

## FIÈVRES HÉMORRAGIQUES VIRALES

Hober D., Lazrek M. , Alidjinou E.K.

Laboratoire de Virologie EA3610

Institut de Microbiologie  
Centre de Biologie Pathologie et Génétique  
Université Lille 2, Faculté de Médecine, CHRU Lille

[didier.hober@chru-lille.fr](mailto:didier.hober@chru-lille.fr)

### DES VIRUS DE FIÈVRE HÉMORRAGIQUE

Des virus responsables de fièvre hémorragique sont présents hors de la France métropolitaine. C'est le cas entre autres : des virus de la dengue (au nombre de 4 sérotypes) largement répandus et responsable de formes graves de l'infection, la Dengue Hémorragique et la Dengue avec Syndrome de Choc ; du virus de la fièvre de Crimée-Congo (FHCC) ; des virus des fièvres hémorragiques d'Amérique du Sud (Machupo, Junin...) ; et des virus de fièvre hémorragique d'Afrique (virus de Lassa, virus Marbug , virus Ebola). A l'intérieur de nos frontières, et notamment dans le quart Nord-Est de La France sévit le virus de Hantaan, responsable de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal qui est beaucoup sévère dans les zones Orientales du globe que dans notre territoire où le virus provoque une forme clinique appelée néphropathie épidémique.

Le terme, « virus de fièvre hémorragique » a été créé dans les années 1930 par des chercheurs et médecins soviétiques face à la fièvre hémorragique avec syndrome rénal. Ce terme regroupe une grande diversité de virus à ARN enveloppés appartenant à quatre familles différentes (Flaviviridae, Bunyaviridae, Arenaviridae, Filoviridae) et avec des modes de transmission qui leur sont propres. Certains sont des arbovirus, c'est-à-dire des virus transmis par des arthropodes hématophages tels que (i) des moustiques vecteur par exemple du virus de la dengue appartenant à la famille des Flaviviridae (ii) des tiques vectrices du virus de FHCC appartenant à la famille des Bunyaviridae. D'autres virus ne sont pas des arbovirus, ceux-là sont transmis par des déjections de rongeurs (famille des virus des fièvres hémorragiques d'Amérique du Sud et virus de la fièvre de Lassa (famille des Arenaviridae), et virus de Hantaan (famille des Bunyaviridae) ou par le sang et les fluides corporels d'animaux et d'humains infectés (famille des Filoviridae).

### VIRUS EBOLA

La famille des Filoviridae comprend le genre Marburgvirus et le genre Ebolavirus avec cinq espèces : *Ebola-Zaire* (ZEBOV, le plus virulent) *Ebola-Soudan* (SEBOV ou SUDV), *Ebola-Côte d'Ivoire* (CIEBOV ou TAFV), *Ebola-Bundibugyo* (BEBOV ou BDBV), *Ebola-Reston* (REBOV ou RESTV). Récemment la découverte d'un filovirus chez des chauves-souris en Espagne a nécessité d'ajouter le genre Lloviu virus (LLOV).

Le virus au microscope électronique a l'aspect d'un filament de 800 à 14000 nm de long et 80 nm de diamètre (fig 1). C'est un virus à capsid hélicoïdale, enveloppé, à ARN négatif simple brin linéaire de 19,1 kb codant pour 7 protéines : N, VP35, VP40, GP, VP30, VP24 et L.



Figure 1

Le virus Ebola est considéré comme un virus peu résistant hors de l'organisme. Des études sont à réaliser pour connaître le pouvoir infectieux résiduel du virus dans des milieux biologiques naturels hors de l'organisme mais il a été rapporté que le virus Ebola (EBOV) dans du milieu de culture ou du sérum de cobaye déposé sur surface (plastique, métal ou verre) à température ambiante n'a plus de pouvoir infectieux au bout de 48h. Dans du milieu de culture ou séché sur du verre et maintenu à 4 °C il conserve son pouvoir infectieux pendant plusieurs jours (Piercy et al., 2010). Le virus Ebola est un virus enveloppé qui est peu résistant aux agressions physiques et chimiques. Le virus est inactivé en 30 à 60 minutes à 60 °C, en 5 minutes à ébullition. Il est moyennement sensible aux UVc, avec une perte de pouvoir infectieux de 4 log sous 11 mJ/cm<sup>2</sup> (la dose recommandée étant 44 à 66 mJ/cm<sup>2</sup>) (Sagripanti and Lytle, 2011). Il est sensible à l'acide acétique à 3 %, au glutaraldéhyde à 1 %, à l'alcool et à l'eau de Javel à 5.25% (1:10 à 1:100 pendant ≥ 10 minutes), ainsi qu'à l'hypochlorite de calcium (poudre de blanchiment) (Mitchell and McCormick, 1984, Elliott et al., 1982).

Le réservoir de virus serait constitué de chauves-souris frugivores comme le suggère la détection d'ARN viral et d'anticorps spécifiques chez ces animaux. Le virus est pathogène pour plusieurs espèces d'animaux (tel que des antilopes, des singes, des primates non humains). Ces animaux chassés, dépecés pour un usage personnel ou vendus comme gibier de brousse, peuvent transmettre le virus aux humains. L'entourage familial prodiguant des soins, ou à l'occasion de rites funéraires (toilette, contact avec le défunt) se contamine par exposition aux fluides biologiques (sang, sueur, urines etc) contenant du virus. De plus le personnel médical et paramédical peut être infecté par inoculation percutanée (blessure) ou projection sur les muqueuses et peau lésée. Par contre il n'y a aucune preuve de transmission du virus par aérosols.

## **EPIDÉMIE D'INFECTION À VIRUS EBOLA EN AFRIQUE DE L'OUEST**

Le virus Ebola émerge en 1976 et puis réémerge en 1995. De 1976 à 2013 plus de 20 épidémies ont été répertoriées totalisant 2500 cas en Afrique Centrale : RDC (ex Zaïre ou Congo Kinshasa), Soudan, Gabon, Ouganda, RPC (Congo Brazzaville).

Le taux de mortalité est très élevé au cours des infections à virus Ebola, surtout avec l'espèce Zaïre, mais le nombre de cas de sujets infectés est au maximum de 300 à 400 au cours de ces épidémies.

En mars 2014, les autorités de la République de Guinée-Conakry signalent à l'OMS un nombre très important de cas d'une maladie meurtrière provoquée par le virus Ebola Zaïre ayant débutée en décembre 2013 dans la préfecture de Guéckédou, une région frontalière avec les républiques du Libéria et de Sierra Leone (figure 2). Le premier cas serait un enfant de 2 ans, la source de contamination n'a pas été clairement identifiée (une consommation de soupe de chauve-souris est évoquée) mais la maladie se propage parmi les membres de la famille et les soignants (Baize et al N Engl J Med 2014). L'épidémie va toucher rapidement et massivement trois pays principalement : la Guinée, la Sierra Leone et le Libéria, et de manière plus modérée des pays frontaliers comme le Sénégal et le Mali. De plus, à partir de cas importés de ces foyers grâce au transport aérien, des cas autochtones seront signalés au Nigéria, en Espagne et aux Etats-Unis. L'épidémie qui a éclaté en Afrique de l'Ouest en Guinée-Conakry et s'est répandue massivement dans les pays voisins totalise 14413 cas dont 5173 décès au 14 novembre 2014 selon l'OMS.

La maladie se manifeste au début par des signes non spécifiques comme la fièvre, une asthénie, des myalgies, des céphalées ; puis des signes digestifs apparaîtront : nausées, vomissements, diarrhées. Ces signes ne sont pas spécifiques et font évoquer des diverses pathologies dans une zone où l'infection à virus Ebola n'est pas répertoriée. En fonction de l'état du patient et de la rapidité de la prise en charge, le patient peut commencer à s'améliorer au bout de 10 jours et évoluer vers la guérison. Dans le cas contraire, son état s'aggrave avec survenue d'un choc, de manifestations neurologiques, des hémorragies, et des défaillances viscérales. Les manifestations hémorragiques ne sont pas au premier plan.

Par rapport aux épidémies antérieures, les manifestations cliniques, la durée de la maladie, le taux de mortalité et le degré de transmission sont similaires. Les caractéristiques biologiques propres du virus ne semblent pas expliquer l'ampleur de l'épidémie qui pourrait être due à un concours de circonstances sur

un fond de pauvreté entretenue par une instabilité politique et des conflits armés. Les facteurs qui ont favorisé le développement de l'épidémie sont : un système de santé défaillant, une absence de confiance dans les autorités centrales, une grande mobilité de la population (axe routier, proximité des frontières) et une densité de population importante (centres urbains proches), les croyances culturelles (fréquentation de guérisseurs au lieu des centres de santé, rites funéraires traditionnels).



**Figure 2** Baize et al N Engl J Med 2014

D'où vient le virus Ebola qui sévit en Afrique de l'Ouest ? Est-il différent des virus d'Afrique Centrale ? Le génotypage du virus Ebola de Guinée-Conakry a mis en évidence que le virus a évolué parallèlement aux souches de RDC et du Gabon à partir d'un ancêtre récent mais ne provient pas de ces pays. Il est probable que le virus présent dans les réservoirs potentiels du virus (Chauve-souris) a circulé dans la région (Baize et al N Engl J Med 2014)

Sur le plan clinique l'infection à virus Ebola qui sévit en Afrique de l'Ouest se manifeste par une hyperthermie de la fatigue et des troubles digestifs ; perte d'appétit, vomissements, diarrhée qui peut être profuse ; des douleurs abdominales et des céphalées, par contre les hémorragies sont rares (moins de 5% des cas) et des saignements sont observés dans moins de 20% des cas. La durée moyenne entre les premiers symptômes et l'hospitalisation est de  $5.0 \pm 4.7$  jours période pendant laquelle le virus peut être volontiers transmis à d'autres individus notamment ceux prenant en charge le patient à domicile (Baize et al N Engl J Med 2014). La durée d'incubation en moyenne 11,4 jours (elle peut atteindre 21 jours) et l'évolution de l'infection comparable à celles déjà observées précédemment indiquent que l'extension de l'épidémie qui a débuté en Guinée-Conakry n'est pas due à une virulence accrue du virus mais elle est due aux facteurs extrinsèques cités plus haut.

## **DONNÉES BIOLOGIQUES ET PATHOGENÈSE**

Le patient est contagieux lorsque des signes cliniques, et notamment l'hyperthermie, surviennent. Le virus peut être détecté dans le sang par culture et par RT-PCR pendant 10 à 17 jours et des anticorps spécifiques (IgM et IgG) peuvent être détectés par Elisa à partir du 8<sup>ième</sup> - 10<sup>ième</sup> jour suivant l'apparition des signes cliniques. (Martinez et al J Pathol. 2014). La prise en charge en Allemagne d'un patient, a permis de montrer que l'ARN viral est présent dans les urines jusqu'au 30<sup>ième</sup> jour et dans la sueur jusqu'au 45<sup>ième</sup> jour suivant le début des signes cliniques (Kreuels B et al N Engl J Med 2014). De plus le virus est présent dans le sperme des convalescents jusqu'à 6 semaines – 2 mois.

A la faveur des épidémies survenues en Afrique Centrale et à la lumière de travaux expérimentaux effectués avec les souches de virus Ebola, des informations concernant la pathogenèse de l'infection par ce virus ont pu être obtenues. Le virus infecte les macrophages qui produisent alors des médiateurs tels que des cytokines pro-inflammatoires, des chimiokines, du NO, des radicaux libres de l'oxygène qui jouent un rôle dans la perméabilité vasculaire et les hémorragies. La production par les macrophages de facteur tissulaire est impliquée dans les troubles de coagulation et la CIVD. Par ailleurs une apoptose des lymphocytes T est observée alors que ces cellules ne sont infectées par le virus. D'autre part la glycoprotéine de surface (GP) du virus est capable de provoquer la nécrose de cellules, notamment celle des cellules endothéliales, et une forme soluble de la GP piège les anticorps dirigés contre le

virus, protégeant ainsi le virus. Le virus perturbe également les défenses en inhibant la production et les effets antiviraux de l'IFN de type 1. Au cours de l'infection une inhibition des réponses immunitaires innées et acquises est constatée, ce qui favorise encore davantage la réplication du virus. Les études anatomopathologiques réalisées à partir de tissus obtenus lors d'épidémies antérieures montrent que le virus se dissémine largement dans l'organisme et qu'il est présent dans le foie, la moelle osseuse, les poumons, les reins ainsi que dans les glandes surrénales dont la fonction altérée jouerait un rôle dans les désordres hydro-électrolytiques et l'état de choc constatés chez des patients. ( Martinez et al J Pathol. 2014)

## LES MOYENS DE LUTTE

### I Limiter la dissémination du virus

Pour limiter la dissémination de l'épidémie l'approche la plus efficace est la prise en charge des patients, comprenant le diagnostic des cas et l'isolement dans des conditions de sécurité prenant en compte le risque de transmission du virus au personnel soignant.

Dans la zone épidémique comprenant le Libéria, la Sierra Léone et la Guinée Conakry, où l'immense majorité des cas est recensée, des centres de traitement Ebola ont été mis en place. Ces centres sont pour une bonne partie d'entre eux gérés par des organisations non gouvernementales (ONG) tels que Médecins Sans Frontières (MSF). En outre, plus récemment des organismes gouvernementaux tels que USAID (Agence Américaine pour le développement international), voire des soignants envoyés par leur gouvernement (Cuba, Chine) se sont également fortement impliqués. Ces actions internationales sont venues compléter les actions des gouvernements locaux débordés par une situation épidémique sans précédent.

Les centres de traitement Ebola tel que ceux de MSF accueillent aussi bien les cas suspects que les cas confirmés. Ils sont constitués de tentes. Les centres sont séparés en deux zones. Une zone à bas risque où on retrouve la zone d'habillage du personnel, la pharmacie, les sanitaires, la blanchisserie, etc... et une zone à haut risque où on retrouve notamment la zone de traitement des cas confirmés. Il y a un sens unique de circulation (marche en avant) avec une absence totale de croisement des éléments propres et des éléments contaminés.

Les patients suspects sont admis dans la « zone de triage » et y restent en attendant les résultats des tests de laboratoire. S'ils sont confirmés positifs, ils sont alors hospitalisés, traités et mis en isolement. Le contact avec d'éventuels visiteurs (famille, proches), si leur état de santé le permet, se fait à travers une double clôture de séparation (Figure3). <https://www.thinglink.com/scene/559360742642417666>

Centre de traitement d'Ebola [MSF]



Figure 3

Dans les centres de traitement Ebola, le personnel travaille toujours en binôme notamment pour le contrôle de l'habillage, des gestes au cours des soins et surtout pour la réalisation du déshabillage. Le personnel porte un équipement de protection individuel (EPI) constitué d'une combinaison étanche, d'une cagoule, de lunettes, d'un masque, d'une double paire de gants et des bottes. Cet EPI ne doit laisser apparaître aucun centimètre de peau. Il permet une protection efficace du personnel mais constitue néanmoins une grande difficulté à cause de la chaleur ambiante. En effet, les combinaisons sont tellement étouffantes qu'il est très difficile de garder l'équipement plus de 40 minutes. Cette pénibilité physique s'ajoute à la charge émotionnelle très forte. Les tournées sont dans tous les cas limitées au maximum à une heure. A la sortie de la zone à haut risque, les soignants passent par un sas de décontamination où ils sont pulvérisés avec un spray chloré avant de passer à la zone de déshabillage. <http://ecampus.msf.org/moodlemsf/mod/page/view.php?id=22246>

## **II Le diagnostic virologique**

Le diagnostic virologique est une des difficultés majeures rencontrées sur le terrain. Il est réalisé dans une douzaine de laboratoires mobiles proches des centres de traitement par une technique de RT-PCR en temps réel, ce qui constitue un grand challenge au vu des conditions de travail locales. Le diagnostic nécessite quatre heures auxquelles il faut ajouter le temps de transport des tubes. <http://www.who.int/features/2014/liberia-mobile-ebola-lab/fr/>

L'annonce de la mise au point d'un test de diagnostic virologique rapide, en moins de quinze minutes, par des chercheurs français du Commissariat à l'Energie Atomique et aux énergies alternatives (CEA) constitue un grand espoir. Ce test d'un format équivalent à un test de grossesse pourrait être utilisé à partir d'une goutte de sang ou d'urine sur le terrain, sans matériel spécifique et au plus près des populations touchées. Il s'agit d'un test immunologique (dépistage des antigènes viraux) par immunochromatographie. Il a été techniquement validé par le laboratoire de haute sécurité microbiologique P4 Jean-Mérieux à Lyon sur la souche qui sévit actuellement en Afrique de l'Ouest. Un prototype est désormais disponible pour permettre la validation clinique sur le terrain dans le centre de traitement de Macenta géré par la croix rouge Française. Le diagnostic rapide permettrait un triage rapide des patients et par conséquent l'isolement des malades pour empêcher de nouvelles contaminations. <http://www-dsv.cea.fr/dsv/la-dsv/toute-l-actualite/en-direct-des-labos/ebola-ezyscreen-un-test-de-diagnostic-terrain>

## **III Traiter les patients et protéger les individus**

Actuellement, le traitement de la maladie est symptomatique. Le virus provoque chez bon nombre de patients une diarrhée profuse qui nécessite une réhydratation par voie orale ou par perfusion.

Un moyen de lutte consiste à sensibiliser les populations à la maladie et aux moyens de prévention. Le recours à des sociologues et des anthropologues s'est avéré très pertinent pour appliquer des mesures respectant les traditions locales et surtout non coercitives. Au Liberia, des distributions de kits de désinfection sont effectuées dans des quartiers défavorisés (sceau, chlore savon..) pour aider les familles à se protéger d'un membre malade. Quand les structures sanitaires le permettent, et que les premiers cas sont rapidement diagnostiqués, la surveillance et le suivi des cas contacts sont réalisés et peuvent freiner avec succès la propagation de la maladie comme ce fut le cas au Nigéria et au Sénégal.

Les anticorps monoclonaux (ZMapp) administrés aux ressortissants américains infectés par le virus au Libéria et rapatriés aux USA ne sont pas disponibles en quantités suffisantes. Des traitements à visée curative sont en cours d'essais cliniques accélérés dans 3 centres : des antiviraux à action directe (Favipiravir, Brincidofovir) et du plasma de patients convalescents contenant des anticorps neutralisants. Les résultats sont attendus pour février 2015. A noter que le Favipiravir est un antiviral inhibiteur d'ARN polymérase destiné à lutter contre le virus de la grippe et qui s'est avéré actif in vitro et chez l'animal vis-à-vis du virus Ebola. Le brincidofovir possède une activité in vitro vis-à-vis du virus. Pour ces deux antiviraux la posologie éventuellement efficace in vivo chez l'Homme vis-à-vis du virus Ebola reste à déterminer.

Des vaccins sont proposés, il s'agit de virus recombinants comportant le gène de la protéine d'enveloppe du virus Ebola. L'un est constitué d'un adénovirus recombinant (NAIAID/ GSK) infectieux

mais non répliatif, les essais cliniques nous informerons quant à son efficacité. L'autre est constitué du virus de la stomatite vésiculeuse (un virus animal de la famille des Rhabdoviridae) recombinant (NewLink Genetics et Public Health Agency of Canada) infectieux et répliatif, mais les essais cliniques concernant ce vaccin ont été stoppés par l'OMS en raison des effets secondaires.

## PERSPECTIVE

Une surveillance très rapprochée du virus Ebola en Afrique est nécessaire. L'aire de répartition du virus ne se limite plus désormais à l'Afrique Centrale comme ce fut le cas de 1976 date de l'émergence des premiers cas au Zaïre (actuellement RDC) jusqu'en 2013. Le virus Ebola est actif. Alors que l'Afrique de l'Ouest fait face à une épidémie, survient au mois de juillet 2014 une épidémie en RDC provoquée par un virus Ebola sans lien avec celui responsable de l'épidémie qui a démarré en Guinée-Conakry (Maganga et al NEJM 2014).

La mobilisation internationale, laisse bon espoir que l'épidémie qui sévit actuellement en Afrique soit maîtrisée. Pour atteindre cet objectif il faut intensifier la lutte contre le virus Ebola en diagnostiquant et en prenant en charge les patients. Par ailleurs il est indispensable de connaître la proportion de sujets infectés en réalisant des études de séroprévalence. Dans des zones d'Afrique sub-saharienne où des épidémies avaient éclatées, notamment au Gabon, des sujets étaient porteurs d'anticorps spécifiques du virus Ebola sans présenter de signes cliniques (jusqu'à 70% de sujets asymptomatiques) (Bellan et al Lancet 2014). Ces individus étaient non infectieux. Il reste à déterminer si de tels sujets asymptomatiques sont immunisés vis-à-vis du virus et si cette immunité est durable. La notion d'infection asymptomatique est importante car l'évolution de l'épidémie dépend de ces formes. Sur un plan pratique il serait très utile de distinguer les séroconversions spontanées et vaccinales, et d'identifier les sujets asymptomatiques dont le sérum pourrait être mis à profit pour traiter les patients.

Les rapatriements sanitaires ou les cas d'importation d'infection à virus de fièvre hémorragique sont une réalité. Cette éventualité s'est notamment produite en 2004 pour des ressortissants français infectés par le virus FHCC au Sénégal en 2004, et pour un individu britannique infecté par ce virus en Afghanistan en 2012. A la faveur de l'épidémie à virus Ebola qui sévit en Afrique de l'Ouest, les Etats-Unis et plusieurs pays d'Europe ont pris en charge des patients sur leur territoire : Allemagne, Angleterre, Norvège, Espagne et France. Les deux cas confirmés en France ont été hospitalisés après évacuation sanitaire. A l'instar d'autres patients traités en Europe et aux Etats-Unis, ils ont bénéficié d'associations de médicaments expérimentaux.

La prise en charge des patients en France est formalisée et régulièrement mise à jour par des directives des autorités sanitaires. <http://www.ebola.sante.gouv.fr/professionnels-de-sante/>. Tout patient suspect d'être porteur du virus (fièvre >38°C dans un délai de 21 jours après son retour de la zone à risque) est pris en charge avec des mesures de précautions de haut niveau. Ce patient fait l'objet d'un signalement à l'agence régionale de santé en vue de son classement en cas exclu ou cas possible. Si le cas est déclaré possible, il sera alors hospitalisé dans un des douze établissements de santé régional habilité (ESRH) dont le CHRU de Lille fait partie.

Le prélèvement sanguin pour confirmation virologique est réalisé exclusivement dans l'ESRH. Le prélèvement est désinfecté dans la chambre du patient par trempage dans un bain d'eau de javel à 0.5% puis mis dans un triple emballage de type 6.2. Le diagnostic est réalisé par le centre national de référence des fièvres hémorragiques virales situé à Lyon par RT-PCR après envoi des prélèvements par un transporteur agréé.

Récemment, un poste de sécurité microbiologique de niveau 3 (boîte à gants) a été installé dans le L3 de l'institut de Microbiologie du CHRU de Lille. Il y est prévu la réalisation du diagnostic virologique d'infection à virus Ebola ainsi que la réalisation de divers paramètres biologiques à l'aide de petits automates (hématologie et biochimie) et de tests rapides (TDR paludisme).