGEAUX S., PERRIN P. et TORDO N., 1995

Génétique moléculaire et vaccinologie des Lyssavirus.

Ann. Inst. Pasteur, actualités, **6** (2) :110-124.

9 - BAHLOUL C., JACOB Y., TORDO N. et PERRIN P., 1998

DNA-based immunization for exploring the enlargement of immunological cross-reactivity against the lyssaviruses.

Vaccine, **16** (4): 417-425.

10 - BANERJEE A.K., 1987

Transcription and Replication of Rhabdoviruses.

Microbiol. Rev., **51** (1) : 66-87.

11 - BINGA J., 1989

La rage à Bangui (République Centrafricaine) : Epidémiologie et prophylaxie.

Thèse : Méd. Vét : Dakar 7.

12 - BLANCOU J., 1985

Rage animale de Pasteur à nos jours : évolution de son épidémiologie et de sa prophylaxie.

Bull. Acad. Vét. France, **31** (5): 285-288.

13 - BLOUGH H.A., TIFFANY J.M. et AASLESTAD H.G., 1977

Lipids of Rabies Virus and BHK-21 Cell. Membranes.

J. Virol., **21** (3): 950-955.

14 - BOURHY H., 2003

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

Bull. Acad. Vét. France, **156**: 5-11.

15 - BOURHY, H., COWLEY, J. A., LARROUS, F., HOLMES, E. C. et WALKER, P. J. 2005

Phylogenetic relationships among rhabdoviruses inferred using the L polymerase gene.

J Gen Virol., **86**: 2849-2858.

16 - BOURHY H., KISSI B., BADRANE H. et TORDO N., 1993a

Analyse de la variabilité génétique des Lyssavirus.

Méd. Mal. Infect., **23** (spécial) : 533-536.

17 - BOURHY H., KISSI B. et TORDO N., 1993

Taxonomy and evolutionary studies on lyssaviruses with special reference to Africa.

Onderstepoort Journal of Veterinary Research, **60**: 277-282.

18 - BOURHY H., KISSI B. et TORDO N., 1993b

Molecular Diversity of the Lyssavirus Genus.

Virology, **194**: 70-81.

19 - BOURHY, H., REYNES, J. M., DUNHAM, E. J., DACHEUX, L., LARROUS, F., HUONG, V. T., XU, G., YAN, J., MIRANDA, M. E. et HOLMES, E. C., 2008

The origin and phylogeography of dog rabies virus.
J Gen Virol **89**: 2673-2681.

20 - BOURHY H. et SUREAU P., 1991

Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la rage.
Commission des Laboratoires de référence et d'Expertise de l'Institut Pasteur, Paris, France, 197 p.

21 - BROCHIER B., 1998

Epidemiology and elimination of rabies in western Europe.
Veterinary Journal, **156**: 83-90.

22 - BROW M.A.D. 1990

Sequencing with Taq DNA Polymerase.-
In PCR Protocols : A Guide to Methods and Applications, chap 24, 189-196, ed by Academic Press, Inc.

23 - CHARLTON K.M., 1988

The pathogenesis of rabies.-
In: Rabies, ed by J.B. Campbell et K.M. Charlton.-
Boston : Kluwer Academic Publishers.- .

24 - CHOMEL B., CHAPPUIS G., BULLON F., CARDENAS E., DAVID de BEUBLAIN T., MAUFRAIS M.C. et GIAMBRUNO E., 1985

Serological results of a dog vaccination campaign against rabies in Peru.
Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. **6**: 97-113.

25 - CHOMEL B., CHOMEL R. et SAINT- GERAND A.L., 1985

Prophylaxie de la rage animale.
Réunion Franco-Colombienne.
Bogota, 23 novembre, 1984, collection Fondation Marcel Mérieux, 1985.

26 - CLARK H.F. et WIKTOR T.J., 1972

Rabies virus.-
In: Strains of Human Viruses, ed by Majer and Plotkin S. A.-
Berlin: *Karger, Basel* : 177-182.

27 - CLEAVELAND S., FÈVRE E.M., KAARE M. et COLEMAN P.G., 2002.

Estimating human rabies mortality in the United Republic of Tanzania from dog bite injuries.
Bull. WHO, **80** (4): 304-310.

28 - CLEAVELAND S., KAARE M., TIRINGA P., MLENGEYA T. et BARRAT J. 2003.

A dog rabies vaccination campaign in rural Africa: impact on the incidence of dog rabies and human dog-bite injuries.

Vaccine, **21** (17/18): 1965-1973.

29 - CLIQUET F. et PICARD-MEYER E., 2004

Rabies and rabies-related viruses: a modern perspective on an ancient disease.

Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 2004, **23** (2) : 625-642

30 - COLTON T. 1988

Statistiques en Médecine.

Bruxelles : P.U.B., 2^{ème} édition, 6 : 230 p.

31 - CONZELMANN K-K., COX J.H., SCHNEIDER L.G. et THIEL H-J., 1990

Molecular Cloning and Complete Nucleotide Sequence of the Attenuated Rabies Virus SAD B19.

Virology, **175** : 485-499.

32 - COREY L., 2002

Virus de la rage et autres *rhabdovirus*.-

In : Principes de Médecine Interne. T.R.HARRISON, - 15 éd.- Paris : Médecine-Sciences. Flammarion

33 - COX J.H., 1982

The structural proteins of rabies virus.

Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., **5** (1-3): 21-25.

34 - CREPIN P., AUDRY L., ROTIVEL Y., GACOIN A., CAROFF C. et BOURHY H., 1998

Intravital diagnosis of human rabies by PCR using saliva and cerebrospinal fluid.

J. Clin. Microbiol., **36** : 1117-1121.

35 - DAVID, D., HUGHES, G. J., YAKOBSON, B. A., DAVIDSON, I., UN, H., AYLAN, O., KUZMIN, I. V. et RUPPRECHT, C. E., 2007.

Identification of novel canine rabies virus clades in the Middle East and North Africa.

J. Gen. Virol., **88**: 967- 980.

36 - DAVIS, P. L., RAMBAUT, A., BOURHY, H. et HOLMES, E. C., 2007.

The evolutionary dynamics of canid and mongoose rabies virus in southern Africa.

Arch Virol., **152** : 1251-1258.

37 - DELAGNEAU J.F., PERRIN P. et ATANASIU P., 1981

Réévaluation de la structure du virus rabique : Relations spatiales entre les protéines constitutives du virus.

Rev. Inst. Pasteur Lyon, **14** (3) : 377-399.

38 - DELMAS O., HOLMES E. C., TALBI C., LARROUS F., DACHEUX L., BOUCHIER C. et BOURHY H., 2008.

Genomic diversity and evolution of the lyssaviruses.

PLoS One **3**, 2057.

39 - DIETZSCHOLD B., TOLLIS M., RUPPRECHT C.E., CELIS E. et KOPROWSKI H., 1987

Antigenic Variation in Rabies and Rabies-Related Viruses: Cross-Protection Independent of Glycoprotein-Mediated Virus-Neutralizing Antibody.

J. Infect. Dis., **156** (5): 815-822.

40 - DIOP S.A., MANGA N.M., DIA N.M., NDOUR C.T, SEYDI M., SOUMARE M., DIOP B.M. et SOW P.S., 2007

Le point sur la rage humaine au Sénégal 1986 à 2005.

Med Mal Infect, in press

41 - DIRECTION DE L'EPIDEMIOLOGIE ET DE LUTTE CONTRE LES MALADIES, 2003

Lutte contre la rage chez l'homme. Guide des professionnels de la santé.

Ministère de la santé, Royaume du Maroc, Rabat, 72 p.

42 - DODET B., ADJOGOUA E. V., AGUEMON A. R., AMADOU O. H., ATIPO A. L., BABA B. A., BARA ADA S., BOUMANDOUKI P., BOURHY H. et al., 2008.

Fighting rabies in Africa: the Africa Rabies Expert Bureau (AfroREB).

Vaccine **26**, 6295–6298.

43 - DAO S., ABDILLAHI A.M., BOUGOUDOOGO F., TOURE K. et SIMBE C., 2006

Aspects épidémiologiques de la rage humaine et animale en milieu urbain à Bamako, Mali.

Bull Soc Pathol Exot, **99** (3): 183-186.

44 - EAST M.L., HOFER H., COX J.H., WULLE U., WÜK H. et PITRA C., 2001

Regular exposure to rabies virus and lack of symptomatic disease in Serengeti spotted hyenas.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98** (26): 15026-15031.

- 45. ECHEVARRIA J.E., 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** (10) : 3678-3683.
- 46 - FLAMAND A., 1985**
Le virus rabique : biochimie et génétique.-
In : Rosset R., Pasteur et la Rage / Informations Techniques des Services Vétérinaires.- Paris : 131-137 S
- 47 - GEORGES-COURBOT M.C., BERAUD-CASSEL A.M., SUREAU P., LAFON M., PIOLLET M., TEULIERES L. et GEORGES A.J., 1991**
Evaluation clinique du vaccin rabique inactivé (vero) pvr.
Médecine d'Afrique Noire : **38** (3) : 207-211
- 48 - GORET P., 1975**
Epidémiologie générale de la rage.-
Paris : société française de la pathologie infectieuse.- 83p.
- 49 - GOULD A. R., HYATT A. D., LUNT R., KATTENBELT J. A., HENGSTBERGER S. et BLACKSELL, S. D., 1998**
Characterisation of a novel lyssavirus isolated from Pteropid bats in Australia.
Virus Res **54**, 165–187.
- 50 - HADDAD N., BLANCOU J., GRITLI A., KOUTCHOKALI M., BEN OSMAN E. et AUBERT N., 1985**
Etude de l'activité de deux vaccins antirabiques chez les chiens en Tunisie.
Maghreb vét., **2** (8) : 13-15.
- 51 - HADDAD N., BLANCOU J., GRITLI A. et BEN OSMAN T., 1987**
Etude de la réponse immunitaire des chiens Tunisiens.
Maghreb Vét., **3**(12): 61- 64.
- 52 - HOOPER D.C., PIERARD I., MODELSKA A., OTVOS L., JR., Fu Z.F., KOPROWSKI H. et DIETZSCHOLD B., 1994**
Rabies ribonucleocapsid as an oral immunogen and immunological enhancer.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **91** : 10908-10912.
- 53 - HUMMELER K., KOPROWSKI H. et WIKTOR T.J., 1967**
Structure and Development of Rabies Virus in Tissue Culture.
J. Virol., **1** (1): 152-170.

54 - IWASAKI Y., WIKTOR T.J. et KOPROWSKI H., 1973

Early Events of Rabies Virus Replication in Tissue Cultures.
Lab. Invest., **28** (2): 142-148.

55 - JACKSON A.C., WARRELL M.J., RUPPRECHT C.E., ERTL H.C., DIETZSCHOLD B., O'REILLY M., LEACH R.P., FU Z.F., WUNNER W.H., BLECK T.P. et WILDE H., 2003

Management of rabies in humans.
Clinical Infectious Diseases, **36**: 60-63.

56 - JALLET C., JACOB Y., BAHLOUL C., DESMEZIERES, TORDO N. et PERRIN P., 1999.

Chimeric *Lyssavirus* Glycoproteins with Increased Immunological Potential.
J. Virol., **73** (1): 225-233.

57 - KHOMARI L., 1992

Rabies in Lesotho.-

In: Proceedings of the international conference on epidemiology control and prevention of rabies in Eastern and Southern Africa. Lusaka, Zambie, ed by Fondation Marcel Mérieux.

58 - KISSI B., TORDO N. et BOURHY, H., 1995

Genetic polymorphism in the rabies virus nucleoprotein gene.
Virology **209**: 526–537.

59 - KNOBEL D. L., CLEAVELAND S., COLEMAN P. G., FEVRE E. M., MELTZER M. I., MIRANDA M. E., SHAW A., ZINSSTAG J. et MESLIN F. X., 2005

Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia.
Bull World Health Organ., **83**, 360–368.

60 - KOURI J., 1985

Epidémiologie et prophylaxie de la rage au Cameroun.
Thèse: Méd. Vét. : Dakar ; 20.

61 - LECOCQ J.P., KIENY M.P., 1985

La biologie moléculaire du virus rabique.
Ann. Méd. Vét., **129** : 249-261.

62 - LEYE S. M., 1989

Lutte contre la rage canine en milieu urbain : essai de vaccination de masse à Pikine, région de Dakar (Sénégal).
Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 8.

63 - MAMADOU L., 1984

La rage animale en Afrique australe de 1970 à 1981 : rôles des carnivores sauvages dans l'épidémiologie.

Thèse : Méd. Vét. : Maison-Alfort ; 149

64 - MBOU G., 1992

Evaluation de la couverture immunitaire antirabique après vaccination de masse dans la commune de Pikine.

Thèse : Méd. Vét. : Dakar; 2.

65 - MACFARLAN R.I., 1988

Immune Responses to Rabies Virus : Vaccines and Natural Infection.-

In : Rabies, ed by Campbell J.B. et Charlton K.M.-

Boston : Kluwer Academic Publishers.

66 - McCOLL K.A., TORDO N. et AGUILAR SETIEN A., 2000

Bat Lyssavirus infections.

Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 19 (1) : 177-196.

67 - MIGAN A. G., 2007

Contribution à l'étude de l'épidémiologie de la rage au Sénégal au cours de la période de 1996 à 2005.

Thèse : Med. Vét. : Dakar ; 01.

68 - MORVAN J.M., RAKOTO ANDRIANARIYELO M. et RANDRIAMHOATRA S., ROUX J., 1992

Situation de l'endémie rabique à Madagascar.

Arch. Inst. Pasteur Madagascar, 2: 5-8

69 - MURPHY F.A., 1985

The pathogenesis and pathology of rabies virus infection.

Ann. Virol. (Inst. Pasteur), 136E: 373-386.

70 - NADIN-DAVIS S.A., ABDEL-MALIK M., ARMSTRONG J. et WANDELER A.I., 2002

Lyssavirus P gene characterisation provides insights into the phylogeny of the genus and identifies structural similarities and diversity within the encoded phosphoprotein.

Virology, 298 : 286-305.

71 - NEL L. H. et RUPPRECHT C. E., 2007.

Emergence of lyssaviruses in the Old World: the case of Africa.

Curr Top Microbiol Immunol 315 : 161-193.

72 - NICOLAS P., DAVOUST B., MUZELLEC Y., LECAMUS J.L. et MARTET G., 1993

La rage en Afrique : Conduite à tenir chez un sujet suspect de contamination.
Médecine d'Afrique noire. **40** (12) : 754-758.

73 - NODJIMADJI M., 2008

Contribution à l'étude de l'épidémiologie de la rage au Sénégal : cas de la région de Fatick au cours de la période de 1998 à 2007.

Thèse : Med. Vet. : Dakar; 20.

74 - PALMER D.G., OSSENT P., SUTER M.M. et FERRARI E., 1985

Demonstration of rabies viral antigen in paraffin tissue sections : Comparaison of the immunofluorescence technique with the unlabeled antibody enzyme method.

Am. J. Vet. Res., **46** : 283-286.

75 - PASTORET P. P., BROCHIER B., GINTER A. et IOKEM A., 1986

Vaccination antirabique du renard.-

Monde vétérinaire, Bruxelles.- 127 p

76 - PERRIN P., PORTNOI D. et SUREAU P., 1982

Etude de l'adsorption et de la pénétration du virus rabique : interactions avec les cellules BHK-21 et des membranes artificielles.

Ann. Virol. (Inst. Pasteur), **133E**: 403-422.

77 - POCH O., TORDO N. et KEITH G., 1988

Sequence of the 3386 3' nucleotides of the genome of the AV01 strain rabies virus: structural similarities in the protein regions involved in transcription.

Biochimie, **70**: 1019-1029.

78 - RAKOTOMALALA W., RAKOTONJANABELO AL., RAKOTO-ANDRIANARIVELO M., ROUX JF. et ZELLER HG., 1998

La Rage humaine à Madagascar (1996-1997).

Archives de l'institut Pasteur de Madagascar. **64** (1-2) : 77-80.

79 - ROTIVEL Y., 1995

La Rage - Importance actuelle en santé publique.

Ann. Inst. Pasteur, actualités, Paris, **6** (2) : 100-109.

80 - RUDD R.J. et TRIMARCHI C.V., 1987

Comparaison of Sensitivity of BHK-21 and Murine Neuroblastoma Cells in the Isolation of a Street Strain Rabies Virus.

J. Clin. Microbiol., **25** (8) : 1456-1458.

81. SACRAMENTO D., BADRANE H., BOURHY H. et TORDO N. 1992

Molecular Epidemiology of Rabies Virus in France : Comparison with Vaccine Strains.

J. Gen. Virol., **73**, 1149-1158.

82. SACRAMENTO D., BOURHY H. et TORDO N. 1991

PCR technique as an alternative method for diagnosis and molecular epidemiology of rabiesvirus.

Mol. Cell. Probes, **5**, 229-240.

83 - SARRADIN P., AKAKPO A. J. et BORNAREL P., 1986

Urbanisation et rage en zone tropicale.

Séminaire sur l'urbanisation et santé dans les villes du tiers monde, Pikine, Dakar, 2-6 décembre 1986.

84 - SEGHAIER C., CLIQUET F., HAMMAMI S., AOUINA T., TLATLI A. et AUBERT M., 1999.

Rabies mass vaccination campaigns in Tunisia: are vaccinated dogs correctly immunized?

Am. J. trop. Med. Hyg., **61** (6): 879-884.

85 - SELLY ESSIS A.M., DADOU G., EHOUMAN A. et EDOH V., 1992

Evolution de l'endémie rabique dans les populations humaines et animales en Côte d'Ivoire.

Médecine d'Afrique noire, **39** (2) : 86-90

86 - SELLY-ESSIS A.M., GUEDE GUINA F., ANI YAO B. et AGNERO LATH E., 2000

La prévalence d'excrétion du virus rabique dans la salive de chiens errants enragés mordeurs en république de Côte d'Ivoire.

Médecine d'Afrique Noire, **47** (12) : 512-515

87 - SMITH J.S., ORCIARI L.A., YAGER P.A., SEIDEL H.D. et WARNER C.K., 1992

Epidemiologic and Historical Relationships among 87 Rabies Virus Isolates as Determined by Limited Sequence Analysis.

J. Infect. Dis., **166**, 296-307.

88 - SMITH J.S., FISHBEIN D.B., RUPPRECHT C.E. et CLARK K., 1991

Unexplained rabies in three immigrants in the United States.

N. Engl. J. Med., **324** (4): 205-211.

89 - SMITH J., MCELHINNEY L.M., HEATON P.R., BLACK E.M. et LOWINGS, J.P., 2000.

Assessment of template quality by the incorporation of an internal control into a RT-PCR system for the detection of rabies and rabies-related viruses.

Journal of Virological Methods, **84**: 107-115

90 - SOW P. S., 1987

La rage humaine au Sénégal (à propos de 20 cas observés de janvier 1980 à août 1987 dans le service des maladies infectieuses du CHU de Dakar).

Thèse. Méd., Dakar, N° 74.

91 - STEELE J.H., 1975

History of Rabies.

In: The natural history of rabies, vol. 1, chap. 1, ed by Baer G.M.- New York.- Academic Press

92 - SUPERTI F., DERER M. et TSIANG H., 1984

Mechanism of Rabies Virus Entry into CER Cells.

J. gen. Virol., **65** : 781-789.

93 - SWANEPOEL, R., BARNARD, B. J., MEREDITH, C. D., BISHOP, G. C., BRUCKNER, G. K., FOGGIN, C. M. et HUBSCHLE, O. J., 1993

Rabies. In southern Africa.

Onderstepoort J Vet Res., **60**: 325–346.

94 - TALARMIN A., NAKOUNE E. SELEKON B. et BAWA E., 2004

Surveillance épidémiologique de la rage à Bangui.

Rapport annuel Institut Pasteur de Bangui.

95 - TALBI C., HOLMES E.C., DE BENEDICTIS P., FAYE O., NAKOUNÉ E., GAMATIÉ D., DIARRA A., OULD ELMAMY B., SOW A., ADJOGOUA E.V., SANGARE O., DUNDON W.G., CAPUA I., SALL A.A. et BOURHY H., 2009

Evolutionary history and dynamics of dog rabies virus in western and central Africa.

J. Gen. Virol., **90** (Pt 4) : 783-91

96 - TEKTOFF J., DURAFOR M., FARGEAUD D. et PRECAUSTA P., 1982

Particularités de la morphogénèse du virus rabique et de sa morphologie vues à l'occasion de contrôles systématiques de cultures par microscopie électronique.

Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., **5** (1-3) : 9-19.

97 - TOMA B. et al., 2004

Les zoonoses infectieuses, Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises.-

Mérial (Lyon), 171 p.

98 - TOMA B., DUFOUR B. et al 2007

La rage. Polyco pié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises.-
Mérial (Lyon), 73 p.

99 - TORDO N., 1996

Characteristics and molecular biology of the rabies virus.-
In: F.-X. Meslin, M.M. Kaplan et H. Koprowski. - Laboratory Techniques in Rabies. - ,
4^e ed. - chap 3,- Geneve : OMS .

100 - TORDO N. et POCH O., 1988

Structure of Rabies Virus.-
In: Rabies, Chap. 2, ed by Campbell J.B. et Charlton K.M.-
Boston : Kluwer Academic Publishers.-

101 - TORDO N., POCH O., ERMINE A. et KEITH G., 1986

Primary structure of leader RNA and nucleoprotein genes of the rabies genome:
segmented homology with VSV.
Nucl. Acids Res., **14**: 2671-2683.

102 - TORDO N., POCH O., ERMINE A., KEITH G. et ROUGEON F., 1986

Walking along the rabies genome: Is the large G-L intergenic region a remnant gene?
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **83**: 3914-3918.

103 - TORDO N., POCH O., ERMINE A., KEITH G. et ROUGEON F., 1988

Completion of the Rabies Virus Genome Sequence Determination: Highly
Conserved Domains among the L (Polymerase) Proteins of Unsegmented Negative-
Strand RNA Viruses.
Virology, **165**: 565-576.

104 - TSIANG H., 1985

An in vitro study of rabies pathogenesis.
Bull. Inst. Pasteur, **83**: 41-56.

105 - TSIANG H., 1988

Interactions of rabies virus and host cells.-
In Rabies, ed by J.B. Campbell et K.M. Charlton. -
Boston: Kluwer Academic Publishers.-

106 - TSIANG H., 1993

Pathophysiology of Rabies Virus Infection of the Nervous System.
Adv. Virol. Res., **42** : 375-412.

107 - VENNETIER P., LACALVERE G., PENEL J.D. et DECOUDRAS J.M., 1984

Atlas Jeune Afrique : République Centrafricaine.

Edition Jeune Afrique, Paris, 64p.

108 - VON TEICHMAN B.F., THOMSON G.R., MEREDITH C.D., NEL L.H., 1995

Molecular epidemiology of rabies virus in South Africa : evidence for two distinct virus groups.

J. Gen. Virol., **76**: 73-82.

109 - WIKTOR T. J.; FAOFARLAND R. I. ; FOSSIN C. E. et KOPROWSKI H., 1983

Antigenic analysis of rabies and Mokola virus from Zimbabwe using monoclonal antibodies.

Paris: develop, boil, standard. – 72 p.

110 - WIKTOR T. J.; FLARANG A. et KOPROWSKI H., 1980

Use of monoclonal antibodies in diagnosis of rabies virus infectious and differentiation of rabies and rabies-related viruses.

Virol, methods, **1**: 33-46.

111 - WIKTOR T.J., GYÖRGY E., SCHLUMBERGER D., SOKOL F. et KOPROISKI H., 1973

Antigenic properties of rabies virus components.

J. Immunol., **110** (1): 269-276.

112 - WILLIAMS J.F., 1989

Optimization Strategies for the Polymerase Chain Reaction.

Biotechniques, **7** (7): 762-768.

113 - WUNNER W.H., 1991

The chemical composition and molecular structure of rabies viruses (31-67).

In: The natural history of rabies, 2nd Edition, chap 2, ed by Baer G.M., Boca (Raton) : CRC Press.

114 - WUNNER W.H., LARSON J.K., DIETZSCHOLD B. et SMITH C.L., 1988

The Molecular Biology of Rabies Viruses.

Rev. Inf. Dis., **10** (4): 771-784

WEBOGRAPHIE

115 - BLCI- INTERNATIONALE, 2008

Carte de la République Centrafricaine. [En ligne]

Accès Internet : <http://www.afrique-recrutement.com/images/Liens/repubcentrafric2.gif>

(Page consultée le 12/05/2009)

116 - CENTRE NATIONAL DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE, 2007

Rage. [En ligne]

Accès Internet : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Rage>

(Page consultée le 25/12/2008)

117 - DECOSTER A. et LEMAHIEU JC., 2007

Cours de virologie systématique : Virus de la rage. [En ligne]

Accès Internet : <http://anne.decoستر.free.fr/d1viro/vrage.html>

(Page consultée le 5/11/2007)

118 - DECOSTER A. et LEMAHIEU JC., 2007

Virus de la rage. [En ligne]

Accès Internet : <http://anne.decoستر.free.fr/d1viro/vtelechar/vpoly/vgvirus05.pdf>

(Page consultée le 5/11/2008)

119 - OMS, 2007

La rage. [En ligne]

Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire, 82, 425–436

Accès Internet : <http://www.who.int/wer> (Page consultée le 04/06/2009).

ANNEXES

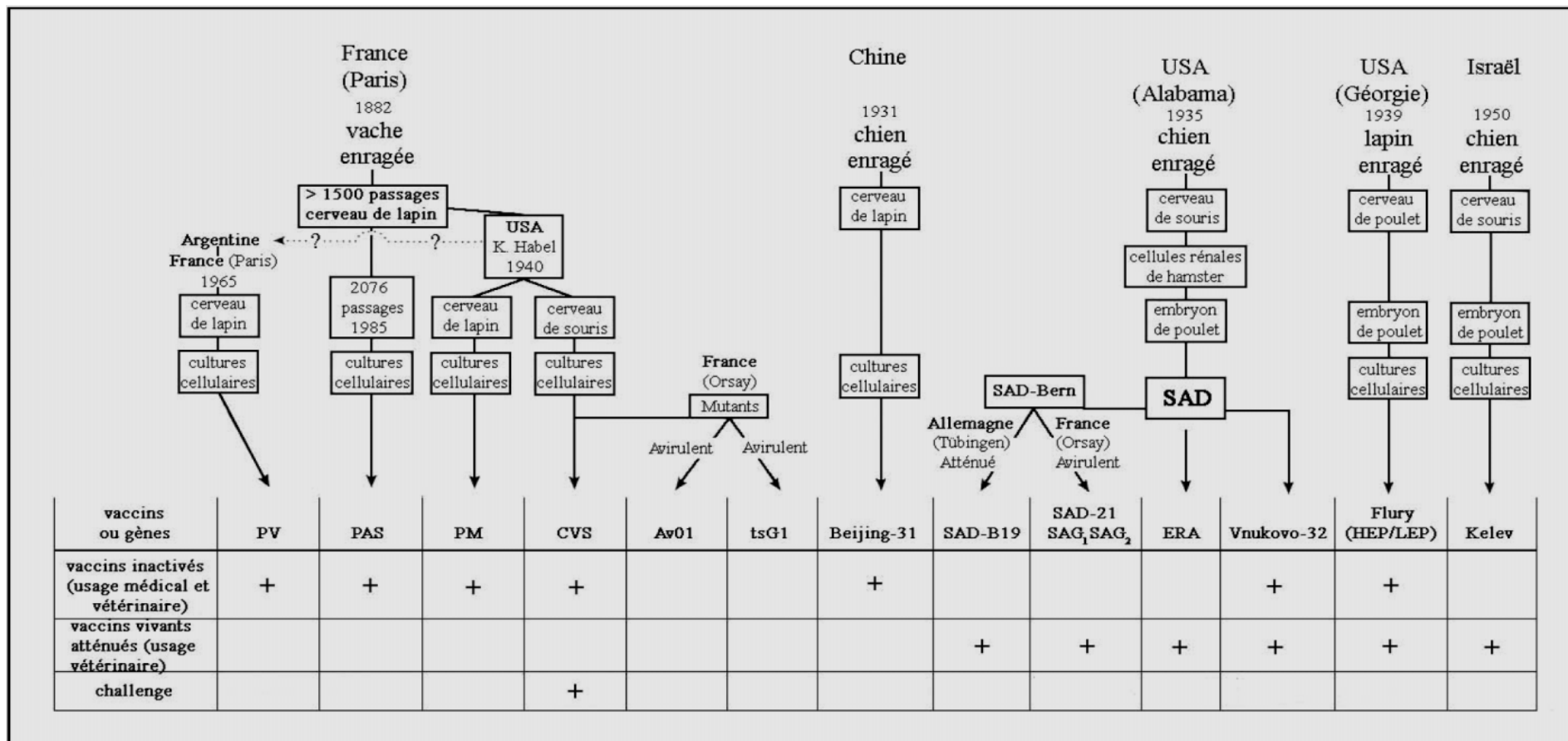
ANNEXES

Annexe I : Les virus du genre *Lyssavirus* [d'après 31 et 118]

Virus	Génotype	Distribution Géographique	Espèces atteintes	Efficacité du vaccin	Cas humains
Rage	1	Monde entier sauf Océanie, Japon, Antarctique, Europe occidentale	Homme, carnivores sauvages et domestiques, chauves-souris insectivores et hématoiphages.	Oui	+50 000/ an dont quelques dizaines attribuables aux chauves-souris.
Lagos Bat	2	Afrique subsaharienne	Chauves-souris frugivores, chats, chiens.	Non	Aucun à ce jour
Mokola	3	Afrique subsaharienne	Homme, musaraignes, chats, chiens, rongeurs.	Non	2 (Nigeria, 1969, 1971)
Duvenhage	4	Afrique du Sud Zimbabwe	Homme, chauves-souris insectivores.	Non	2 (Afrique du Sud, 1971)
EBL1	5	Europe	Homme, chauve-souris insectivores (<i>Eptesicus serotinus</i> , <i>Pipistrellus</i>) Mouton, fouine.	Partielle	2 (Russie, 1985) (Ukraine, 1977)
EBL2	6	Europe (Suisse, Pays-Bas, Royaume Unie)	Homme, chauves-souris frugivores et insectivores (<i>Myotis sp</i>)	Oui	2 (Finlande, 1985) (Ecosse, 2002)
ABL	7	Australie	Homme, chauve-souris frugivores et insectivores (<i>Pteropus sp</i> , <i>Sccolaimus flaviventris</i>)	Oui	2 (Australie, 1996, 1998)

Lyssavirus européen de chauves-souris de type 1 (EBL1) et du type 2 (EBL2), ABL : *Lyssavirus* australien de chauves-souris

ANNEXE II : Principales souches fixes de virus rabiques utilisées pour la préparation de vaccins [d'après 90].



PV : Virus Pasteur ; PAS : Souche Louis Pasteur ; PM : Pitman-Moore ; CVS : Challenge Virus Standard ; Av01 : Variant Avirulent 01 de CVS ; mutant tsG1 : mutant thermosensible Gif 1 (mutation sur la glycoprotéine du résidu leucine 132 en phénylalanine) ; Beijing-31 : souche issue d'un chien enragé en 1931, à Beijing ; SAD : Street Alabama Dufferin ; SAD-B19 : souche atténuée allemande clonée à partir de la souche SAD-Berne (Suisse) ; SAG₁ et SAG₂ : Street Alabama Gif 1 et Gif 2 (mutants de la souche SAD-Berne, portant une ou deux mutations sur une ou deux bases du même codon 333) ; ERA : Evelyn-Rokitnicki-Abelseth ; Vnukovo-32 : souche issue de SAD en ex-URSS ; Fleury HEP et LEP : souches avianisées High Egg Passage et Low Egg Passage. Le lien indiqué en pointillé sur la figure entre la souche à l'origine de PM et CVS, et celle à l'origine de PV est remis en cause par les récentes études de biologie moléculaire, qui rapprochent plutôt la souche PV des souches SAD/ERA et Beijing.

ANNEXE III : Exemple du modèle de fiche d'expédition de prélèvement

MINISTRE DU DEVELOPPEMENT RURAL

 DIRECTION DE CABINET

 DIRECTION GENERALE DE L'AGENCE NATIONALE DE
 DEVELOPPEMENT DE L'ELEVAGE

 DIRECTION DE LA SANTE ANIMALE

 SERVICE DE LA SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE

 SECTION CLINIQUE VETERINAIRE

 Tél : 61.10.02.
 N° 43/MDR/DIRCAB/DGANDE/DSA/SSPV/SCVB-

REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE
 Unité - Dignité - Travail

FICHE D'EXPEDITION DE PRELEVEMENT

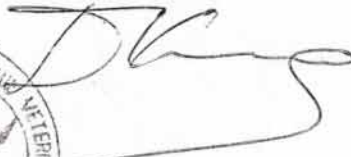

Nature du prélèvement : Cerveau
 Espèce animale : Canine Sexe : Mâle Age : Plus de 5 ans
 Animal familial : oui Nom du Propriétaire : Mme BELAKASSO

Animal errant : Non Animal sauvage : Non
 Ville : Bangui (92 logement) Pays : Centrafrique
 Anamnèse : Hyper-salivation, inappétence, Langue pendante
Paralyse du Mâcher
 Signes cliniques observés sur l'animal (préciser s'il s'agit de la rage muette ou furieuse) : Muette (?)
 Conditions dans lesquelles l'animal est mort : Euthanasie
 Date de la mort et moyen de conservation du cadavre : 12 Sept 2007

Vaccination antérieure : date : Néant Lieu : _____
 Type de vaccin : Néant N° du lot de vaccin : _____
 Nature de prélèvement, date de prélèvement et moyen de conservation : Cerveau, 12/09/07
au frais (frigor)

Nom et titre de l'expéditeur : Dr. KOYANONGO Fidèle Mwendimé
 Laboratoire destinataire : Institut Pasteur de Bangui
 Dates d'expéditions des prélèvements : 13/09/07

Le Chef de Service de la Santé Publique Vétérinaire

Dr. KOYANONGO Fidèle D.
 Vétérinaire Biologiste
 21 707 76 50.38.91

ANNEXE IV : Exemple du modèle de fiche de résultat de diagnostic de rage



**LABORATOIRE DES ARBOVIRUS ET FIEVRES
HEMORRAGIQUES**

DIAGNOSTIC DE LA RAGE

(Technique : Immunofluorescence directe)

N° du Prélèvement : 07/044

Nature du prélèvement : - Cerveau

- Salive

- Autres

- Animal : chien

RESULTATS

Empreinte :



Culture sur souriceau :

Date d'expédition des résultats : 13 septembre 2007

Nom de la personne qui envoie les résultats : Pr. Alain LE FAOU

Signature : _____

Professeur Alain LE FAOU
Directeur
INSTITUT PASTEUR DE BANGUI
République Centrafricaine

ANNEXE V : Exemple du modèle de fiche de travail PCR rage

Institut Pasteur de Bangui



Fiche de travail PCR rage

PCR du 15/10/2007

Ordre des tubes

N° de tubes	N° échantillon	Organes	Résultat PCR
1	06/02	Cx chien	+
2	06/03	- " -	+
3	06/05	- " -	+
4	07/09	- " -	+
5	06/06	- " -	+
6	07/01	- " -	+
7	07/02	- " -	+
8	07/03	- " -	+
9	07/04	- " -	⊖
10	07/08	- " -	+
11	07/10	- " -	+
12	07/12	- " -	+
13	07/16	- " -	+
14	07/17	- " -	+
15	07/18	- " -	+
16	07/19	Cx chien	⊖
17	07/20	- " -	+
18	07/21	- " -	+
19	07/22	- " -	+
20			
21	C⊕		⊖
22	C⊖		⊖
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			

I. Synthèse du cDNA :

- Mélanger : 6 µl d'ARN
2 µl d'amorce sens
- Compléter à 10 µl avec de l'eau ultrapure stérile
- Incuber 10 mn à 65 + 5 °C
- Préparer le mix réactionnel suivant :
 Tampon 5X 6 µl x 22 = 132 µl
 DTT 2 µl x 22 = 44 µl
 dNTP 10 mM 2 µl x 22 = 44 µl
 Rnasing 2 µl x 22 = 44 µl
 Superscript 1 µl x 22 = 22 µl
 E.D.S (qsp 20µl) 7 µl x 22 = 154 µl
- Ajouter dans chaque tube 20 µl de mix
- Incuber 90 mn à 42°C

Les cDNA sont soit stockés à -20°C soit directement utilisés en PCR puis stockés

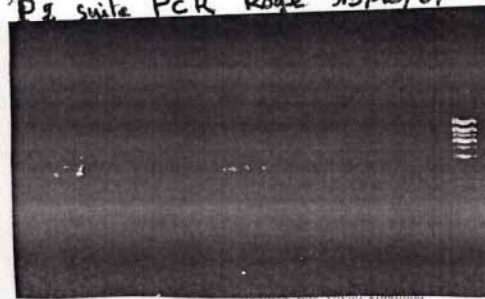
II. PCR :

- Préparation du mix
- | | | |
|-----------------------|---------|-----------------|
| Tampon 10X | 5 µl | x 22 = 110 µl |
| Mgcl2(25 mM) | 2,5 µl | x 22 = 55 µl |
| dNTP 10 mM | 1 µl | x 22 = 22 µl |
| Amorce sens PVO5 | 1 µl | x 22 = 22 µl |
| Amorce antisens PVO6 | 1 µl | x 22 = 22 µl |
| Enzyme Taq polymérase | 0,2 µl | x 22 = 4,4 µl |
| E.D.S (qsp 48 µl) | 37,3 µl | x 22 = 820,6 µl |

1. PCR Rage 15/10/07



2. suite PCR Rage 15/10/07



Laboratoire des arbovirus et virus des fièvres hémorragique

EXPERIMENTATEUR Sybrain DATE

TEMOIN Xavier DATE

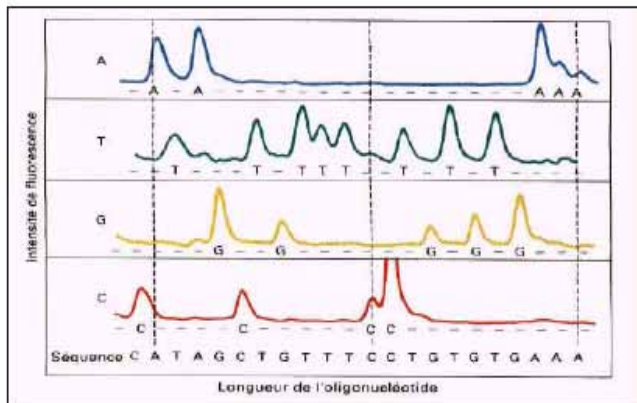
ANNEXE VI : Technique de séquençage des produits PCR [d'après 48 et Institut Pasteur Paris].

Le séquençage nucléotidique des amplicons est réalisé soit après clonage de molécules individuelles [84], soit le plus souvent directement à partir de la solution d'amplification [19], [85], [90]. Le produit d'amplification est purifié par électrophorèse sur un gel d'agarose à 0,7 % dans un tampon TAE, en présence de bromure d'éthidium [85], [90].

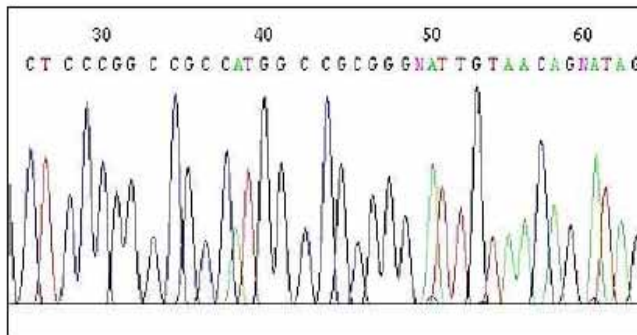
Le séquençage est réalisé automatiquement dans un séquenceur. Les réactions de polymérisation se déroulent toutes dans le même tube où chaque ddNTP est marqué par un fluorochrome distinct ("Dye Terminators"). Les produits de PCR sont dans un premier temps purifiés et précipités par la méthode acétate de sodium/éthanol 95° puis remis en suspension dans une solution dénaturante (formamide). Un "mix" de séquençage est préparé en mélangeant l'ADN purifié, l'amorce, les quatre dNTP, les "Dye Terminators" et la Taq DNA polymérase. L'ensemble est soumis à une succession de cycles de polymérisation (25 en moyenne) dans un thermocycleur.

Les produits sont à nouveau purifiés et déposés sur un gel d'acrylamide en tampon de migration TBE pour électrophorèse. Le séquenceur utilise un faisceau laser pour exciter les fragments fluorescents qui migrent par électrophorèse selon leur taille. La fluorescence spécifique des différents fluorochromes utilisés est détectée et le signal est envoyé à un microordinateur pour être traité et analysé. Les résultats, disponibles après dix heures de "run", se présentent sous forme d'électrophorègrammes où chaque pic de couleur correspond à une base, et à partir desquels la séquence est établie [48] (source Institut Pasteur Paris). Ainsi dans le meilleur des cas, jusqu'à 1 000 nucléotides peuvent être alignés alors que 200 à 300 tout au plus, pouvaient l'être dans le séquençage manuel (voir planche n° 2).

Automatisation de la méthode de séquençage



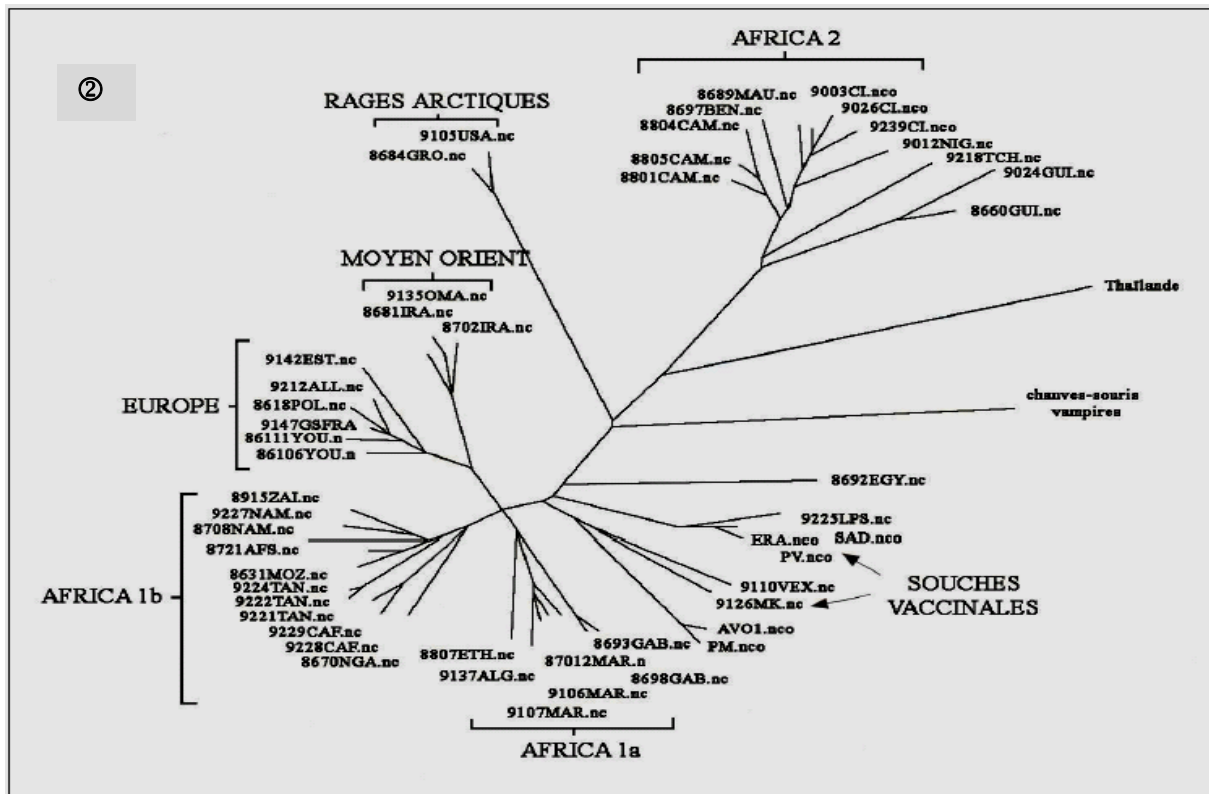
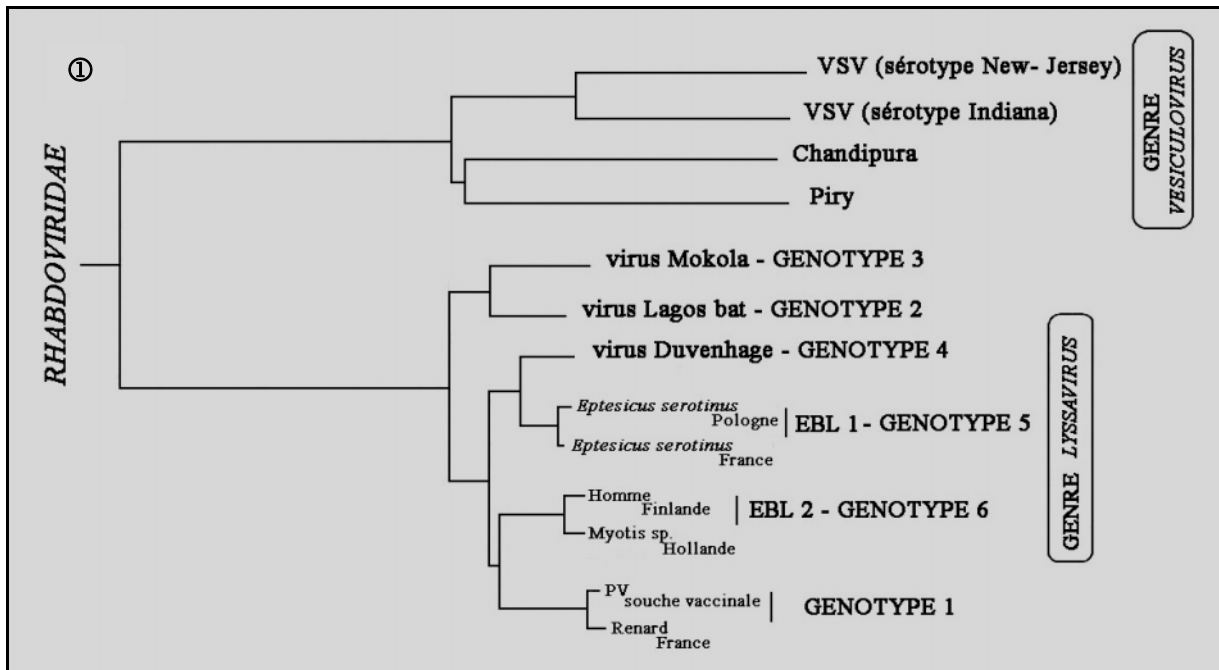
- ajout sur les ddNTP de fluorochrome de différentes couleurs.
- 1 seul tube regroupant les ddNTP.
- lecture par un laser des fragments qui migrent sur le gel.
- stockage des données dans la mémoire de l'ordinateur.



Exemple d'enregistrement obtenu à partir d'un séquenceur automatique.

Les séquenceurs permettent de lire plusieurs centaines de nucléotides avec une très bonne qualité, jusqu'à 1 000 pour les appareils performants.

ANNEXE VII : L'arbre phylogénétique basé sur l'alignement des séquences protéiques de la nucléoprotéine de 9 isolats de *Lyssavirus* et de 4 isolats de *Vesiculovirus* ① et l'arbre est reconstruit selon la méthode du plus proche voisin à partir des séquences peptidiques de la nucléoprotéine Relations entre les différentes lignées de *Lyssavirus* ② [d'après 18 et 60].



SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

« Fidèlement attaché aux directives de **Claude BOURGELAT**, fondateur de l'enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés :

- ❖ d'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire ;
- ❖ d'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie de mon pays ;
- ❖ de prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire ;
- ❖ de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

Que toute confiance me soit retirée s'il advient que je me parjure. »

LE CANDIDAT

**VU
LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE DOYEN
DE LA FACULTE DE ME
ET DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

**LE PRESIDENT
DU JURY**

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____
DAKAR, LE _____**

**LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

EPIDEMIOLOGIE DE LA RAGE ET ASPECTS MOLECULAIRES DU VIRUS RABIQUE A BANGUI (REPUBLIQUE CENTRAFRICAINE) AU COURS DE LA PERIODE DE 2006 A 2008

Résumé

La rage est endémique en Afrique et des enzooties à l'allure épizootique sont rapportées régulièrement en République Centrafricaine (RCA) en province et dans la capitale Bangui.

D'août 2006 à décembre 2008 nous avons suivi une enzootie de rage canine qui s'est développée dans les villes voisines de Bangui et de Bimbo. Très rapidement la maladie, véhiculée par les chiens errants, s'est étendue à l'ensemble du milieu urbain et a touché préférentiellement les quartiers défavorisés. La vaccination gratuite des personnes mordues a débuté en mai 2007, pour protéger la population. Les prélèvements effectués (cerveau, salive) et les informations reçues auprès des propriétaires de chiens par la clinique vétérinaire ont permis de suivre tout au long de cette période l'évolution de l'enzootie et d'établir une cartographie des cas. Le faible nombre de cas à la fin de 2008 n'a pas vu la disparition de l'enzootie qui s'est prolongée en 2009.

Les méthodes moléculaires utilisées pour l'étude d'un segment du gène L ont permis la caractérisation des virus de la rage circulant dans la ville au cours de cette période. Les souches isolées correspondaient à 2 lignées différentes toutes les deux endémiques en Afrique, "Africa 1 et 2". La deuxième lignée avait été identifiée récemment dans le nord du pays. Nos résultats montrent qu'elle s'étend vers le sud.

Le fait de disposer de prélèvements avec des informations détaillées permettra une étude phylogénétique plus fine pour suivre l'évolution des virus de ces deux lignées en fonction du temps et éventuellement d'établir des filiations entre ces souches.

Des propositions ont été faites pour mieux contrôler cette maladie. Il s'agit notamment :

- d'inscrire la rage sur la liste des maladies animales et humaines à surveillance épidémiologique à Bangui et de façon générale en République Centrafricaine ;
- d'organiser régulièrement des opérations de sensibilisation sur la rage à travers toute la ville ;
- d'organiser régulièrement des campagnes de vaccination des carnivores domestiques et d'abattage des chiens errants dans l'ensemble de la ville.

Mots clés : Epidémiologie - rage - moléculaire - virus - rabique - Bangui

Adresse de l'auteur : Jean-Sylvain MANGUÉ
BP : 1679 Bangui (République Centrafricaine)
Tél : (236) 70 71 17 75
E-mail : jesylman@yahoo.fr / jsmangue@gmail.com