

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 30 décembre 2014

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à une « demande d'expertise sur le rôle potentiel des animaux domestiques dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola »

CARACTERISTIQUES ADMINISTRATIVES DU DOSSIER

L'Anses a été saisie le 24 octobre 2014 par la Direction générale de l'Alimentation pour la réalisation d'une expertise sur le rôle potentiel des animaux domestiques dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola (saisine n°2014-SA-0229).

CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La fièvre hémorragique à virus Ebola est une zoonose à mortalité élevée chez l'homme. Elle est apparue pour la première fois en 1976, date à laquelle elle a été responsable de deux épidémies simultanées au Soudan et en République démocratique du Congo (RDC). Jusqu'à l'importante épidémie ayant débuté en 2013 en Afrique de l'Ouest, elle survenait principalement dans le centre de l'Afrique intertropicale. Elle peut être transmise à l'homme à partir d'un animal ou d'une personne infectée.

Les chauves-souris frugivores sont supposées héberger le virus sans présenter de signes cliniques et constitueraient son réservoir naturel.

Plusieurs hypothèses sont envisagées sur les modalités de transmission initiale du virus de la maladie d'Ebola à l'homme : un contact étroit avec des liquides biologiques ou des tissus d'animaux infectés de la forêt tropicale comme des chauves-souris frugivores, des singes (chimpanzés et gorilles) ou des céphalophes (antilope des bois). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) recommande ainsi d'éviter tout contact avec des animaux sauvages dans les zones touchées, notamment avec les chauves-souris, les singes et les rongeurs, ces derniers pouvant également transmettre l'agent d'une autre fièvre hémorragique virale de classe 4 en Afrique de l'Ouest, le virus de la fièvre de Lassa. Une étude (Allela *et al.* 2005), a également exploré le rôle potentiel du chien, concluant qu'il pouvait constituer un facteur de risque pour l'homme, et jouer un rôle dans la diffusion du virus Ebola.

Depuis la fin 2013 (premières notifications le 22 mars 2014), le virus de la maladie d'Ebola est responsable d'une épidémie sans précédent en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone, qui s'est depuis lors propagée au Nigeria, au Sénégal (aujourd'hui résolue dans ces deux pays) et au Mali (en évolution). Un foyer sans rapport avec le précédent a également été rapporté en RDC lequel est actuellement éteint¹. Des mesures de protection visant à limiter l'extension de

1

http://www.cd.undp.org/content/dam/dem_rep_congo/docs/pressrelease/UNDP-CD-COMMUNIQUE-DECLARATION-FIN-EBOLA.pdf

l'épidémie sont appliquées dans de nombreux pays africains ou hors Afrique, de manière à identifier et prendre en charge rapidement les nouveaux cas.

Certaines de ces mesures ont concerné deux chiens appartenant à des personnes infectées secondairement hors d'Afrique, en soignant des patients infectés par le virus de la maladie d'Ebola, et rapatriés le 1^{er} en Espagne et le 2^{ème} aux Etats-Unis :

- Dans le premier cas (diagnostiqué la semaine du 06 octobre 2014 en Espagne), il s'agissait d'une aide-soignante contaminée auprès d'un patient revenant d'Afrique. Son chien Excalibur a été euthanasié le 8 octobre 2014. Cette décision a relevé du principe de précaution. En effet, les autorités espagnoles souhaitaient placer l'animal en quarantaine en attendant la confirmation d'une possible infection. Cependant, l'Espagne était dans l'impossibilité d'organiser une quarantaine respectant les mesures de biosécurité adaptées à la manipulation d'un animal potentiellement porteur du virus de la maladie d'Ebola (Biosafety level 4 ou BSL4). Cette mesure a suscité des débats ;
- Dans le deuxième cas (apparu la semaine du 06 octobre 2014 aux Etats-Unis), il s'agissait d'une infirmière texane, propriétaire de Bentley, et contaminée auprès d'un patient revenant du Liberia. Ce chien n'a pas été euthanasié, mais mis en quarantaine et suivi cliniquement deux fois par jour pendant 21 jours, selon la même durée de quarantaine que chez l'homme. Les analyses répétées sur le chien, notamment sérologiques, ont montré qu'il n'avait pas été infecté par le virus. Au terme de cette période, la propriétaire a pu reprendre son chien.

Compte tenu de la gravité de cette maladie (zoonose majeure), de l'impact sociétal d'éventuelles applications de mesures de précaution, et dans l'objectif de permettre aux ministères concernés de décider avec le maximum d'éléments d'appréciation de mesures de gestion éventuelles, deux questions sont posées à l'Anses sur le rôle potentiel des animaux domestiques dans la transmission à l'homme du virus de la maladie d'Ebola :

- « quel rôle peuvent jouer les carnivores domestiques dans la transmission à l'homme ou à un autre animal (réceptivité, sensibilité et possibilité d'excrétion) du virus Ebola dans son acception large, incluant l'ensemble des filovirus de fièvre hémorragique, avec un focus particulier sur la souche qui sévit actuellement en Afrique de l'Ouest ? »

- « quelles sont les espèces animales réputées sensibles au virus Ebola dans son acception large incluant l'ensemble des filovirus de fièvre hémorragique ? ».

A la suite des échanges avec la DGAL, le périmètre de la saisine a été reprecisé, avec pour objectif de faire un état des lieux des connaissances sur les fièvres hémorragiques à *Filoviridae* qui pourraient être liées à un cas humain importé en France et pouvant être en contact avec des animaux domestiques (qu'il s'agisse d'animaux de compagnie, d'animaux de travail ou considérés comme tels, etc.).

L'avis répond aux questions de la saisine, compte tenu de ces éléments.

ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

S'agissant d'une expertise hors évaluation de risque (sans collectif d'experts), l'Anses a confié cette expertise à quatre rapporteurs. Leur rapport a été discuté en CES Santé animale le 17 décembre 2014, et a été transmis à la Direction de l'Agence.

Les travaux des rapporteurs se sont fondés sur :

- L'audition d'Eric Leroy, principal investigateur de l'étude décrite dans l'article d'Allela *et al.* (2005), spécialiste international de la maladie à virus Ebola et actuel Directeur Général du Centre International de Recherches Médicales de Franceville, réalisée le 13 novembre 2014 ;
- la consultation des différents sites internet d'information officiels et scientifiques relatifs à la gestion de l'épidémie Ebola (OMS, OIE, CDC-Atlanta, ECDC, EFSA, etc.) ;
- la recherche bibliographique détaillée (profil de recherche bibliographique, sites consultés) figurant en Annexe 7 du présent rapport.

ARGUMENTAIRE

Pour répondre à la saisine, l'expertise a d'abord consisté en un état des connaissances générales sur les *Filoviridae*, c'est-à-dire le bilan des espèces naturellement connues ou suspectées sensibles et/ou réceptives, la répartition géographique et le nombre de foyers recensés, les modalités de transmission, les signes cliniques, la physiopathologie de l'infection, les lésions et le diagnostic (point 1), puis l'expertise s'est focalisée sur l'évaluation du rôle des carnivores domestiques dans la transmission à l'homme du virus de la maladie d'Ebola (point 2). Dans un dernier temps ont été abordées les autres espèces animales susceptibles d'être réceptives et/ou sensibles à l'infection par les *Filoviridae* (point 3).

1. Etat des connaissances

1.1. Les *Filoviridae*

Les *Filoviridae* appartiennent à l'ordre des Mononegavirales. Ils peuvent induire une fièvre hémorragique sévère chez les humains et les primates non humains. A ce jour, parmi les trois genres connus, seuls deux genres de cette famille virale ont été incriminés en tant qu'agents de fièvre hémorragique chez l'homme (Negredo *et al.* 2011). Il s'agit des virus de la maladie d'Ebola et des virus de la maladie de Marburg (MARV/RAVV). Cinq espèces de virus de la maladie d'Ebola ont été identifiées en relation avec le lieu de leur première découverte ; il s'agit (par ordre chronologique) des virus de la maladie d'Ebola Zaire², Soudan, Reston (dans l'Etat de Virginie aux Etats-Unis d'Amérique), de la Forêt de Taï (Côte d'Ivoire) et Bundibugyo (en Ouganda) (Kuhn *et al.* 2014; Kuhn *et al.* 2011; Kuhn *et al.* 2010) (Annexe 1).

Pour la suite du document, les abréviations suivantes (et listées dans l'annexe 1) seront utilisées : EBOV (Zaire ebolavirus), SUDV (Soudan ebolavirus), RESTV (Reston ebolavirus), TAFV (Taï forest ebolavirus) et BDBV (Bundibugyo ebolavirus).

Parmi ces espèces, seul RESTV n'induit pas une fièvre hémorragique sévère chez l'homme. Cependant, il peut induire une maladie fatale chez les macaques crabiers (*Macaca fascicularis*) (Geisbert *et al.* 1992) et il a infecté des porcs aux Philippines en 2008 sans que cette infection n'ait pu être clairement reliée à une unique pathologie chez cette espèce, dans la mesure où les porcs étaient également co-infectés avec une souche hautement pathogène du virus du syndrome dysgénésique respiratoire porcin (SDRP) (Barrette *et al.* 2009). Le BDBV, découvert en 2008, est plus proche génétiquement du TAFV, mais il est plus virulent que ce dernier (Towner *et al.* 2008).

Structurellement, les particules virales de *Filoviridae* peuvent apparaître sous plusieurs formes depuis de longs filaments parfois ramifiés (à l'origine du nom de *Filoviridae*), jusqu'à des filaments plus courts en forme de "6", de "U", ou de cercle. Ces filaments viraux, de longueur

² Aujourd'hui le Zaïre est devenu la République démocratique du Congo.

variable, jusqu'à 14 microns (par concaténation de particules plus courtes) ont un diamètre uniforme d'environ 80 nanomètres (nm). Ils sont enveloppés d'une membrane lipidique. Chaque virion contient une molécule d'ARN monocaténaire, non segmenté et de polarité négative.

Les virus de la maladie d'Ebola possèdent une ribonucléocapside hélicoïdale de 20 à 30 nm de diamètre constituée des nucléoprotéines NP et VP30, fortement associées à l'ARN génomique et à la polymérase L. La ribonucléocapside est entourée d'une matrice hélicoïdale de 40 à 50 nm de diamètre, constituée des protéines VP24 et VP40, et comprenant des stries transversales de 5 nm (Mwanatambwe *et al.* 2001). Cet ensemble est, à son tour, enveloppé d'une membrane lipidique d'origine cellulaire dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines GP virales. Le génome est de 19 kilobases (Sullivan *et al.* 2003) et possède l'organisation caractéristique des *Filoviridae* (Kiley *et al.* 1982) : une succession de sept gènes séparés par des régions non transcrites, chaque gène codant une protéine virale respectivement (de 3' en 5') NP, VP35, VP40, GP, VP30, VP24 et L (Kuhn *et al.* 2014).

Les variations génétiques entre les différents virus du genre *Ebolavirus* sont illustrées par de légères différences dans la taille de l'ARN génomique et le taux de dinucléotides GC de leurs différents génomes (Tableau 1), ainsi que par l'analyse phylogénétique (Figure 1).

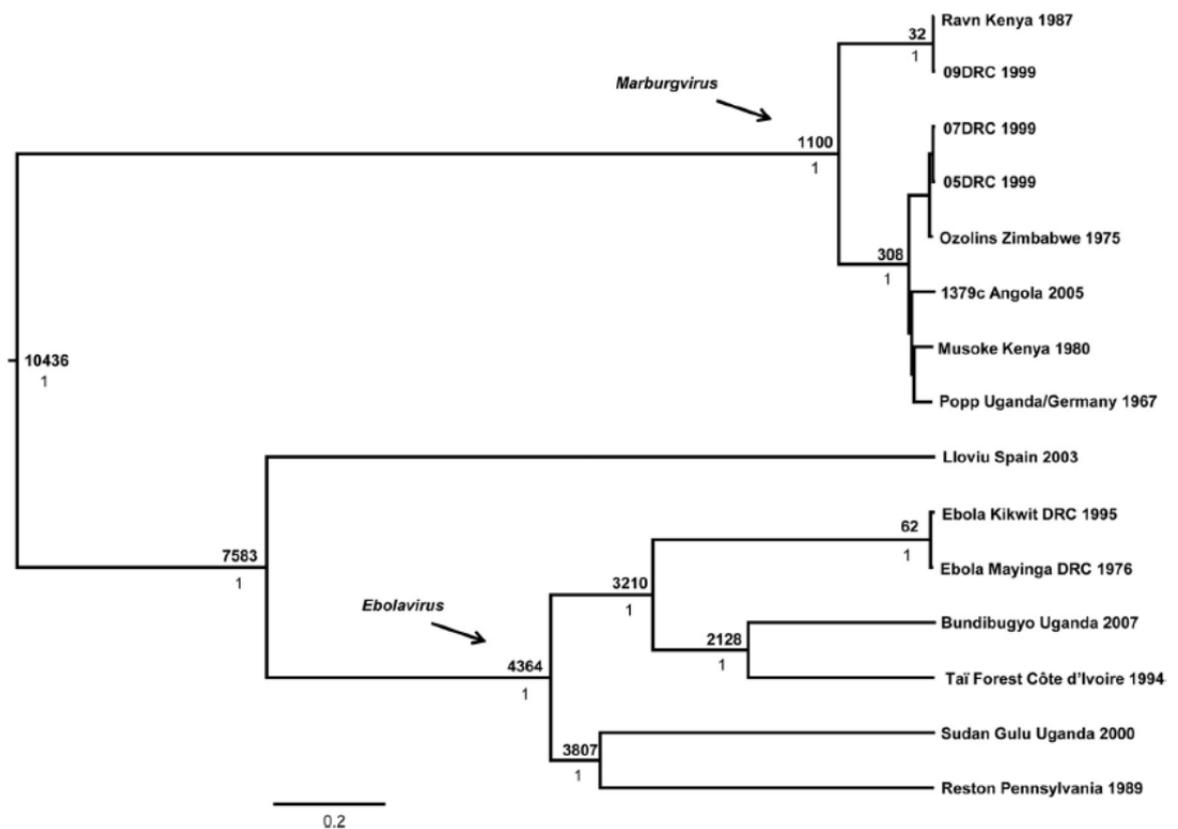


Figure 1. Arbre phylogénétique des virus appartenant à la famille des *Filoviridae* (Carroll *et al.* 2013)

Légende : Analyse Bayésienne par coalescence des virus de la famille des *Filoviridae*. L'arbre phylogénétique le plus probable est montré et l'ancêtre le plus récent (antérieur à 2007) précisé à chaque nœud (au dessus) avec sa probabilité d'existence (en dessous). L'échelle indique des substitutions/site

Tableau 1. Génomes des virus du genre *Ebolavirus*

Virus	Taille de l'ARN génomique	Taux de GC	Référence
EBOV	18,96 kb	41,1 %	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/4887
SUDV	18,88 kb	41,3 %	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/5152
RESTV	18,89 kb	40,6 %	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/5147
TAFV	18,93 kb	42,3 %	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/4022
BDBV	18,94 kb	42,0 %	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/4021

Par comparaison, les *Filoviridae* du genre *Marburgvirus* ont un génome plus long (19,11 kb) avec un taux de GC de 38,8 %³ tandis que le virus Lloviu, du genre *Cuevavirus*, a un génome de 18,93 kb avec un taux de GC de 46,0 %⁴.

1.2. Espèces animales naturellement connues ou suspectées sensibles et/ou réceptives

Ces espèces peuvent être classifiées selon leur sensibilité et réceptivité aux différents *Filoviridae*. La sensibilité (à un agent pathogène) est l'aptitude à exprimer cliniquement l'action d'un agent pathogène alors que la réceptivité est l'aptitude à héberger un agent pathogène, à en permettre le développement ou la multiplication, sans forcément en souffrir (Toma *et al.* 1991).

Outre l'homme (l'épidémie d'Ebola sévissant actuellement en Afrique de l'Ouest en constitue un exemple), plusieurs espèces animales sont réputées sensibles et/ou réceptives. Les tableaux 2 et 3 suivants rassemblent respectivement les espèces animales naturellement infectées ou chez lesquelles des traces sérologiques ou génétiques ont été trouvées ainsi que les espèces animales infectées expérimentalement par les virus du genre Ebola. Les tableaux 4 et 5 rassemblent les espèces animales naturellement et expérimentalement infectées par les autres virus de la famille des *Filoviridae*. La présence de signes cliniques (sensibilité des espèces) est répertoriée dans la dernière colonne des tableaux.

³ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/5314>

⁴ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/32226>

Tableau 2. Espèces animales naturellement infectées par les virus du genre Ebola

Ordre	Espèces	Détection du virus (ARN ou protéine)	Détection des anticorps	Symptômes
Chiroptères	Chauve-souris (EBOV) (Leroy <i>et al.</i> 2005) (<i>Hypsignathus monstrosus</i> , <i>Epomops franqueti</i> , <i>Myonycteris torquata</i>)	oui	oui	non
Primates non humains	Gorilles, Chimpanzés (EBOV, TAFV) (Pigott <i>et al.</i> 2014)	oui	oui	oui : identique humain
	Macaques (RESTV) (Rollin <i>et al.</i> 1999)	oui	oui	oui : identique humain
	Cercopithèques (Leroy <i>et al.</i> 2004)		oui	?
	Babouins, Mandrills (Leroy <i>et al.</i> 2004)		oui	?
	Orang outan (Nidom <i>et al.</i> 2012)		oui	?
Rongeurs	Rongeurs (EBOV, RESTV) (Morvan <i>et al.</i> 1999; Olson <i>et al.</i> 2012)	oui	oui	?
Ruminants	Céphalophes (EBOV) (Lahm <i>et al.</i> 2007; Leroy <i>et al.</i> 2004; Pigott <i>et al.</i> 2014; Rouquet <i>et al.</i> 2005)	oui	oui	mortalité
Carnivores	Chiens (EBOV) (Allela <i>et al.</i> 2005)	non	oui	non
Porcins	Porcs domestiques (RESTV) (Barrette <i>et al.</i> 2009; Sayama <i>et al.</i> 2012)	oui	oui	oui (respiratoire), mais en co-infection avec virus du SDRP

Tableau 3. Espèces animales infectées expérimentalement par les virus du genre Ebola

Espèces	Multiplication du virus	Symptômes
Chauve-souris (EBOV) (Swanepoel <i>et al.</i> 1996)	oui	non
Macaques (EBOV, SUDV, RESTV) (Nakayama and Saijo 2013)	oui	oui : identique humain
Singes verts (Nakayama and Saijo 2013)	oui	oui : identique humain
Babouins (Nakayama and Saijo 2013)	oui	oui : identique humain
Souris, cobaye, hamster (EBOV) (Nakayama and Saijo 2013)	oui	seulement avec souches adaptées
Chèvres, moutons (Kudoyarova-Zubavichene <i>et al.</i> 1999)	pas démontrée : seulement séroconversion	non
Porcs domestiques (RESTV, EBOV) (Weingartl <i>et al.</i> 2013)	oui	non pour RESTV, limité (respiratoire) pour EBOV

Tableau 4. Espèces animales naturellement infectées par les *Filoviridae* autres que ceux du genre Ebola

Virus	Ordre	Espèces	Détection du virus (isolement, ARN ou protéine)	Détection des anticorps	Symptômes
Marburgvirus	Chiroptères	Chauve-souris (<i>Rousettus aegyptiacus</i> , <i>Miniopterus inflatus</i> , <i>Rhinolophus eloquens</i>) (Swanepoel <i>et al.</i> 2007; Towner <i>et al.</i> 2009)	oui	oui	non
	Primates	Singe vert (<i>Chlorocebus aethiops</i>) (Nakayama and Saijo 2013)	oui (transmission du virus à l'homme)		oui
Cuevavirus	Chiroptères	Chauve-souris (<i>Miniopterus Schreibersii</i>) (Negredo <i>et al.</i> 2011)	oui		animaux trouvés morts

Tableau 5. Espèces animales infectées expérimentalement par les *Filoviridae* autres que ceux du genre Ebola

Virus	Espèces	Multiplication du virus	Symptômes
Marburgvirus	Primates non-humains (macaques, singes verts, marmousets) (Nakayama and Saijo 2013; Smither <i>et al.</i> 2013)	oui	oui : identique à l'homme
	Rongeurs (souris, cobaye, hamster) (Nakayama and Saijo 2013)	oui	oui mais Seulement avec souches adaptées

1.3. Répartition géographique et nombre de foyers recensés

La maladie à virus Ebola est apparue pour la première fois en 1976, lors de deux flambées épidémiques simultanées au Soudan et en RDC, de part et d'autre de la rivière Ebola.

L'épidémie qui sévit actuellement depuis fin 2013 en Afrique de l'Ouest est la plus importante et la plus complexe depuis la découverte du virus. Elle a produit plus de cas et de décès que toutes les précédentes flambées réunies (Annexe 2). Cette flambée a également comme particularité de s'être propagée d'un pays à l'autre, partant de la Guinée pour toucher la Sierra Leone et le Libéria (en traversant les frontières terrestres), le Nigéria (par l'intermédiaire d'un seul voyageur aérien) et le Sénégal (par l'intermédiaire d'un voyageur arrivé par voie terrestre).

Il est à noter que les pays les plus touchés (la Guinée, la Sierra Leone et le Libéria) ont des systèmes de santé très fragiles, manquent de ressources humaines qualifiées, d'infrastructures et sortent parfois de périodes de conflits et d'instabilité (OMS 2014c).

Une flambée distincte, sans lien avec celle en Afrique de l'Ouest, s'est déclarée dans le district de Boende, une région isolée de la province de l'Équateur, en RDC (OMS 2014a).

Une carte dynamique donnant l'évolution spatio-temporelle des cas de maladie d'Ebola peut être obtenue à l'adresse URL suivante : <http://www.who.int/features/ebola/storymap/en/>.

La répartition géographique du nombre de nouveaux cas de maladie d'Ebola est reprise à l'annexe 3.

1.4. Transmission des *Filoviridae*

Le cycle naturel des *Filoviridae* agents de fièvre hémorragique est encore mal connu et comporterait quatre étapes en référence au cycle supposé du virus de la maladie d'Ebola (Figure 2) (OMS 2014b) :

- Etape 1 : Les chiroptères (chauves-souris) frugivores de la famille des *Pteropodidae* constitueraient l'hôte naturel et le **réservoir** animal du virus (*Hypsignathus monstrosus*, *Myonycteris torquata* et *Epomops franqueti*) (Pigott *et al.* 2014) (Annexe 6). Bien qu'aucun virus n'ait été isolé jusqu'à aujourd'hui de ces chauves-souris (seulement une détection de gènes et d'anticorps spécifiques), on suppose, par similarité avec le virus de la maladie de Marburg (Towner *et al.* 2009), qu'elles sont porteuses inapparentes et qu'elles disséminent naturellement le virus *via* leurs déjections ou des fruits contaminés par des fluides biologiques. Elles peuvent aussi diffuser le virus à distance lors de migrations, de plus, la réduction de leur habitat par l'activité humaine (déforestation) favorise leurs mouvements pour la recherche de nourriture ;
- Etape 2 : Des chiroptères infectés par le virus de la maladie d'Ebola contaminent de manière directe (déjections, contact étroit avec du sang ou des organes infectés lors de la chasse/consommation des proies) ou indirecte (fruits contaminés) d'autres espèces animales sauvages telles que des gorilles, des chimpanzés ou d'autres singes. De par leur sensibilité extrême au virus Ebola, et notamment au virus EBOV, ces primates constitueraient des **hôtes relais amplificateurs**. Dans certaines circonstances éco-épidémiologiques encore incomplètement connues, le virus peut causer des épizooties de large ampleur, en particulier chez les grands singes (Annexe 2), ce qui majore le risque de transmission à l'homme. En outre, d'autres mammifères (céphalophes [antilopes des bois]) ont été trouvés porteurs de virus EBOV (Rouquet *et al.* 2005) et pourraient représenter une source de contamination pour l'homme voire pour d'autres animaux ;
- Etape 3 : Les humains se contamineraient par contact direct (peau lésée ou muqueuses) avec les fluides biologiques des animaux infectés, lors de la chasse ou de la manipulation, la préparation, voire la consommation de produits de chasse (chiroptères, singes) insuffisamment cuite (inactivation du virus après cuisson à 60°C durant 30 à 60 minutes ; (Spickler 2014)). Une contamination indirecte est aussi possible avec des fruits contaminés par des liquides biologiques (par exemple la salive, les déjections, les sécrétions génitales post-partum) des chiroptères ;
- Etape 4 : Une transmission interhumaine secondaire peut avoir lieu par contact direct avec des liquides biologiques (notamment sang, selles lors des diarrhées, vomissements, salive, larmes, lait, urine, sperme, sueur) des sujets infectés par le virus de la maladie d'Ebola, ou par des contacts indirects (linge de lit, vêtements souillés, etc.).

Le cycle du virus de la maladie de Marburg est supposé comparable : les étapes sont probablement les mêmes, mais les espèces concernées pourraient être différentes. Notons également que l'isolement du virus de Marburg a été réalisé sur une chauve-souris (*Rousettus aegyptiacus*) dans les conditions naturelles (Towner *et al.* 2009).

Il existe deux situations à haut risque pour la transmission interhumaine :

- Des agents de santé sont souvent infectés en traitant des cas suspects ou confirmés de maladie à virus Ebola. Cela se produit lors de contacts étroits avec les patients, lorsque les procédures de biosécurité n'ont pas été strictement appliquées et/ou que les tenues de protection ne sont pas suffisamment disponibles. Ainsi, dans le contexte africain, on estime qu'environ 5 % des cas de fièvre Ebola concernent des agents de santé ;
- Les rites funéraires, au cours desquels les parents et amis du défunt sont en contact direct avec la dépouille, jouent également un rôle dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola.

Les sujets atteints restent contagieux tant que le virus est présent dans leur sang et leurs liquides biologiques, y compris le sperme et le lait maternel. Chez l'homme, le sperme peut continuer de transmettre le virus jusqu'à sept semaines après la guérison clinique (OMS 2014b).

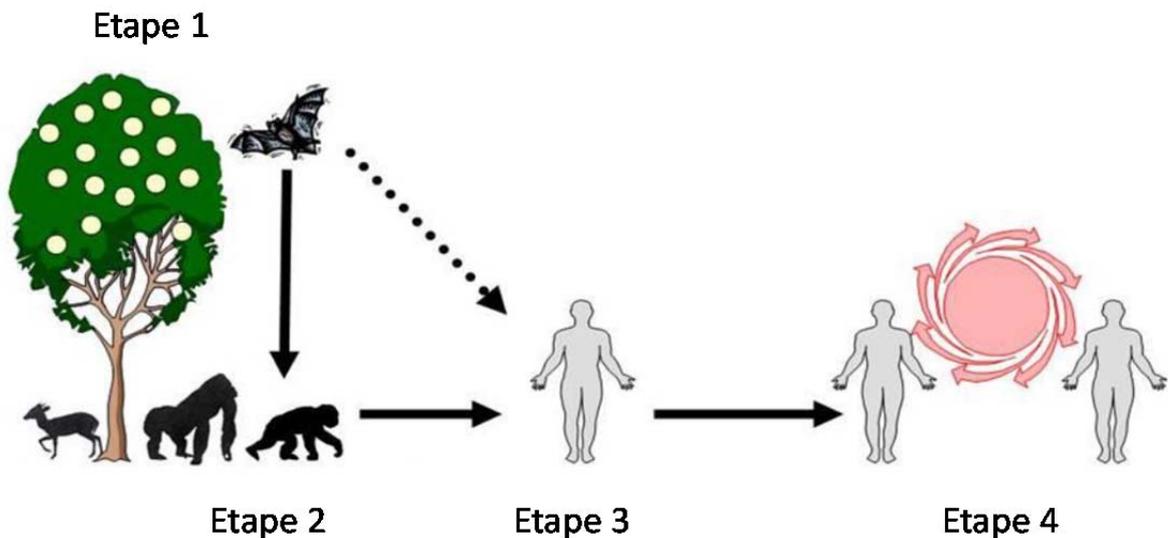


Figure 2. Cycle biologique naturel supposé des virus de la maladie d'Ebola (OMS 2014b)

Légende : pour les différentes étapes (1 à 4), le lecteur se référera au texte du point 1.4. Les flèches représentent les voies les plus probables (en trait continu) ou possibles (en trait discontinu) de transmission virale.

1.5. Symptômes en cas d'infection naturelle

1.5.1. Chez l'homme

La durée d'incubation varie de 2 à 21 jours. Tant qu'il ne présente pas de symptôme, l'homme n'est pas contagieux. Les premiers symptômes (1-3 jours) sont peu caractéristiques, du type pseudo-grippal : une fatigue fébrile à début brutal, de la fièvre, des douleurs musculaires, des céphalées, des nausées et un mal de gorge. Ils sont rapidement suivis de toux, de vomissements, de diarrhée, d'une éruption cutanée, de symptômes d'insuffisance rénale et hépatique et, dans certains cas, d'hémorragies internes et externes (par exemple, saignement des gencives, sang dans les selles). Les analyses de laboratoire révèlent une baisse de la numération leucocytaire et plaquettaire, ainsi qu'une élévation des enzymes hépatiques (OMS 2014c).

Le décès survient dans un tableau de choc avec défaillance multi-viscérale, au bout de 6 à 16 jours (Feldmann and Geisbert 2011).

Les cas non mortels peuvent entraîner des séquelles neurologiques, hépatiques ou oculaires. L'espèce EBOV semble plus dangereuse que l'espèce SUDV, avec un taux de létalité pouvant atteindre 60 à 90 % (Feldmann and Geisbert 2011).

En outre, l'existence de formes asymptomatiques ou bénignes a été décrite (Bellan *et al.* 2014; Leroy *et al.* 2000). On dispose cependant de peu de données sur les cas asymptomatiques ou pauci symptomatiques. Plusieurs travaux, publiés ou non, indiquent des taux de séropositivité non négligeables, de 15 % au Gabon (Becquart *et al.* 2010), au sein de diverses populations vivant en région intertropicale. En outre, l'espèce REST ne semble pas induire de fièvre

hémorragique chez l'homme alors qu'elle pourrait être fatale chez les macaques (Geisbert *et al.* 1992) ou les porcs (Sayama *et al.* 2012) bien que dans ces deux cas, l'infection concomitante par d'autres virus ait pu exacerber la pathogénicité.

Des définitions standards de la « fièvre hémorragique virale » ont été élaborées pour identifier les cas d'« alerte », les cas « suspects », « probables » et « confirmés » avant et pendant une flambée épidémique (OMS 2014d) (Annexe 4). Les cas d'« alerte » n'existent pas pour le personnel médical qui est classé directement dans la catégorie des cas « suspects », « probables » ou « confirmés ».

Le tableau 6 décrit le tableau clinique comparé des fièvres hémorragiques dues aux virus de la maladie d'Ebola et de la maladie de Marburg (InVS 2014).

Tableau 6. Tableau clinique comparé des fièvres hémorragiques dues aux virus de la maladie d'Ebola et de la maladie de Marburg (InVS 2014)

Symptômes	Virus de la maladie d'Ebola	Virus de la maladie de Marburg
Fièvre	+++	+++
Asthénie	++++	++++
Myalgies/arthralgies	+++	+++
Céphalées	+++	+++
Maux de gorge	+++	-
Diarrhée	++	++
Vomissements	++	++
Eruption cutanée	++	++
Hémorragies ⁵	+	++

Légende : Le nombre de croix est proportionnel à la fréquence de chaque symptôme. Les taux de létalité sont présentés en Annexe 2.

En outre, les maladies à virus Ebola ou à virus Marburg peuvent être difficiles à distinguer de la maladie à virus Lassa (autre fièvre hémorragique sévissant en Afrique de l'Ouest due à un *Arenavirus*) ainsi que d'autres maladies infectieuses comme le paludisme, la fièvre typhoïde et la méningite (OMS 2014c).

1.5.2. Chez les animaux

Parmi les espèces sensibles (exprimant cliniquement la maladie – voir point 1.2), les primates non humains sont les plus sensibles. En milieu naturel, il est toutefois difficile de relier les signes cliniques à une maladie due aux *Filoviridae*, compte tenu du fait que les signes cliniques sont non spécifiques et que le diagnostic différentiel inclut de nombreuses autres maladies hémorragiques. Le diagnostic clinique présomptif doit toujours être confirmé par un diagnostic de laboratoire (voir point 1.7). La sévérité de la maladie est parfois telle qu'elle peut conduire rapidement à la mort. Globalement, les signes cliniques présentés sont assez similaires à ceux présents chez l'homme mais leur sévérité peut être différente. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette différence de sévérité : une même souche virale à virulence différente entre l'homme et les primates non humains ou la co-infection des primates non humains par un virus à effet immunodépresseur tel que, par exemple, le virus de l'immunodéficience simienne (SIV), le Simian T-Cell Leukemia Virus (STLV) ou le Simian Hemorrhagic Fever Virus (SHFV). Ainsi, une

⁵ Les hémorragies sont visibles dans moins de la moitié des cas confirmés d'infection à virus Ebola/Marburg. Il n'y a parfois que des hémorragies internes qui échappent fréquemment à l'observation (OMS, 2014).

souche peu virulente de virus de la maladie d'Ebola pourrait le devenir suite à une infection concomitante.

Une revue de la littérature a été rédigée sur le sujet par Schou and Hansen (2000).

1.6. Physiopathologie de l'infection et lésions

1.6.1. Infections sévères

La physiopathologie de l'infection est relativement bien connue dans les cas les plus graves de maladie à virus Ebola. Dès 2004, Mahanthy *et al.* (Figure 3) ont distingué deux catégories de mécanismes clés, lesquels se combinent pour conduire à une maladie hémorragique systémique (ces données ont été confortées par d'autres auteurs) :

- 1^{ère} catégorie : mécanismes liés à l'action directe du virus sur les tissus de l'hôte :
L'EBOV est capable de se lier à de nombreuses cellules de l'hôte, grâce à la forte glycosylation de sa glycoprotéine (cf. *infra*). Une fois dans ces cellules (parenchymateuses et endothéliales), l'action cytotoxique du virus conduit à une nécrose tissulaire ;
- 2^{ème} catégorie : mécanismes indirects liés à la réaction de l'hôte à la présence du virus, qui eux-mêmes contribuent à l'augmentation du niveau de réplication virale. Ainsi, l'EBOV agit à plusieurs niveaux :
 - o Effet inhibiteur sur la réponse immunitaire innée en bloquant la production de cytokines à activité anti-virale (comme les interférons de type I (α/β)) par les cellules dendritiques et les macrophages, premières cellules en contact avec le virus (Gupta *et al.* 2001; Kobinger *et al.* 2011) ;
 - o Effet inhibiteur sur la réponse immunitaire spécifique, d'une part, en bloquant partiellement l'activation des lymphocytes T par les cellules dendritiques et les macrophages (le virus agirait notamment par un effet appelé « *Glycan umbrella* », la forte glycosylation de la glycoprotéine virale empêchant, par inhibition stérique, la mobilisation de molécules de surface, notamment les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de type 1 (CMH1) et les β intégrines (Francica *et al.* 2010) et, d'autre part, en exerçant une action apoptotique massive (sans y pénétrer) sur les lymphocytes. Cette déplétion lymphocytaire est également observée chez les cobayes qui développent une forme sévère après inoculation d'une souche virulente, en comparaison avec ceux inoculés avec la souche sauvage EBOV-1976 à laquelle ils sont peu sensibles (Chepurinov *et al.* 2001) ;
 - o Durant l'infection à virus Ebola, les cellules infectées sécrètent la glycoprotéine (GP) de surface rendue soluble par l'action d'une métallo-protéase d'origine cellulaire. Cette GP soluble se lie et active les cellules dendritiques et les macrophages non infectées et induit de ce fait la sécrétion massive de cytokines pro- et anti-inflammatoires (TNF α , IL1 β , IL6, IL8, IL12p40, IL1RA, IL10) qui ont un effet sur la perméabilité vasculaire. De ce fait, les réactions inflammatoires de l'hôte sont excessives et dérégulées et contribuent dès lors à exacerber le pouvoir pathogène du virus Ebola (Escudero-Pérez *et al.* 2014). Ainsi cette « tempête cytokinique » due à la production importante des différentes cytokines pro-inflammatoires (IL6, IL1 β , et TNF α), de chémokines (MCP-1, MIP-1 β), de facteurs tissulaires et d'éventuels autres facteurs sécrétés par les macrophages, conduit à une destruction tissulaire massive, à des troubles de la coagulation, à une coagulation intra vasculaire disséminée (CIVD), et aux hémorragies qui sont la caractéristique des formes graves. De la même façon, les porcs infectés expérimentalement avec le virus EBOV qui font les formes les plus sévères ont une production précoce de certains de ces médiateurs (Kobinger *et al.* 2011). Inversement, la production de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL10 est insuffisante pour enrayer ce processus (Weingartl *et al.* 2012).

Au bilan, dans les formes graves, la destruction (directe et indirecte) des cellules parenchymateuses induit l'apparition de foyers de nécrose qui s'étendent de proche en proche, causant des troubles fonctionnels systémiques. La destruction des cellules endothéliales et les troubles de la coagulation provoquent des hémorragies massives.

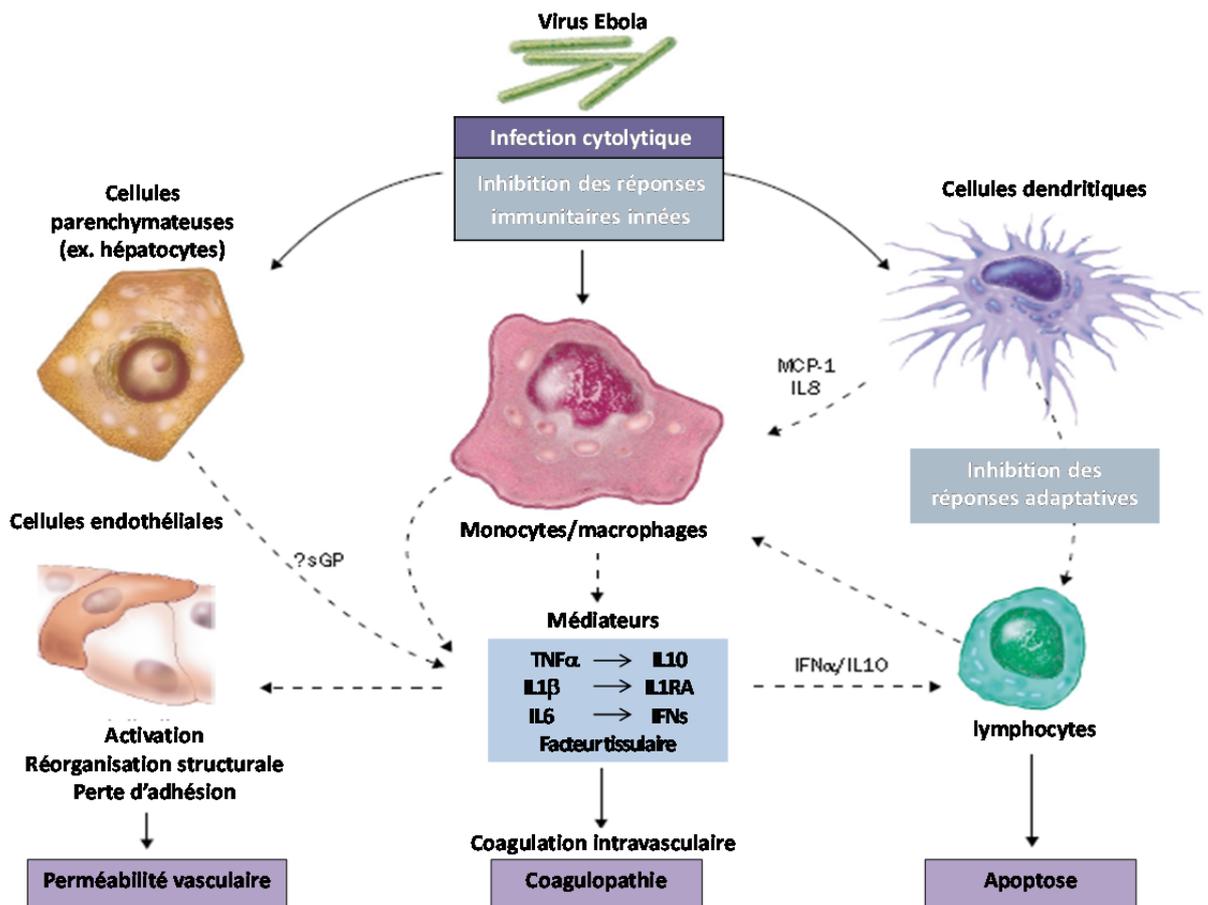


Figure 3 : Mécanismes clés de la maladie à virus Ebola, conduisant à une hémorragie systémique (Mahanty and Bray 2004)

1.6.2. Infections plus bénignes, infections asymptomatiques

Certaines caractéristiques physiopathologiques sont associées aux infections bénignes et asymptomatiques, d'après les éléments fournis par les infections naturelles (homme, primates non humains) ou expérimentales (primates non humains, porcs, rongeurs...).

- Une très forte réponse interféron de type I, démontrée chez la souris (Bray 2001), ainsi que chez le jeune porc infecté expérimentalement par la souche EBOV. La plus faible sensibilité des jeunes porcs serait associée à une production plus élevée d'interféron α (Weingartl *et al.* 2013) ;
- Chez les patients ayant développé une forme symptomatique bénigne, la production de cytokines pro-inflammatoires et de chémokines a lieu mais se tarit rapidement, ce qui permet d'éviter la tempête cytokinique et ses conséquences néfastes (Leroy *et al.* 2000) ;
- Plusieurs études suggèrent que la réponse immunitaire cellulaire, et notamment la production d'interféron γ , jouerait un rôle protecteur (Wong *et al.* 2012), comme cela semble être le cas pour les anticorps neutralisants. Il a notamment été montré chez plusieurs espèces (notamment les chauves-souris considérées comme des réservoirs asymptomatiques et les porcs) que l'apparition d'une réponse humorale est associée voire succède à la disparition du virus et de l'ARN viral de l'organisme. Toutefois, la fonction biologique des anticorps mis en jeu n'a pas été démontrée (Kobinger *et al.* 2011; Leroy *et al.* 2005).

1.6.3. Principaux facteurs identifiés à ce jour comme intervenant ou susceptibles d'intervenir dans la sensibilité ou la résistance des espèces et/ou des individus à l'infection par les *Ebolavirus*

Les facteurs conditionnant la différence de réceptivité et de sensibilité des espèces et/ou des individus n'ont pas été individualisés de façon explicite et univoque. Il apparaît clairement que cette différence est par essence multifactorielle et implique des interactions complexes avec l'hôte. Il est par ailleurs quasiment impossible actuellement de dissocier les facteurs intervenant dans la résistance/sensibilité à l'échelle des espèces de ceux intervenant à l'échelle des individus.

1/ Facteurs viraux :

Chez les rongeurs (souris, hamster et cobaye), il a été nécessaire d'adapter les souches virales sauvages pour obtenir des formes symptomatiques. La plupart des études suggèrent que les mutations qui ont été observées à la suite de ces adaptations agissent surtout en modifiant la nature des interactions avec les cellules cibles et/ou le système immunitaire de l'hôte (c'est notamment le cas pour la glycoprotéine de surface GP), ce qui a conduit à mettre en évidence un certain nombre de paramètres importants pour l'infection (*cf. infra*). Ainsi, Chepurinov *et al.* (2003) ont établi un lien entre la virulence des souches « murinisées » et des mutations affectant le gène *vp24*. Ebihara *et al.* (2006) ont confirmé ce lien en montrant que la différence de résistance des souris à des souches sauvages et « murinisées » d'EBOV réside dans de simples substitutions d'acides aminés de la protéine VP24 et de la nucléoprotéine NP, qui conditionnent la capacité ou pas de ces souches à inhiber la signalisation par les interférons de type I chez la souris. Des mutations affectant *vp24* ont également été associées à une plus grande virulence des souches adaptées au cobaye, mais les mutations seraient associées dans ce cas à une meilleure capacité du virus adapté à se multiplier dans les macrophages et les hépatocytes du cobaye (Mateo *et al.* 2010).

Dans le cas du virus REBOV, une différence de 105 acides aminés, dont 32 appartenant à la glycoprotéine virale GP, a été trouvée entre la souche Pennsylvania (isolée chez des macaques *Cynomolgus* lors de l'épisode survenu aux USA en 1989), et la souche Reston08-A (isolée d'un porc lors de l'épisode survenu chez des porcs aux Philippines en 2008). Or, la souche Pennsylvania est nettement plus virulente que la souche Reston08-A, chez un modèle murin récemment développé par de Wit *et al.* (2011). Ceci amène ces auteurs à spéculer sur l'atténuation possible de la souche Reston08-A, soit du fait de sa circulation chez le porc, soit plus précocement chez un réservoir encore non clairement identifié.

Les études réalisées chez l'Homme infecté naturellement par l'espèce EBOV (Leroy *et al.* 2002; Leroy *et al.* 2000) tendent à montrer que les phénotypes cliniques (formes asymptomatique à forme hémorragique mortelle) ne sont pas dépendants de mutations virales spécifiques. Ceci suggère que c'est essentiellement la réponse de l'hôte qui détermine la gravité de l'infection par EBOV.

2/ Facteurs associés aux interactions hôte/virus :

a) Etape de fixation des *Ebolavirus* aux cellules cibles et étape d'internalisation :

Il est classique d'associer la barrière d'espèce à l'existence ou non de récepteurs viraux spécifiques. Dans le cas des *Ebolavirus*, il est établi que la GP virale joue un rôle déterminant dans la pénétration des virus dans les cellules et dans le devenir de l'infection. Pour autant, cette étape ne semble pas conditionner la spécificité d'hôte mais peut-être davantage la gravité de la forme clinique chez les individus sensibles. En effet :

- la glycoprotéine virale GP, très glycosylée, a la capacité de se lier à des lectines présentes à la surface de très nombreux types cellulaires chez de nombreuses espèces animales. Divers autres récepteurs potentiels, tous riches en glycanes, ont été incriminés, mais eux aussi sont assez ubiquitaires. Tous n'ont pas encore été identifiés (Brudner *et al.* 2013).

- une lectine soluble, la MBL (Mannose-binding lectin) semble jouer un rôle déterminant chez l'homme dans l'issue de l'infection par le virus Ebola. La MBL, qui a la capacité de se lier à des structures fortement glycosylées, comme la GP du virus Ebola, est classiquement décrite comme un facteur majeur de la phago-opsonisation de nombreux agents pathogènes, grâce notamment à sa capacité à se lier à des récepteurs cellulaires et à son potentiel d'activation de la cascade du complément. De ce fait, une forte MBL-émie est considérée comme protectrice. Or, en Afrique, la fréquence des individus ayant une faible MBL-émie est particulièrement élevée. Brudner *et al.* (2013) ont émis l'hypothèse que paradoxalement, chez les individus dont le taux de complément sérique est faible, la MBL pourrait jouer un rôle de « facilitation » de l'infection, en favorisant les contacts entre la GP du virus Ebola, à laquelle elle se fixe, et la surface des cellules cibles, puis en intervenant dans l'internalisation du virus. La sélection d'individus à MBL-émie faible contribuerait donc en Afrique à la protection contre le virus Ebola et d'autres virus à GP fortement glycosylés.

- b) Etape de clivage endosomal de la glycoprotéine :
Une étape cruciale du cycle de réplication intracellulaire, dans le cas du virus Ebola, est le clivage de la GP par des protéases à cystéine dans le compartiment endosomal, nécessaire pour la pénétration du virus dans le cytoplasme. Cette étape requiert la fixation de la GP à la protéine NPC1 (Niemann-Pick C1) qui est le premier récepteur viral connu reconnaissant son ligand dans le compartiment endosomal et non à la surface de la cellule cible. Chez la souris cette étape joue un rôle majeur dans la pathogénie de l'infection (Carette *et al.* 2011). En tant que récepteur « interne » du virus Ebola, NPC1 participerait donc à la barrière d'espèce. Or, NPC1 est très conservée chez les animaux et il a été montré *in vitro* (cellules de vertébrés) et *in vivo* (modèle souris) qu'elle est indispensable à l'infection par les *Filoviridae*. Ce constat est cohérent avec la capacité des *Ebolavirus* à infecter des cellules issues de nombreuses espèces animales *in vitro* et invite à étudier les (in)compatibilités entre les GP virales et les orthologues de NPC1 chez les différentes espèces animales. D'éventuelles incompatibilités pourraient en effet limiter le spectre des hôtes capables d'être infectés par le virus Ebola dans la nature.

- c) Capacité d'activation du système immunitaire inné et acquis :
Chez la souris, la résistance aux souches « murinisées » est fortement corrélée à la capacité des polynucléaires neutrophiles (PNN) à être activés et à présenter une activité phagocytaire intense, ainsi qu'au nombre de lymphocytes (Chepurnov *et al.* 2001; Chepurnov *et al.* 2003). Cette aptitude du système immunitaire à contrôler l'infection pourrait expliquer des infections asymptomatiques chez les rongeurs sauvages, comme suggéré par la détection de séquences de virus Ebola au sein de populations de rongeurs en République centrafricaine (Morvan *et al.* 1999).
La résistance pourrait aussi être corrélée à la capacité d'activation de la réponse interféron, contrecarrant l'inhibition de la signalisation des interférons de type I indiquée plus haut (Ebihara *et al.* 2006). Ainsi, le modèle d'infection murin par le virus REBOV n'a pu être développé que chez des souris STAT1-/- déficientes pour un important composant de la cascade de signalisation des interférons α/β et γ (De Wit *et al.* (2011).
Plus récemment, l'accent a été mis sur l'importance de la capacité des souris à développer une réponse immunitaire spécifique vis-à-vis d'EBOV impliquant différents effecteurs parmi lesquels les lymphocytes T CD4+, CD8+, les interférons γ et/ou les anticorps anti-GP (Nakayama and Saijo 2013; Panchal *et al.* 2009; Wong *et al.* 2012). Panchal *et al.* (2009) insistent en particulier sur la forte association entre la résistance des souris et le niveau de CD45, tyrosine kinase médiateur pléiotropique de la fonction lymphocytaire.

- d) Capacité à contrôler les étapes tissulaires tardives :
Très récemment, Rasmussen *et al.* (2014) ont testé des lignées de souris illustrant tout le spectre de sensibilité vis-à-vis de souches « murinisées » de virus Ebola (résistance totale à fièvre hémorragique 100% fatale). Chez les souris résistantes, la diffusion virale est limitée

dans les organes aux cellules endothéliales et aux macrophages et cette limitation de l'infection va de pair avec l'activation de certains gènes. Parmi ceux-ci, les gènes codant les tyrosines kinases endothéliales *Tie1* and *Tek* (*Tie2*), associées au maintien de l'intégrité vasculaire. L'expression des mêmes gènes est diminuée chez les souris sensibles, concomitamment à l'installation de la coagulopathie. Cette étude suggère des bases génétiques à la différence de résistance des espèces animales, des lignées animales et des individus.

1.7. Diagnostic

Une difficulté importante du diagnostic clinique de l'infection à EBOV résulte, d'une part, du tableau clinique très différent selon l'espèce animale et le virus incriminé, et, d'autre part, du peu de spécificité des premiers symptômes (pseudo-grippaux) qui peuvent être confondus avec ceux d'autres fièvres hémorragiques virales (fièvre de Lassa), voire d'autres maladies (par exemple, le paludisme). L'infection de l'homme et l'infection naturelle des primates non humains peuvent ainsi conduire à des tableaux cliniques très différents, allant d'une affection asymptomatique jusqu'à une fièvre hémorragique avec des taux très élevés de morbidité et de mortalité. De même, selon l'espèce virale en cause, le tableau clinique peut largement varier en intensité. Chez l'homme par exemple, l'infection à EBOV induit une fièvre hémorragique mortelle dans plus de 50 % des cas alors que l'infection par REBOV est asymptomatique.

En raison du peu de spécificité des premiers symptômes de la fièvre hémorragique à EBOV chez l'homme, la maladie est néanmoins suspectée chez des patients fébriles associant des symptômes généraux (voir chapitre symptômes) et un historique de voyage en provenance d'une zone d'endémie. Le diagnostic différentiel doit cependant être fait avec des affections fébriles aiguës largement répandues dans les zones d'endémie Ebola telles que le paludisme ou bien la fièvre typhoïde.

La confirmation du diagnostic repose donc sur des tests virologiques et/ou sérologiques réalisés à partir de prélèvements sanguins mais aussi d'écouvillons oraux ou nasaux ou bien encore de tissus collectés *post mortem*. Les échantillons (sang, sérum, tissus...) doivent être manipulés avec les plus grandes précautions compte tenu de leur potentiel infectieux. Pour le diagnostic, ils sont manipulés sous un poste de sécurité microbiologique où ils sont d'abord inactivés. L'analyse génétique ou sérologique de l'échantillon inactivé peut ensuite être réalisée dans des conditions standards. En cas d'épidémies, des laboratoires mobiles sécurisés (poste de sécurité microbiologique, boîtes à gant) sont déployés sur le terrain pour un diagnostic rapide des cas, un point crucial pour la gestion de l'épidémie. En dehors des épidémies, le diagnostic est réalisé dans des laboratoires spécialisés comme le Centre National de Référence (CNR) des fièvres hémorragiques de Lyon ou la Cellule Biologique d'Intervention d'Urgence à l'Institut Pasteur de Paris pour ce qui concerne la France. Le CNR est localisé à proximité du Laboratoire de niveau de sécurité biologique 4 (BSL4 – Marcel Mérieux) qui est nécessaire pour manipuler le virus vivant, pour des expériences *in vitro* (culture cellulaire) ou *in vivo* (expérimentation animale).

1.7.1. Diagnostic virologique

1.7.1.1. Les tests rapides

Ces tests visent à détecter le plus rapidement possible certains constituants viraux qui signent l'infection aiguë. Ils sont utilisés en conditions de terrain après inactivation du prélèvement, celle-ci pouvant se dérouler au cours même du processus analytique.

- la méthode standard consiste à détecter des acides nucléiques d'EBOV présents dans l'échantillon en faisant appel à la RT-PCR nichée ou en temps réel. Cette méthode est très sensible, rapide (quelques heures) et elle peut permettre de caractériser l'espèce ou la souche virale en séquençant les produits amplifiés. Elle présente néanmoins l'inconvénient d'être sensible à l'évolution génétique des virus qui peut induire des

résultats faussement négatifs lorsque des mutations ne permettent pas aux amorces de s'apparier à l'ARN viral. La PCR permet en général de détecter l'infection 24 à 48h avant l'ELISA antigène mais des essais de détection des protéines virales produites précocement durant l'infection (notamment la glycoprotéine « sécrétée ») sont actuellement en développement (voir ci-dessous).

- L'ELISA antigène détecte les antigènes viraux présents dans le sang dès 3 jours et jusqu'à 7 à 16 jours après le début des symptômes chez l'homme. Cette méthode rivalise avec la PCR en matière de rapidité (quelques heures). Sa spécificité et sa sensibilité sont de 98 % par rapport à l'isolement viral. Des bandelettes permettant la détection très rapide (15 minutes) des antigènes viraux présents dans le sang (notamment la nucléoprotéine ou la glycoprotéine « sécrétée ») sont aussi en développement, leur spécificité et sensibilité ne sont pas encore connues.

1.7.1.2. Isolement viral

L'isolement viral est la technique de référence pour pouvoir étudier le virus et sa pathogénicité. Il doit être réalisé dans un laboratoire de sécurité BSL4 sur des cellules de lignées sensibles (Vero par exemple). La multiplication du virus dans les cellules est révélée par immunofluorescence à l'aide d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux anti-EBOV. Des lames de cellules infectées et inactivées (fixation) peuvent aussi servir à détecter des anticorps spécifiques dans un sérum (cf. diagnostic sérologique).

1.7.1.3. Autres tests

D'autres tests peuvent être cités comme :

- Immunohistochimie : la présence des antigènes viraux peut être mise en évidence dans des tissus d'animaux morts ou euthanasiés fixés en formol ;
- Microscopie électronique : les particules virales peuvent être détectées dans les tissus ou les fluides infectés. Cette technique est peu sensible et requiert un équipement et un personnel hautement spécialisés qu'on ne trouve que dans les laboratoires de référence.

1.7.2. Diagnostic sérologique

Les IgM peuvent apparaître dès 2 jours après le début des symptômes et disparaissent entre 1 et 4 mois après l'infection. Les IgG quant à elles apparaissent entre 6 et 18 jours après le début des symptômes et peuvent persister pendant plusieurs années chez l'homme (sans pouvoir exclure d'éventuelles nouvelles expositions) et plus d'une année chez les primates non humains en condition expérimentale (Ksiazek *et al.* 1999b). Chez les primates, les cas conduisant à la mort ne développent que peu ou pas de réponse anticorps.

- IFA : ce test d'immunofluorescence indirect repose sur la fixation des anticorps sur un tapis de cellules infectées (lames). Sa spécificité est faible.
- ELISA : ces tests sensibles et spécifiques reposent sur la fixation des anticorps à des antigènes viraux irradiés produits sur culture cellulaire ou des antigènes recombinants. Pour les IgM, l'ELISA est un test de capture alors que pour les IgG, il s'agit d'un ELISA direct. Les réactions croisées sont faibles entre les différentes espèces d'EBOV pour les IgM alors qu'elles sont plus fortes pour la détection des IgG.

D'un point de vue diagnostique, la présence d'IgM ou bien l'augmentation du titre en IgG entre deux prélèvements successifs apporte une forte présomption d'une infection récente par EBOV. La présence d'IgG seulement est la cicatrice d'une infection ancienne, par exemple chez les personnes ayant survécu à la maladie d'Ebola. Il est important de noter que la sérologie ne se pratique pas en routine dans le contexte d'une épidémie pour laquelle la détection génétique ou antigénique, plus précoces, sont préférées. Elle est cependant utilisable dans les laboratoires de référence comme sur le terrain

- Neutralisation virale : chez l'homme, des titres faibles d'anticorps neutralisants apparaissent tardivement au cours de la convalescence. Ces anticorps participeraient à la protection contre l'infection, comme le démontre leur effet protecteur lors de transfusion. Du fait de leur

apparition tardive, ces anticorps ont un intérêt limité d'un point de vue diagnostique mais leur utilisation thérapeutique peut donc être envisagée. La réaction de neutralisation virale faisant appel à du virus infectieux, elle requiert d'effectuer les manipulations en laboratoire BSL4. L'utilisation d'outils de génétique inverse a permis de créer des virus fluorescents permettant des résultats plus rapides (nul besoin de révéler l'infection par des anticorps spécifiques). D'autre part, on peut exprimer la GP d'EBOV dans d'autres vecteurs ou pseudotypes viraux (Moloney Leukemia Virus, MLV et virus de la stomatite vésiculeuse, VSV), ce qui permet d'effectuer les expériences de séro-neutralisation en dehors des BSL4.

2. Evaluation du rôle des carnivores domestiques dans la transmission à l'homme du virus de la maladie Ebola

2.1. Champ de l'expertise

Pour qu'un chien soit susceptible de contaminer un homme (ou d'autres animaux), il faut qu'il ait lui-même été infecté. De ce fait, le champ de l'expertise prendra en compte les sources possibles de contamination des chiens :

- D'une part, dans les zones où le virus circule naturellement : il peut s'agir soit de produit de chasse, soit de chauves-souris vivantes, soit de patients humains (qui peuvent être ou pas le maître du chien), de leurs sécrétions et excréments, notamment des vomissements que les chiens peuvent consommer ;
- D'autre part, dans les pays où le virus ne sévit pas, le chien peut se contaminer au contact d'un patient rapatrié ou d'un cas humain secondaire au patient rapatrié (par exemple : cas contact, soignant, proche du malade).

Un élément crucial du risque de contamination entre chien et homme, quel que soit le lieu, est leur proximité relationnelle. Le fait que, dans les foyers d'infection épidémiques, les chiens soient souvent libres (pouvant fréquenter les forêts proches des villages), ou jouent le rôle d'animal utilitaire (notamment de chien de chasse), tout en restant très proches de l'homme, est aussi à prendre en considération.

2.2. Evaluation du rôle du chien

2.2.1. Dans la transmission virale à l'homme

Différentes informations de nature virologique, épidémiologique, physiopathologique en conditions d'infection naturelle du chien et/ou expérimentale (à ce jour sur d'autres modèles que le chien) permettent d'établir des hypothèses sur la possibilité que le chien puisse être infecté voire puisse constituer une source d'infection pour l'homme ou d'autres animaux :

- Même si la spécificité du test ELISA IgG utilisé dans l'étude d'Allela *et al.* (2005) n'est pas parfaitement connue dans l'espèce canine, le taux élevé de chiens séropositifs (31,8 %) mesuré au Gabon en 2003 dans les zones où des cas humains ont été observés lors du foyer de 2001-2002, alors que ce taux était beaucoup plus faible (8,9 %) dans deux villes du Gabon sans cas humain observé durant l'épidémie vient conforter cette hypothèse. Il reste à montrer si cette séroconversion des chiens a été induite par la réplication virale, même à faible titre, ou par une simple stimulation antigénique non associée à une infection productive. Toutefois, le taux élevé de séroconversion et la persistance de cette séroconversion argumentent plutôt en faveur de la première hypothèse ;

- Il est démontré que le virus de la maladie d'Ebola peut infecter naturellement et/ou expérimentalement de nombreuses espèces animales : (i) les chiroptères et les primates (incluant l'homme), (ii) un ruminant, le céphalophe en conditions naturelles, (iii) les porcs - RESTV en conditions naturelles et EBOV en conditions expérimentales (Kobinger *et al.* 2011; Weingartl *et al.* 2013)-, (iv) les petits ruminants, chèvre et mouton en conditions expérimentales (Cherpunov *et al.* 1998), (v) différents rongeurs de laboratoire, cobaye, hamster, souris après adaptation de la souche virale (Nakayama and Saijo 2013). Il est aussi à noter que :
 - des cellules de lignée de chien et d'autres espèces : humaines, simiennes, murines, bovines, porcines, de hamster, de caille, de poulet, de dinde, de chauve-souris et de marsupial (Wool-Lewis and Bates 1998) sont infectées par le Moloney Leukemia Virus (MLV) exprimant la glycoprotéine GP du virus EBOV,
 - des porcs infectés expérimentalement avec le virus EBOV sont capables d'excréter le virus et de le transmettre à d'autres porcs, dans le contexte d'une maladie cliniquement exprimée, avec des manifestations discrètes à sévères (Kobinger *et al.* 2011). Aucune observation de terrain n'a révélé à ce jour des cas d'infection naturelle à EBOV, symptomatique ou pas chez les porcs. Une situation similaire ne peut être exclue chez le chien, notamment dans le contexte d'une infection asymptomatique ou pauci-symptomatique.
 - la forte glycosylation de la glycoprotéine de surface virale pourrait permettre au virus de se lier à toute cellule riche en lectines, facilitant sa liaison à des récepteurs cellulaires spécifiques, qui, pour ceux qui sont connus (sur les lymphocytes T notamment), apparaissent comme assez ubiquitaires eux aussi. La protéine NPC-1 qui intervient dans un second temps durant le processus d'internalisation du virus pourrait être un autre source de spécificité bien qu'elle apparaisse très conservée au sein du monde animal (Miller *et al.* 2012)
 - Au sein de l'ordre des *Mononegavirales*, les *Henipavirus*, dont le réservoir naturel est constitué par des chauves-souris frugivores, comme c'est probablement le cas des *Filoviridae*, et qui sont également zoonotiques, sont connus pour affecter sévèrement le porc (virus Nipah) ou le cheval (virus Hendra). Ils sont par ailleurs capables d'infecter un éventail d'hôtes plus large et en particulier les carnivores domestiques. Ainsi : (i) le chien constitue un des hôtes possibles des virus Nipah et Hendra ; (ii) le chat peut aussi être infecté par le virus Nipah. La mannose-binding lectin (MBL) est d'ailleurs facilitatrice de l'entrée des *Henipavirus* dans leurs cellules cibles, comme c'est le cas pour les *Filoviridae* (Brudner *et al.* 2013).
- La source de contamination de certains cas humains n'a pas été identifiée à ce jour, mais l'implication de chauves-souris, de primates non humains ou d'autres humains malades a été exclue. Ceci soulève la possibilité d'autres sources d'infection, dont le chien (Allela *et al.* 2005).

A contrario, des éléments plaident en faveur d'une implication très limitée voire nulle du chien, dans la transmission du virus à l'homme :

- L'absence de cas cliniques observés chez le chien à ce jour, aussi bien dans le cadre de l'étude d'Allela *et al.* (2005) que chez les chiens Excalibur et Bentley. Cependant, Excalibur a été euthanasié en raison de l'impossibilité d'identifier une station de quarantaine de niveau BSL4. Quant à Bentley, il n'avait été exposé à sa maîtresse que durant les deux premiers jours de la maladie de celle-ci, c'est-à-dire à une période où l'excrétion est présumée être encore très faible voire nulle chez les patients. L'absence de séroconversion chez ce dernier plaide donc en faveur d'une absence d'excrétion de sa maîtresse à la date de leur séparation plutôt qu'en faveur d'une absence de réceptivité et/ou de sensibilité du chien ;

- Le fait que dans l'étude d'Allela *et al.* (2005), 22,4 % des chiens aient été trouvés séropositifs dans des villages où aucun cas humain n'a été observé, ce qui suggère que, même si une réplication virale a eu lieu chez le chien, elle n'a pas permis une transmission du virus au(x) maître(s).
- La relative stabilité du virus sur le terrain, des modifications limitées ayant été observées chez le virus EBOV depuis 38 ans, suggérant qu'il n'y aurait pas de variant adapté au chien. Cependant, la capacité du virus à s'adapter à de nouvelles espèces hôtes a été démontrée expérimentalement chez les rongeurs de laboratoire, avec augmentation de la virulence pour ces espèces. La stabilité des souches issues du terrain suggère que de telles adaptations ne se sont pas produites ou que, si le chien peut être infecté, voire excréter le virus, son infection et *a fortiori* la transmission entre chiens doivent être suffisamment rares pour que leur impact sur la génétique virale soit faible, et/ou que le chien n'exerce pas de pression de sélection sur des variants qui lui seraient plus adaptés.

Le schéma événementiel d'une éventuelle transmission induite par un chien exposé au virus de la maladie d'Ebola est présenté à la Figure 4.

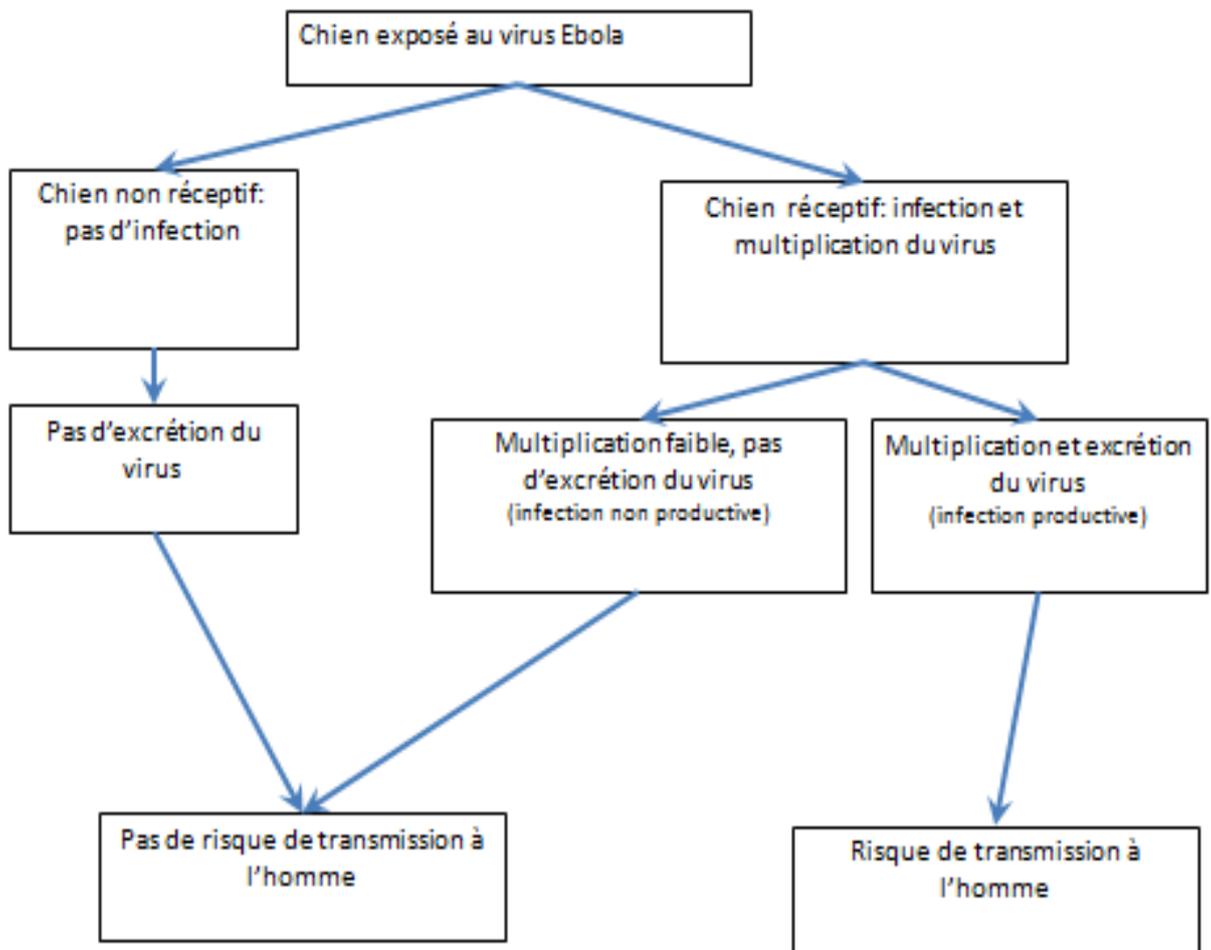


Figure 4. Schéma événementiel d'une éventuelle transmission induite par un chien exposé au virus de la maladie d'Ebola

Compte tenu des données disponibles, il ne peut pas être exclu que les chiens en contact avec le virus de la maladie d'Ebola, à partir d'une source humaine (directement ou indirectement) animale ou végétale (fruits contaminés) puissent s'infecter. Dans ce cas, une réplication et une excrétion du virus ne peuvent être exclues. L'éventuelle transmission à l'homme doit donc être envisagée.

2.2.2. Dans la transmission virale à un autre animal

- Transmission de chien à chien :

Comme l'hypothèse de chiens infectés et excréteurs ne peut être exclue, il convient d'envisager qu'ils puissent contaminer d'autres chiens. Ce scénario est rendu plausible par le comportement naturel des chiens entre eux qui peut conduire à un contact éventuel de chiens sains avec les fluides d'un chien excréteur.

Les taux élevés de séroprévalence mis en évidence dans l'étude d'Allela *et al.* (2005) entre chiens appartenant aux mêmes villages sans cas humain identifié, suggèrent une éventuelle diffusion virale de chien à chien. Mais les nombreuses hypothèses (réceptivité, excrétion...) qui soutiennent cette éventualité invitent à rester très prudent quant à son existence sur le terrain.

De la même façon, il est envisageable que dans les zones où des animaux sauvages meurent de maladie à virus Ebola, des chiens attirés par ces carcasses peuvent les transporter, ce qui pourrait alors aboutir à la contamination passive d'autres chiens. La transmission dans ce cas relèverait d'une contamination anazootique et non d'une transmission inter-chiens.

- Autres espèces

L'éventualité de la transmission du chien à d'autres espèces doit prendre en compte :

- d'une part les mêmes paramètres que ceux étayant l'hypothèse d'une transmission de chien à chien
- d'autre part la proximité entre des chiens infectés et excréteurs et des animaux appartenant à ces autres espèces.

Elle dépend donc de l'espèce en question et peut être considérée comme proche de celle d'une transmission entre chiens, dans l'hypothèse d'animaux de compagnie qui se côtoient de très près au sein d'un même foyer familial.

2.3. Evaluation du rôle des autres carnivores domestiques

Pour les autres carnivores domestiques (chats, furets), aucune donnée n'étant disponible, les experts estiment que l'éventualité d'une transmission à l'homme doit être envisagée, comme pour le chien.

3. Espèces animales réputées sensibles ou réceptives aux virus de la famille des *Filoviridae*

Un schéma événementiel des modes de transmission à l'homme envisageables en fonction de la réceptivité/sensibilité avérée ou supposée des différentes espèces aux *Filoviridae* est présenté en Figure 5.

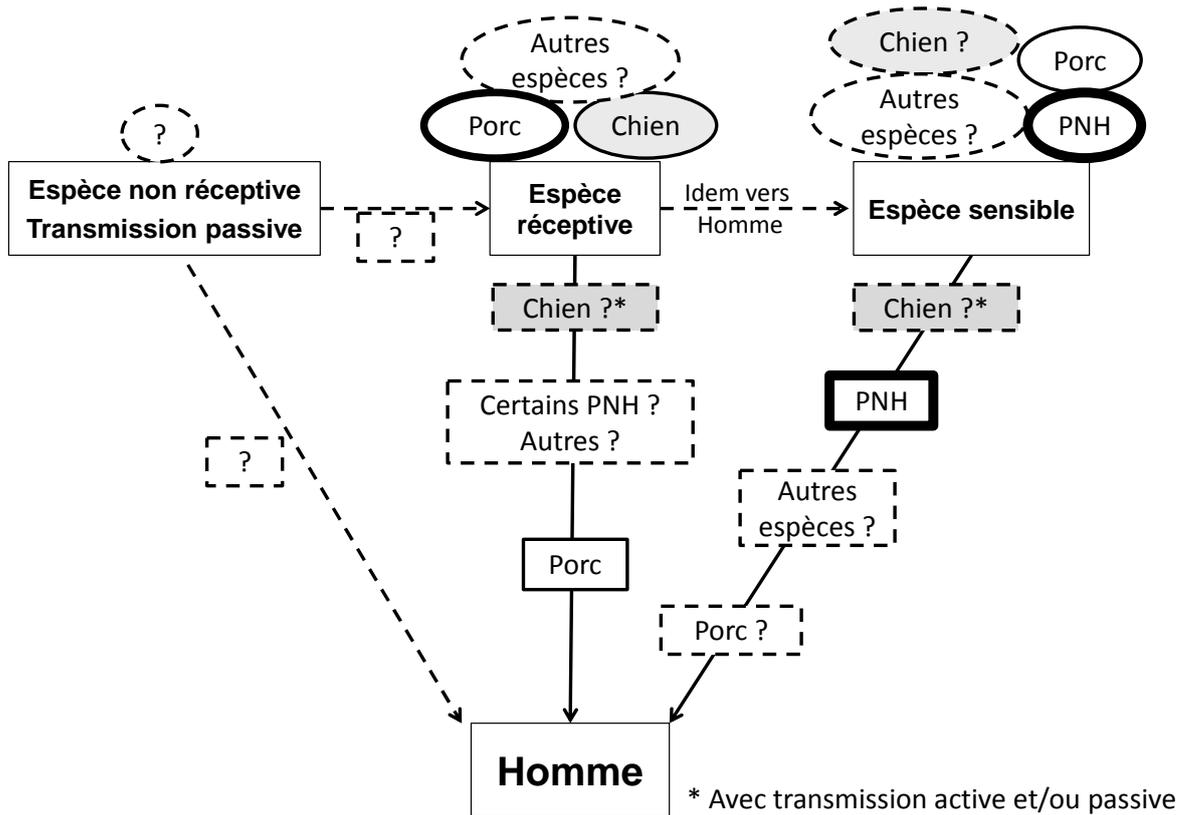


Figure 5. Schéma évènementiel des modes de transmission à l'homme envisageables en fonction de la réceptivité /sensibilité avérée ou supposée des différentes espèces animales aux *Filoviridae*

Légende :

PNH, primate non humain
? : autre espèce non identifiée.

La réceptivité ou la sensibilité des différentes espèces de mammifères non volants est représentée par l'épaisseur des contours ovales.

-  Réceptivité ou sensibilité avérée et importante
-  Réceptivité ou sensibilité avérée mais limitée dans la transmission
-  Réceptivité ou sensibilité hypothétique

La capacité des différentes espèces de mammifères non volants à transmettre le virus Ebola à l'Homme est représentée par l'épaisseur des contours rectangulaires.

-  Rôle avéré et important dans la transmission
-  Rôle avéré mais limité dans la transmission
-  Rôle hypothétique dans la transmission

Tenant compte du schéma évènementiel repris ci-dessus, les espèces particulières qui seront traitées sont les porcs, les singes utilisés à des fins utilitaires, les rongeurs et les lagomorphes.

3.1. Les porcs

Les connaissances sur la réceptivité et la sensibilité du porc vis-à-vis des virus Ebola s'appuient sur des données à la fois épidémiologiques et expérimentales. Le virus Ebola, souche Reston (REBOV) a été mis en évidence pour la première fois de manière assez inattendue aux Philippines en 2008, chez des porcs qui présentaient une forme sévère d'infection par le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) (Barrette *et al.* 2009). Si cette étude démontre la réceptivité du porc vis-à-vis du virus REBOV, elle ne prouve pas pour autant leur sensibilité à ce virus dans la mesure où tous les porcs infectés par Ebola étaient co-infectés par une souche hautement pathogène de virus du SDRP connu pour son effet immunodépresseur. Plusieurs infections expérimentales conduites ultérieurement ont permis d'apporter des informations complémentaires quant à la sensibilité des porcs à une infection par REBOV ou ZEBOV. Marsh *et al.* (2011) ont utilisé la souche REBOV et montré que l'infection par REBOV seule n'induisait pas de symptômes quelle que soit la voie d'inoculation (sous-cutanée ou oro-nasale) chez des porcs de 5 semaines d'âge malgré une réplication active du virus dans de nombreux tissus. Kobinger *et al.* (2011) ont évalué la sensibilité des porcs vis-à-vis de la souche ZEBOV inoculée par voie oro-nasale et montré que des porcs de 4 à 5 semaines d'âge présentent une hyperthermie marquée, des symptômes respiratoires et une pneumonie associés à une réplication importante du virus au niveau des poumons. De façon surprenante, lors d'une seconde expérience répétée sur des porcs plus jeunes d'une semaine, la symptomatologie est apparue plus faible. Cet effet de l'âge sur la sensibilité à l'infection des porcs par REBOV a été confirmé (Weingartl *et al.* 2013) et pourrait être lié à une réponse IFN α plus forte chez les animaux plus jeunes.

Ces données suggèrent que le porc est réceptif à l'infection par ZEBOV et REBOV mais qu'il n'est sensible qu'à l'infection par ZEBOV, pas par REBOV

Les données sur la prévalence de l'infection Ebola chez le porc sont assez limitées. Une étude sérologique réalisée aux Philippines a montré une séroprévalence intra-troupeau de 70% dans les 2 fermes touchées par l'épidémie de 2008 mais aucun animal séropositif dans une ferme située entre les 2 foyers mais à distance de ceux-ci. Compte tenu du faible nombre de fermes étudiées, il n'est cependant pas possible de déterminer la réelle prévalence inter-troupeaux (et intra-troupeau) (Sayama *et al.* 2012).

L'infection des porcs par REBOV n'est pas limitée aux Philippines mais pourrait avoir une distribution plus large puisque de l'ARN de REBOV a été détecté dans des tissus de porcs élevés à Shanghai, en Chine (Pan *et al.* 2014). De façon intéressante, les animaux chez lesquels ont été détectées les traces génétiques du virus REBOV étaient également tous co-infectés par le virus du SDRP.

En ce qui concerne l'Afrique, très peu de données sont disponibles en matière d'infection Ebola chez les suidés. Seul un très faible effectif de porcs domestiques a été testé et aucune trace de gène viral n'a été détectée chez les 12 animaux testés (Olson *et al.* 2012). Compte tenu du très faible effectif étudié, il est hasardeux de conclure sur l'absence d'infection Ebola chez les porcs en Afrique puisque l'intervalle de confiance 95% du taux de prévalence estimé au départ de ce petit échantillon est compris entre 0 à 22% (binomiale exacte).

Différents éléments permettent d'appréhender la capacité des porcs infectés par le virus Ebola à transmettre l'infection à l'homme ou à d'autres animaux. Ainsi lors de l'épidémie de 2008 aux Philippines, 4 % des humains qui avaient pu être en contact avec les porcs infectés ou leurs produits présentaient des anticorps dirigés contre REBOV, ce qui peut suggérer la transmission possible du virus REBOV des porcs infectés vers l'homme (Barrette *et al.* 2009). Aucune de ces personnes n'a présenté de symptôme. En conditions expérimentales, Marsh *et al.* (2011) ont montré que la voie d'inoculation du virus REBOV pourrait influencer l'excrétion du virus. Ainsi chez les animaux infectés par voie oro-nasale, le virus est excrété en quantité plus importante dans les sécrétions naso-pharyngées que lors d'une inoculation par voie sous-cutanée. Dans le cas du virus ZEBOV, les données expérimentales démontrent que les porcs infectés peuvent

transmettre le virus à des porcs sentinelles en contact direct (Kobinger *et al.* 2011), mais aussi à des macaques présents dans la même animalerie mais sans contact direct avec eux (Weingartl *et al.* 2013). Ceci indique que la principale voie d'excrétion du virus Ebola chez le porc est la voie oro-pharyngée et suggère fortement une transmission aéroportée du virus. Etant donné que le virus peut aussi être retrouvé dans de nombreux tissus de porcs infectés, leur manipulation pourrait également représenter une source de contamination pour l'homme (par exemple, en abattoir).

Un autre paramètre pouvant influencer l'excrétion virale est la présence d'une co-infection notamment par le SDRP ou par d'autres agents pathogènes respiratoires pourraient favoriser la réplication du virus Ebola et donc son excrétion et sa transmission.

Il n'y a pas plus de données concernant l'origine de l'infection REBOV chez le porc. Compte tenu de l'éloignement géographique entre les 2 foyers de 2008 aux Philippines et de la distance phylogénétique entre les souches correspondantes, l'origine de l'infection tend plutôt à favoriser des introductions multiples du virus chez le porc à partir du/des réservoir(s). Ce réservoir pourrait être la chauve-souris, comme c'est probable pour le virus ZEBOV, hypothèse qui est corroborée par la détection d'anticorps dirigés contre REBOV chez des chauve-souris (*Rousettus amplexicaudatus*) aux Philippines (Taniguchi *et al.* 2011). Par homologie avec le cycle biologique supposé du virus Ebola en Afrique (Figure 2), on peut donc supposer que les porcs se contaminent directement ou indirectement à partir du réservoir sylvatique des chauve-souris à l'instar des grands singes en Afrique. Cette hypothèse conduit par ailleurs à s'interroger quant à l'infection possible des suidés sauvages en Afrique. En effet des suidés sauvages comme le potamochère sont présents dans les zones d'épidémie d'Ebola et leur régime alimentaire omnivore les rend susceptibles de consommer des fruits contaminés par le virus Ebola par des chauves-souris frugivores. Il est sans doute souhaitable d'explorer plus en détail la séroprévalence de maladie à virus Ebola chez ces suidés sauvages comme chez les suidés domestiques dans les zones d'épidémie d'autant plus que l'aire de répartition des porcs domestiques recouvre la zone de répartition des foyers de maladie à virus Ebola en Afrique (Annexe 5).

Les données présentées ci-dessus tendent donc à prouver que le porc est une espèce à la fois réceptive (REBOV et ZEBOV) mais aussi sensible (ZEBOV) à l'infection par le virus de la maladie d'Ebola. Par ailleurs cette espèce animale, lorsqu'elle est contaminée par le virus Ebola, est susceptible de transmettre le virus à d'autres porcs (REBOV, ZEBOV) tout comme à l'homme (REBOV) ou à d'autres primates (ZEBOV)

3.2. Les singes utilisés à des fins utilitaires

Dans certaines circonstances, des contacts avec des primates non humains sont possibles en Europe. Outre les primates des cirques, des parcs zoologiques, et des centres d'expérimentation, qui sont supposés faire l'objet de contrôles drastiques quant à leur provenance et d'un suivi sanitaire, il convient de citer des cas particuliers d'utilisation de singes à des fins utilitaires. C'est notamment le cas des singes utilisés pour l'aide aux tétraplégiques. Il s'agit de singes capucins (*Cebus capucinus*) jamais retrouvés infectés dans la nature (il s'agit en effet de singes sud-américains) mais jamais inoculés expérimentalement.

Bien qu'il n'a encore jamais été démontré que les singes capucins aient été naturellement infectés par le virus Ebola et tenant compte de l'extrême sensibilité des primates non humains naturellement infectés dans la nature ou infectés expérimentalement, il convient de considérer tout primate non humain comme potentiellement très sensible.

3.3. Les rongeurs et lagomorphes

La réceptivité des rongeurs, dans les conditions naturelles, au virus de la maladie d'Ebola a été suggérée par l'étude de *Morvan et al. 1999*. Les données de laboratoire ont montré une différence dans la réceptivité et dans la sensibilité des rongeurs et lagomorphes aux virus Ebola sauvages. Ainsi, le lapin y est totalement réfractaire, ainsi que la souris adulte immunocompétente, alors que le cobaye développe une infection non létale avec un état fébrile transitoire (*Chepurnov et al. 2001*; *Chepurnov et al. 2003*; *Nakayama and Saijo 2013*). Le cobaye inoculé avec une souche adaptée à son espèce développe des manifestations cliniques et biologiques dont certaines (notamment troubles de la coagulation) sont proches de celles observées en cas d'atteinte naturelle de l'homme et des primates non humains. En revanche, la symptomatologie présentée par les souris infectées avec une souche « murinisée » n'est comparable à celle des primates que chez de très rares lignées (*Rasmussen et al. 2014*). Le hamster syrien inoculé avec une souche « murinisée » représente le modèle rongeur le plus proche de la maladie naturelle chez l'homme et les primates non humains (*Ebihara et al. 2006*).

La plupart des études ne corroborent pas l'hypothèse d'une sensibilité naturelle des rongeurs aux virus sauvages. Il a cependant été possible (§1.6. Physiopathologie de l'infection et lésions), d'infecter plusieurs espèces de rongeurs (cobaye, hamster et souris) après adaptation de souches sauvages, avec une symptomatologie plus ou moins sévère selon les souches et les caractéristiques génétiques de ces rongeurs.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DES RAPPORTEURS

La famille des *Filoviridae* comporte trois genres, dont deux, *Ebolavirus* et *Marburgvirus*, sont des agents de fièvres hémorragiques chez l'homme et les primates non humains. Ainsi, l'espèce EBOV, l'une des plus virulentes au sein du genre *Ebolavirus*, a induit jusqu'à aujourd'hui entre 60% et 90% de létalité chez l'homme (le pourcentage exact est encore inconnu pour l'épidémie en cours en Afrique de l'Ouest). Il s'agit pour les deux genres, de virus zoonotiques dont le réservoir probable est constitué par certaines espèces de chauves-souris frugivores. Dans les deux cas aussi, les primates non humains, en particulier les gorilles et les chimpanzés, très sensibles, servent d'hôtes amplificateurs, constituant la principale source primaire de contamination humaine. La transmission interhumaine secondaire assure l'expansion des foyers, comme cela est observé dans le cadre de l'épidémie sans précédent à virus EBOV, qui sévit actuellement en Afrique de l'Ouest.

Depuis le 1^{er} cas décrit en 1976, une vingtaine d'épidémies ont été recensées. Leur fréquence est en augmentation nette depuis le début des années 2000 mais elles sont jusqu'à présent restées d'ampleur limitée, comme c'est le cas de celle qui est brièvement apparue à l'été 2014 en RDC. De même, la maladie de Marburg sévit de façon limitée depuis sa première description en 1967 et un épisode a aussi eu lieu récemment (octobre 2014) en Ouganda.

Dans le contexte de l'épidémie actuelle de fièvre hémorragique à virus de la maladie d'Ebola, deux personnels soignants (l'un en Espagne, et l'autre aux Etats-Unis), possédant chacun un chien, ont été contaminés au contact de personnes infectées rapatriées d'Afrique de l'Ouest en octobre 2014. Le chien espagnol a été euthanasié et aucune information sur son infection ou sa séropositivité n'est connue des rapporteurs à l'heure de leur réponse à la présente saisine. Le chien américain, séronégatif, a été surveillé puis rendu à sa propriétaire. Etant donné les résultats d'une enquête sérologique rétrospective réalisée chez des chiens au Gabon, environ un an après la fin d'un épisode d'Ebola survenu en 2001-2002 (*Allela et al. 2005*), et qui ont montré un taux élevé de chiens séropositifs (IgG, 31.8%) dans la zone où des cas humains et des sources animales de virus avaient été signalés, une première question a été posée du « rôle (que) peuvent jouer les carnivores domestiques dans la transmission à l'homme ou à un autre animal (réceptivité, sensibilité et possibilité d'excrétion) du virus de la maladie d'Ebola ».

dans son acception large incluant l'ensemble des Filoviridae de fièvre hémorragique, avec un focus particulier sur la souche qui sévit actuellement en Afrique de l'Ouest ».

En ce qui concerne le virus Marburg et le virus Lloviu, aucune information relative à l'infection de carnivores domestiques n'est disponible. Les deux genres viraux d'appartenance n'ont donc pas été concernés par l'étude bibliographique.

En ce qui concerne le virus de la maladie d'Ebola, chez le chien, très peu d'éléments objectifs sont disponibles, à part ceux fournis par l'étude d'Allela *et al.* (2005) et ceux, circonstanciels et très peu informatifs, évoqués ci-dessus, résultant de l'exposition récente des deux chiens à leur maîtresse. Les rares éléments disponibles permettent d'envisager que les chiens pourraient être infectés et/ou être immunologiquement sensibles au virus de la maladie d'Ebola, mais ils ne fournissent aucune information sur une excrétion éventuelle du virus par les chiens.

Bien qu'aucun élément ne soit disponible pour étayer ou non un rôle possible de carnivores domestiques autres que le chien (chats, furets) dans la transmission du virus, les experts estiment que l'éventualité d'une transmission à l'homme doit aussi être envisagée.

En complément de ce qui précède, une deuxième question a été posée concernant les « espèces animales réputées sensibles au virus Ebola dans son acception large incluant l'ensemble des filovirus de fièvre hémorragique ». Ce point a été traité en détail au point 3.

Dans l'état actuel des connaissances, les conclusions des experts peuvent se résumer comme suit :

A) En ce qui concerne les carnivores domestiques

1/ En termes de réceptivité : les données disponibles ne permettent pas de conclure, mais la réceptivité des chiens est probable.

Ceci est corroboré notamment :

- par la séroprévalence élevée chez les chiens testés par Allela *et al.* (2005) plus d'un an après la fin de l'épidémie d'Ebola de 2001-2002, au sein et à proximité du foyer ;
- par les données expérimentales qui montrent que la glycoprotéine de surface du virus de la maladie d'Ebola est potentiellement capable de se lier aux cellules mésenchymateuses et endothéliales de diverses espèces animales, dont les cellules de chien (Wool-Lewis and Bates 1998).

2/ En termes de sensibilité : à l'heure actuelle, aucun élément disponible ne permet de valider l'hypothèse de la sensibilité des chiens au virus Ebola. Ceci est corroboré notamment par le fait qu'aucun cas clinique n'a jamais été rapporté chez des chiens dans et autour des foyers de maladie d'Ebola depuis 1976, et qu'une telle absence de signe clinique a été formellement confirmée (par Eric Leroy lors de son audition) dans le contexte de l'étude réalisée chez les chiens par Allela *et al.* (2005) ;

3/ En terme d'excrétion : aucune donnée n'est directement disponible.

- La forte séroprévalence observée par Allela *et al.* (2005) pourrait cependant suggérer, entre autres hypothèses, une transmission intra-espèce chien du virus de la maladie d'Ebola et donc une excrétion.
- Inversement, pour les chiens vivant dans des villages sans cas humain, l'absence de transmission connue chez leurs maîtres plaide plutôt en faveur d'une absence d'excrétion ou d'une excrétion à un seuil insuffisant pour infecter l'homme.

Il n'est donc pas possible actuellement de conclure dans un sens ni dans l'autre.

Il est à noter qu'au sein des foyers épidémiques, le chien pourrait jouer un rôle passif dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola, en tant que véhicule, c'est-à-dire en déplaçant des morceaux de cadavres d'animaux trouvés morts. Mais ce rôle ne peut en aucun cas être invoqué dans la situation qui nous concerne ici, à savoir en région non infectée.

Au bilan, les faibles données disponibles à ce jour ne permettent pas de conclure quant à la réalité d'une infection du chien exposé à des sources de virus, ni à un rôle du chien dans la transmission de virus de la maladie d'Ebola à l'homme et/ou à d'autres espèces animales. Ces données parcellaires sont peu favorables à un rôle significatif joué par le chien dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola à l'homme. Celle-ci reconnaît actuellement trois acteurs majeurs : des chauves-souris frugivores en tant que réservoirs probables, des primates non humains (gorilles et chimpanzés) en tant que victimes et hôtes relais amplificateurs majeurs pour l'homme ; enfin l'homme lui-même comme source de diffusion secondaire efficace puisque responsable de l'expansion épidémique des foyers.

Il n'est cependant pas possible d'exclure dans l'absolu qu'une infection du chien soit possible, ni d'exclure une excrétion avec possibilité de transmission à l'homme ou à d'autres espèces. Etant donné la grande proximité entre hommes et chiens (taux de contacts), notamment dans le cas des chiens « utilitaires » dans les régions où circule le virus de la maladie d'Ebola, et *a fortiori* dans le cas de chiens « de compagnie » vivant à proximité de leur maître (classique dans les villes européennes), il y a lieu de considérer que les chiens pourraient jouer un rôle dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola, du fait :

- de la possibilité pour des chiens de s'infecter, (i) à partir de leur maître malade et excréteur, directement ou indirectement, partout où il y a des cas (foyer épidémique, cas rapatriés dans leur pays d'origine ou cas secondaires contaminés par les cas rapatriés), (ii) dans la zone correspondant à la niche zoonotique du virus, à partir d'animaux réservoirs ou hôtes amplificateurs ; (iii) en période épidémique dans les foyers, à partir des sécrétions, excréments et tissus infectés susceptibles d'être léchés / consommés par les chiens ;
- de la possibilité pour des chiens symptomatiques ou asymptomatiques d'excréter du virus et de le transmettre aux humains susceptibles de les approcher de près.

À la suite de cet avis, et en tenant compte du récent avis de l'EFSA sur le risque lié aux animaux domestiques en contact avec des cas d'Ebola chez les humains (EFSA 2014), il serait logique d'élaborer :

- 1/ Des mesures immédiates à préconiser à l'attention des propriétaires contaminés et vivant en France (retour d'expatriation, personnel soignant contaminé), recommandations au regard d'une possible contamination des chiens à partir de leur maître :
 - o pas de contre-indication à une cohabitation et au maintien de contacts étroits, si la personne ne présente aucun signe évocateur d'une fièvre à virus de la maladie d'Ebola ;
 - o dès l'apparition des premiers symptômes chez le maître, soustraction du chien de son environnement. S'il est avéré que cette soustraction a été immédiate, il pourra être confié à d'autres personnes dans l'attente de l'évolution de la maladie de son maître, auquel il pourra être rendu dès la disparition de tout risque d'excrétion par ce dernier (pour les durées d'excrétion, se référer à l'article de Ksiazek *et al.* (1999a)) ;
 - o s'il s'avère que le chien est resté dans l'environnement du maître après les deux premiers jours d'apparition des symptômes chez ce dernier, il conviendrait de mettre le chien en quarantaine dans les meilleurs délais dans une structure contrôlée permettant d'entretenir l'animal de manière sécurisée (prise de distance, vêtements de protection) et devant être décontaminée après usage, respectant les conditions énumérées dans le rapport de l'American Veterinary Medical Association (CDC 2014).

2/ Des mesures immédiates à préconiser à l'attention des autorités de santé pour la gestion du risque, dans le cas de chiens contaminés en provenance de pays infectés ou potentiellement contaminés en France par leur propriétaire (retour d'expatriation, personnel soignant contaminé) : anticipation de la survenue de tels cas par l'identification des structures de confinement pour une quarantaine sécurisée où de tels chiens pourraient être transportés ; mise en place de la logistique en vue de la gestion de ces cas en toute sécurité ; mise en place d'études pour l'obtention des connaissances nécessaires à une meilleure appréhension du rôle des chiens dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola -cf. *infra*-.

3/ Des mesures à court, moyen et long terme pour la genèse de connaissances :
Les actions suivantes pourraient être mises en œuvre, avec, par ordre de faisabilité décroissante :

- a/ Exploitation des données déjà potentiellement accessibles, notamment les données brutes issues de l'étude ayant conduit à la publication de l'article de Allela *et al.* (2005) :
 - o En réalisant une analyse multifactorielle à partir des données épidémiologiques et écologiques recueillies dans le cadre de l'étude en question, et qui pourraient apporter de nouvelles informations sur des facteurs de risque associés à la séroconversion des chiens ;
 - o Si les sérums de chiens testés ont été archivés dans de bonnes conditions de conservation (sans cycle de congélation/décongélation) : en réalisant des tests de séro-neutralisation virale dans un laboratoire de niveau de biosécurité BSL4 (permettant de vérifier la spécificité des réactions sérologiques) et en recherchant la présence d'IgM (permettant de mieux évaluer la période d'exposition au virus).

- b/ Etudes de terrain :
 - Encourager les équipes vétérinaires sur le terrain à mener des enquêtes écologiques (pyramide des âges, taux de remplacement, mobilité des chiens au sein des zones infectées et entre zones infectées et non infectées...) descriptives (cliniques, sérologiques et virologiques) et analytiques chez les chiens dans les pays actuellement affectés. Ces études prendraient notamment en compte l'âge, l'état général des chiens ainsi que la classe d'immunoglobulines pour les enquêtes sérologiques, etc. Il est cependant clair que les recherches sur le rôle du chien ne constituent pas actuellement une priorité et qu'elles ne seraient pas dénuées de risque potentiel d'où la nécessité de les planifier dans un contexte sécurisé ;
 - A défaut, encourager les scientifiques sur place à réaliser des études rétrospectives approfondies une fois l'épidémie enrayée et de les publier, quel qu'en soit le résultat.

- c/ Interface terrain/laboratoire :
 - Mettre en place une entraide internationale rendant possible la mise sous quarantaine dans des conditions appropriées de tout chien (ou chat ou furet) ramené par une personne rapatriée alors qu'elle était malade afin de pouvoir suivre ce chien dans des conditions de sécurité.

- d/ Etudes au laboratoire : mettre en place des infections expérimentales de chiens en animalerie confinée (BSL4), pour tester leur capacité :
 - o à s'infecter par voie mucoale (orale, respiratoire, oculaire), avec, si c'est le cas, la détermination de la localisation du virus et/ou de l'ARN viral dans l'organisme ainsi que la durée de l'infection ;
 - o à développer ou non une forme clinique, avec, si c'est le cas, la détermination de la sévérité de la maladie, de l'existence ou non d'une excrétion (localisation, intensité, durée), ainsi que la capacité des chiens infectés à développer une réponse inflammatoire avec identification des effecteurs de l'inflammation et suivi de leur influence sur les différents paramètres ci-dessus (cinétique de l'infection, forme clinique ou non et son issue, excrétion...) ;

- à développer une réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire, avec un suivi de l'influence de la cinétique de la réponse immunitaire sur les différents paramètres ci-dessus (cinétique de l'infection, forme clinique ou non et son issue, excrétion...);
- à contaminer d'autres animaux (de la même espèce ou d'espèces différentes comme le porc et des primates non humains) par contact avec le chien et/ou ses sécrétions et excréments ou par voie aérienne.

B) En ce qui concerne le rôle des autres espèces domestiques ou de travail ou de compagnie

Concernant le rôle du porc

Le porc est une espèce à la fois réceptive (REBOV et ZEBOV) mais aussi sensible (ZEBOV) à l'infection par le virus de la maladie d'Ebola. Par ailleurs cette espèce animale, lorsqu'elle est contaminée par ce virus, est susceptible de le transmettre à d'autres porcs (REBOV, ZEBOV) tout comme à l'homme (REBOV) ou d'autres primates (ZEBOV).

Compte tenu de ces éléments, il pourrait être intéressant de :

- Réaliser une étude sérologique dans les zones d'épidémie de la maladie à virus Ebola pour évaluer le taux de séroprévalence des anticorps anti-Ebola chez les populations de porcs domestiques (favoriser les études des animaux dits de « basse-cour ») et chez les suidés sauvages (notamment, les potamochères) ;
- Du point de vue de la biosécurité, compte tenu de la sensibilité des porcs vis-à-vis de ZEBOV, proscrire tout contact avec les suidés (domestiques et sauvages) pour les personnes susceptibles d'excréter le virus de la maladie d'Ebola.

Concernant le rôle des singes utilisés à des fins utilitaires

Bien qu'il n'ait encore jamais été démontré que les singes capucins (utilisés pour l'aide aux tétraplégiques) aient été naturellement infectés par le virus de la maladie d'Ebola ou le virus de la maladie de Marburg, et compte tenu de l'extrême sensibilité des primates non humains à une infection naturelle ou expérimentale par les *Filoviridae*, il conviendra de considérer tout primate non humain comme potentiellement très sensible.

Compte tenu de ces éléments, il serait logique de veiller à prévenir tout contact entre des singes et une personne potentiellement contaminée/excrétrice d'un virus du genre Ebola ou Marburg.

Concernant les rongeurs et lagomorphes

La plupart des études ne corroborent pas l'hypothèse d'une sensibilité naturelle des rongeurs aux virus sauvages. Il a cependant été possible d'infecter plusieurs espèces de rongeurs (cobaye, hamster et souris) après adaptation de souches sauvages, avec une symptomatologie plus ou moins sévère selon les souches et les caractéristiques génétiques de ces rongeurs.

Dans ce contexte, il ne semble pas nécessaire d'envisager de recommandations particulières.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations des experts.

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Ebola, animaux, chien, carnivores domestiques, *Filoviridae*, réceptivité, sensibilité, excrétion, transmission, Marburg, porc, primates, rongeurs

BIBLIOGRAPHIE

Allela L, Bourry O, Pouillot R, Délicat A, Yaba P, Kumulungui B, Rouquet P, Gonzalez JP, Leroy EM (2005) Ebola virus antibody prevalence in dogs and human risk. *Emerging Infectious Diseases* **11**(3), 385-390.

Barrette RW, Metwally SA, *et al.* (2009) Discovery of swine as a host for the reston ebolavirus. *Science* **325**(5937), 204-206.

Becquart P, Wauquier N, *et al.* (2010) High prevalence of both humoral and cellular immunity to Zaire ebolavirus among rural populations in Gabon. *PLoS ONE* **5**(2).

Bellan SE, Pulliam JRC, Dushoff J, Meyers LA (2014) Ebola control: Effect of asymptomatic infection and acquired immunity. *The Lancet* **384**(9953), 1499-1500.

Bray M (2001) The role of the type I interferon response in the resistance of mice of filovirus infection. *Journal of General Virology* **82**(6), 1365-1373.

Brudner M, Karpel M, *et al.* (2013) Lectin-Dependent Enhancement of Ebola Virus Infection via Soluble and Transmembrane C-type Lectin Receptors. *PLoS ONE* **8**(4).

Carette JE, Raaben M, *et al.* (2011) Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1. *Nature* **477**(7364), 340-343.

Carroll SA, Towner JS, Sealy TK, McMullan LK, Khristova ML, Burt FJ, Swanepoel R, Rollin PE, Nichol ST (2013) Molecular evolution of viruses of the family filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *Journal of Virology* **87**(5), 2608-2616.

CDC. Interim Guidance for Dog or Cat Quarantine after Exposure to a Human with Confirmed Ebola Virus Disease. En ligne: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/pdf/dog-cat-quarantine.pdf> [dernière consultation le 11 novembre 2014]

Chepurinov AA, Dadaeva AA, Kolesnikov SI (2001) Study of the pathogenesis of ebola fever in laboratory animals with different sensitivity to this virus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* **132**(6), 1182-1186.

Chepurinov AA, Zubavichene NM, Dadaeva AA (2003) Elaboration of laboratory strains of Ebola virus and study of pathophysiological reactions of animals inoculated with these strains. *Acta Tropica* **87**(3), 321-329.

Cherpunov A, Kudoiarova-Zubavichene N, Dedkova L, Sergeev N, Netesov S (1998) Developing methods of specific heterologic immunoglobulins preparation for urgent

prevention of Ebola fever and study of their properties. *Vestn Ross Akad Med Nauk* **4**, 24-29.

De Wit E, Munster VJ, Metwally SA, Feldmann H (2011) Assessment of rodents as Animal models for reston ebolavirus. *Journal of Infectious Diseases* **204**(SUPPL. 3), S968-S972.

Ebihara H, Takada A, Kobasa D, Jones S, Neumann G, Theriault S, Bray M, Feldmann H, Kawaoka Y (2006) Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathogens* **2**(7), 0705-0711.

EFSA (2014) Risk related to household pets in contact with Ebola cases in humans. *EFSA Journal* **12**(12), 3930-3942.

Escudero-Pérez B, Volchkova VA, Dolnik O, Lawrence P, Volchkov VE (2014) Shed GP of Ebola Virus Triggers Immune Activation and Increased Vascular Permeability. *PLoS Pathogens* **10**(11).

FAO (2005) Gridded livestock of the world.

Feldmann H, Geisbert TW (2011) Ebola haemorrhagic fever. *The Lancet* **377**(9768), 849-862.

Francica JR, Varela-Rohena A, Medvec A, Plesa G, Riley JL, Bates P (2010) Steric shielding of surface epitopes and impaired immune recognition induced by the Ebola virus glycoprotein. *PLoS Pathogens* **6**(9).

Geisbert TW, Jahrling PB, Hanes MA, Zack PM (1992) Association of Ebola-related Reston virus particles and antigen with tissue lesions of monkeys imported to the United States. *Journal of Comparative Pathology* **106**(2), 137-152.

Gupta M, Mahanty S, Ahmed R, Rollin PE (2001) Monocyte-derived human macrophages and peripheral blood mononuclear cells infected with Ebola virus secrete MIP-1 α and TNF- α and inhibit poly-IC-induced IFN- α in vitro. *Virology* **284**(1), 20-25.

InVS. Virus Ebola. Afrique de l'Ouest. Guinée, Libéria et Sierra Leone (juin 2014). En ligne: <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/International/Virus-Ebola-Afrique-de-l-Ouest-Guinee-Liberia-Sierra-Leone-Juin-2014> [dernière consultation le consulté le 19 novembre 2014]

Kiley MP, Bowen ETW, *et al.* (1982) Filoviridae: A taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology* **18**(1-2), 24-32.

Kobinger GP, Leung A, Neufeld J, Richardson JS, Falzarano D, Smith G, Tierney K, Patel A, Weingartl HM (2011) Replication, pathogenicity, shedding, and transmission of Zaire ebolavirus in pigs. *Journal of Infectious Diseases* **204**(2), 200-208.

Ksiazek T, Rollin P, *et al.* (1999a) Clinical virology of Ebola hemorrhagic fever (EHF): virus, virus antigen, and IgG and IgM antibody findings among EHF patients in Kikwit,

Democratic Republic of the Congo, 1995. *Journal of Infectious Diseases* **179**(Supplement 1), S177-S187.

Ksiazek TG, West CP, Rollin PE, Jahrling PB, Peters CJ (1999b) ELISA for the detection of antibodies to Ebola viruses. *Journal of Infectious Diseases* **179**(SUPPL. 1), S192-S198.

Kudoyarova-Zubavichene NM, Sergeyev NN, Chepurnov AA, Netesov SV (1999) Preparation and use of hyperimmune serum for prophylaxis and therapy of Ebola virus infections. *Journal of Infectious Diseases* **179**(SUPPL. 1), S218-S223.

Kuhn JH (2008) Filoviruses. A compendium of 40 years of epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Arch Virol Suppl* **20**, 13-360.

Kuhn JH, Bào Y, *et al.* (2014) Virus nomenclature below the species level: A standardized nomenclature for filovirus strains and variants rescued from cDNA. *Archives of Virology* **159**(5), 1229-1237.

Kuhn JH, Becker S, *et al.* (2011) Family Filoviridae In 'Virus Taxonomy - Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.' (Eds A King, M Adams, E Carstens and E Lefkowitz) pp. 665-671. (Elsevier/Academic Press: London)

Kuhn JH, Becker S, *et al.* (2010) Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: Classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Archives of Virology* **155**(12), 2083-2103.

Lahm SA, Kombila M, Swanepoel R, Barnes RF (2007) Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **101**(1), 64-78.

Leroy EM, Baize S, Mavoungou E, Apetrei C (2002) Sequence analysis of the GP, NP, VP40 and VP24 genes of Ebola virus isolated from deceased, surviving and asymptotically infected individuals during the 1996 outbreak in Gabon: Comparative studies and phylogenetic characterization. *Journal of General Virology* **83**(1), 67-73.

Leroy EM, Baize S, *et al.* (2000) Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet* **355**(9222), 2210-2215.

Leroy EM, Kumulungui B, *et al.* (2005) Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature* **438**(7068), 575-6.

Leroy EM, Telfer P, *et al.* (2004) A serological survey of ebola virus infection in central African nonhuman primates. *Journal of Infectious Diseases* **190**(11), 1895-1899.

Mahanty S, Bray M (2004) Pathogenesis of filoviral haemorrhagic fevers. *Lancet Infectious Diseases* **4**(8), 487-498.

Marsh GA, Haining J, *et al.* (2011) Ebola reston virus infection of pigs: Clinical significance and transmission potential. *Journal of Infectious Diseases* **204**(SUPPL. 3), S804-S809.

Mateo M, Reid SP, Leung LW, Basler CF, Volchkov VE (2010) Ebolavirus VP24 binding to karyopherins is required for inhibition of interferon signaling. *Journal of Virology* **84**(2), 1169-1175.

Morvan JM, Deubel V, *et al.* (1999) Identification of Ebola virus sequences present as RNA or DNA in organs of terrestrial small mammals of the Central African Republic. *Microbes and Infection* **1**(14), 1193-1201.

Mwanatambwe M, Yamada N, Arai S, Shimizu-Suganuma M, Shichinohe K, Asano G (2001) Ebola hemorrhagic fever (EHF): mechanism of transmission and pathogenicity. *Journal of Nippon Medical School = Nihon Ika Daigaku zasshi* **68**(5), 370-375.

Nakayama E, Saijo M (2013) Animal models for Ebola and Marburg virus infections. *Frontiers in Microbiology* **4**(SEP).

Negredo A, Palacios G, *et al.* (2011) Discovery of an ebolavirus-like filovirus in europe. *PLoS Pathogens* **7**(10).

Nidom CA, Nakayama E, *et al.* (2012) Serological evidence of Ebola virus infection in Indonesian orangutans. *PLoS ONE* **7**(7).

Olson SH, Reed P, Cameron KN, Ssebide BJ, Johnson CK, Morse SS, Karesh WB, Mazet JAK, Joly DO (2012) Dead or alive: Animal sampling during Ebola hemorrhagic fever outbreaks in humans. *Emerging Health Threats Journal* **5**(1).

OMS. Ebola response roadmap situation report update. En ligne: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/143216/1/roadmapsitrep_14Nov2014_eng.pdf?ua=1 [dernière consultation le 20 novembre 2014]

OMS. Flambées épidémiques de maladie à virus Ebola et Marburg: préparation, alerte, lutte et évaluation. En ligne: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/130161/1/WHO_HSE_PED_CED_2014.05_fre.pdf [dernière consultation le 19 novembre 2014]

OMS. Maladie à virus Ebola. Aide-mémoire N° 103 de Septembre 2014. En ligne: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/fr> [dernière consultation le 19 novembre 2014]

OMS. Prise en charge clinique des cas de fièvre hémorragique virale : Guide de poche pour l'agent de santé en première ligne. [Document WHO/HSE/PED/AIP/14.05 du 30 mars 2014]. En ligne: [dernière consultation le 19 novembre 2014]

Pan Y, Zhang W, Cui L, Hua X, Wang M, Zeng Q (2014) Reston virus in domestic pigs in China. *Archives of Virology* **159**(5), 1129-1132.

Panchal RG, Bradfute SB, *et al.* (2009) Reduced Levels of Protein Tyrosine Phosphatase CD45 Protect Mice from the Lethal Effects of Ebola Virus Infection. *Cell Host and Microbe* **6**(2), 162-173.

Pigott DM, Golding N, *et al.* (2014) Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *Elife* **3**, e04395.

Rasmussen AL, Okumura A, *et al.* (2014) Host genetic diversity enables Ebola hemorrhagic fever pathogenesis and resistance. *Science* **346**(6212), 987-991.

Rollin PE, Williams RJ, *et al.* (1999) Ebola (subtype Reston) virus among quarantined nonhuman primates recently imported from the Philippines to the United States. *Journal of Infectious Diseases* **179**(SUPPL. 1), S108-S114.

Rouquet P, Froment J-M, *et al.* (2005) Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003. *Emerg Infect Dis* **11**(2), 283-290.

Sayama Y, Demetria C, *et al.* (2012) A seroepidemiologic study of Reston ebolavirus in swine in the Philippines. *BMC Veterinary Research* **8**.

Schou S, Hansen AK (2000) Marburg and Ebola virus infections in laboratory non-human primates: A literature review. *Comparative Medicine* **50**(2), 108-123.

Smither SJ, Nelson M, Eastaugh L, Laws TR, Taylor C, Smith SA, Salguero FJ, Lever MS (2013) Experimental respiratory Marburg virus haemorrhagic fever infection in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *International Journal of Experimental Pathology* **94**(2), 156-168.

Spickler A. Ebolavirus and Marburgvirus Infections. [(dernière mise à jour : Août 2014)].
En ligne:
http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/viral_hemorrhagic_fever_filovirus.pdf
[dernière consultation le 19 novembre 2014]

Sullivan NJ, Geisbert TW, Gelsbert JB, Xu L, Yang ZY, Roederer M, Koup RA, Jahrling PB, Nabel GJ (2003) Accelerated vaccination for Ebola virus haemorrhagic fever in non-human primates. *Nature* **424**(6949), 681-684.

Swanepoel R, Leman PA, Burt FJ, Zachariades NA, Braack LEO, Ksiazek TG, Rollin PE, Zaki SR, Peters CJ (1996) Experimental Inoculation of Plants and Animals with Ebola Virus. *Emerging Infectious Diseases* **2**(4), 321-325.

Swanepoel R, Smit SB, *et al.* (2007) Studies of reservoir hosts for Marburg virus. *Emerging Infectious Diseases* **13**(12), 1847-1851.

Taniguchi S, Watanabe S, *et al.* (2011) Reston ebolavirus antibodies in bats, the Philippines. *Emerging Infectious Diseases* **17**(8), 1559-1560.

Toma B, Bénet J-J, Dufour B, Moutou F, Sanaa M (1991) 'Glossaire d'épidémiologie animale.' (Editions du Point Vétérinaire)

Towner JS, Amman BR, *et al.* (2009) Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats. *PLoS Pathogens* **5**(7).

Towner JS, Sealy TK, *et al.* (2008) Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathogens* **4**(11).

Weingartl HM, Embury-Hyatt C, Nfon C, Leung A, Smith G, Kobinger G (2012) Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates. *Sci Rep* **2**.

Weingartl HM, Nfon C, Kobinger G (2013) Review of Ebola virus infections in domestic animals. *Developments in biologicals* **135**, 211-218.

Wong G, Richardson JS, *et al.* (2012) Immune parameters correlate with protection against ebola virus infection in rodents and nonhuman primates. *Science Translational Medicine* **4**(158).

Wool-Lewis RJ, Bates P (1998) Characterization of Ebola virus entry by using pseudotyped viruses: Identification of receptor-deficient cell lines. *Journal of Virology* **72**(4), 3155-3160.

ANNEXES

Annexe 1. Classification taxonomique des *Filoviridae* (Kuhn *et al.* 2014; Kuhn *et al.* 2011; Kuhn *et al.* 2010)

Classification

Type : *Virus*

Groupe : *Groupe V*

Ordre : *Monogegavirales*

Classification phylogénétique (position) :

Famille : *Filoviridae*

- Genre : *Cuevavirus*
 - o Espèce : cuevavirus Lloviu
 - Virus : virus Lloviu

- Genre : *Ebolavirus*
 - o Espèce : ebolavirus Zaïre (EBOV)
 - o Espèce : ebolavirus Soudan (SUDV)
 - o Espèce : ebolavirus Reston (RESTV)
 - o Espèce : ebolavirus Forêt de Taï (TAFV)
 - o Espèce : ebolavirus Bundibugyo (BDBV)

- Genre : *Marburgvirus*
 - o Espèce : maburgvirus Marburg
 - virus Marburg
 - virus Ravn

Annexe 2. Recensement des foyers de maladies dues aux *Filoviridae* d'après Kuhn (2008)

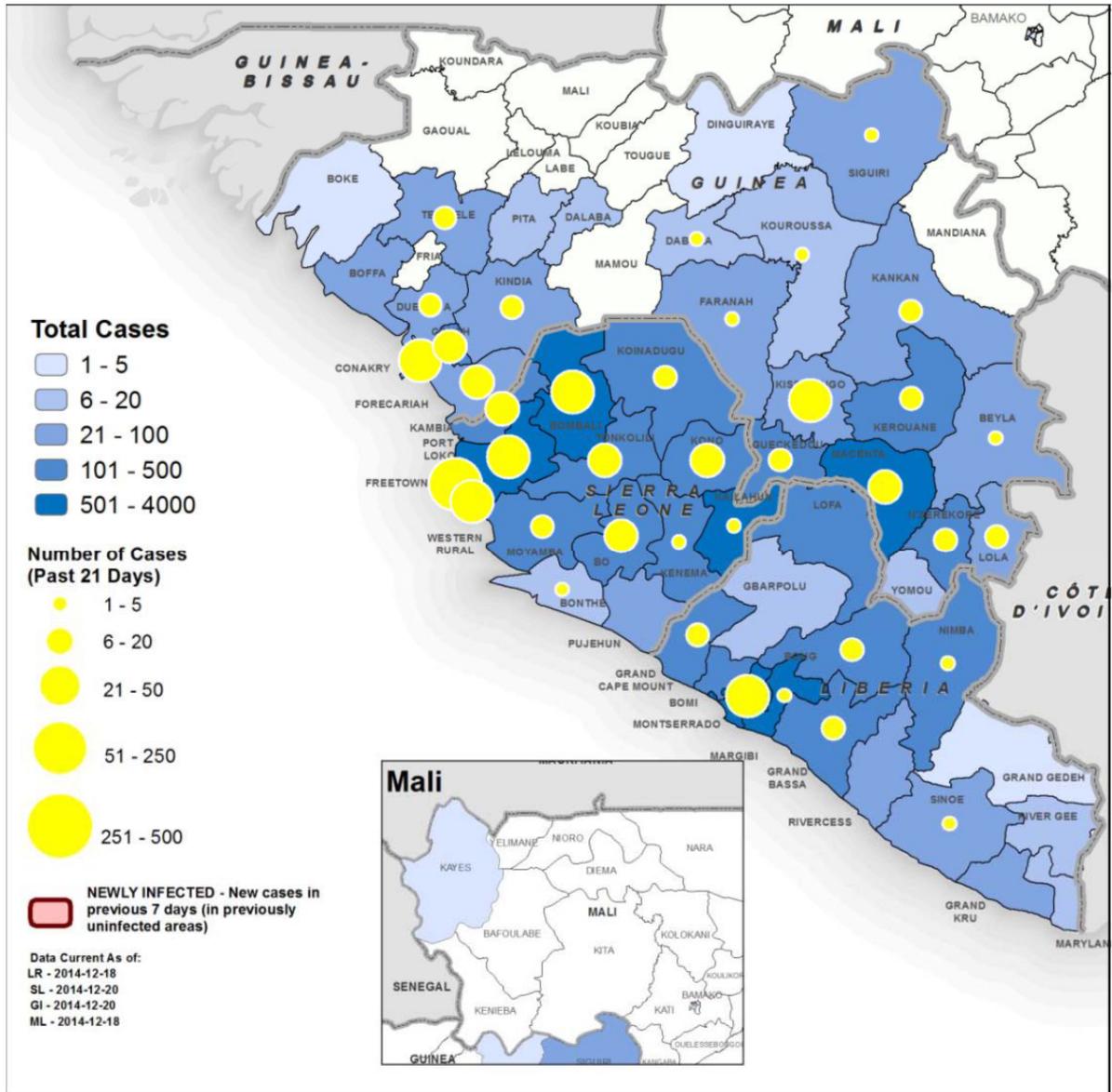
Année	Filovirus	Localisation	Nombre de cas humains/nombre de morts (Taux de létalité)
1967	MARV	Marburg et der Lahn, Frankfurt et Main (Allemagne de l'Ouest) ; Belgrade (Yougoslavie), ex Ouganda	Humains : 31/7 (23%)
1975	MARV	Rhodésie	Humains : 3/1 (33%)
1976	SUDV	Nzara, Maridi, Tembura (Soudan)	Humains : 284/151 (53%)
1976	EBOV	Yambuku (Zaïre)	Humains : 318/280 (88%)
1977	EBOV	Bonduni (Zaïre)	Humain : 1/1 (100%)
1979	SUDV	Nzara (Soudan)	Humains : 34/22 (65%)
1980	MARV	Mt. Elgon/Nzoia (Kenya)	Humains : 2/1 (50%)
1987	RAVV	Mt. Elgon/Mombasa (Kenya)	Humain: 1/1 (100%)
1989-1990	RESTV	Alice, Philadelphia, Reston (USA); exportation au départ de Luzon (Philippines)	Captive crab-eating macaques
1992	RESTV	Siena (Italy); exportation au départ de Luzon (Philippines)	Captive crab-eating macaques
1994	TATV	Guiglot (Côte d'Ivoire)	Humain : 1/0 (0%)
1994-1995	EBOV	Andok, Mékouka, Minbéké, Mayéla-Mbeza, Ovan, Etakangaye (Gabon)	Humains : 52/32 (62%)
1995	EBOV	Kilwit (Zaïre)	Humains : 317/245 (77%)
1996	EBOV	Mayiboout II. Makotou (Gabon)	Humains : 31/21 (68%)
1996	RESTV	Alice (USA); exportation au départ de Luzon (Philippines)	Captive crab-eating macaques
1996-1997	EBOV	Babimba, Bouée, Lastoursville, Librevielle, Lodo (Gabon)	Humains : 62/46 (74%)
1998-2000	MARV/RAVV	Durba, Watsa (République Démocratique du Congo)	Humains : 154/128 (83%)

Avis de l'Anses
Saisine n° 2014-SA-0229

2000-2001	SUDV	Gulu, Masindi, Mbarara Districts (Ouganda)	Humains : 425/224 (53%)
2001-2002	EBOV	Ekata, Etakangaye, Franceville, Grand Etoumbi, Ilahounene, Imbong, Makokou, Métambo, Mendema, Ntolo (Gabon) ; Abolo, Ambomi, Entsiami, Kellé, Ollaba (République démocratique du Congo)	Humains : 124/97 (78%)
2002	EBOV	Ollaba (République démocratique du Congo) ; Ekata (Gabon)	Humains : 11/10 (91%)
2002	LLOV	Espagne	Schreiber's long-fingered bats
2002-2003	EBOV	Yembelengoye, Mvoula (République démocratique du Congo)	Humains : 143/128 (90%)
2003-2004	EBOV	Mbomo, Mbanza (République démocratique du Congo)	Humains : 35/29 (83%)
2004	SUDV	Yambio (Soudan)	Humains : 17/7 (41%)
2004-2005	MARV	Uige Province (Angola)	Humains : 252/227 (90%)
2005	EBOV	Etoumbi, Mbomo (République démocratique du Congo)	Humains : 11/9 (82%)
2007	MARV/RAVV	Réserve de la forêt Kakasi (Ouganda)	Humains : 4/1 (25%)
2007	EBOV	Kampungu, Mweka, Mwene-Ditu (République démocratique du Congo)	Humains : 264/186 (71%)
2007	BDBV	District de Bundibugyo (Uganda)	Humains : 116/39 (34%)
2008	EBOV	Kampungu, Mweka, Mwene-Ditu (République démocratique du Congo)	Humains : 32/15 (47%)
2008	RESTV	Philippines	Porcs domestiques
2008	MARV	Leiden (Pays-bas), exportation au départ d'Uganda	Humains : 1/1 (100%)
2011	SUDV	Soudan	Humains : 1/1 (100%)
2012	SUDV	Ouganda	Humains : 24/17 (71%)
2012	SUDV	Ouganda	Humains : 7/4 (71%)
2012	BDBV	République démocratique du Congo	Humains : 57/29 (51%)
2014	EBOV	Guinée, Libéria, Sierra Léone, Espagne (cas importé), Etats-Unis d'Amérique (cas importés)	Humains : 9936/4877 (49%)
2014	EBOV	République démocratique du Congo	Humains : 49/66 (62%)*
2014	MARV/RAVV	Ouganda	Humains : 1/14 (7%)*

*Chiffres non consolidés.

Annexe 3. Répartition géographique du nombre de nouveaux cas durant les 21 derniers jours et du total des cas de maladie d'Ebola en Guinée, au Libéria, Mali et en Sierra Léone (OMS, 24 décembre 2014)



Légende : Le nombre de cas concernant les derniers 21 jours pour le Libéria est incomplet. Les données se fondent sur les informations officielles communiquées par les Ministères de la santé. Les frontières, les noms et les appellations employées sur cette carte n'impliquent de la part de l'OMS aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les traits discontinus formés d'une succession de points ou de tirets sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

Annexe 4. Définitions de cas des maladies à virus Ebola et Marburg au cours et en dehors d'une épidémie selon l'OMS (OMS 2014d)

A) Au cours d'une épidémie

Un **cas suspect** est toute personne :

- Ayant été en contact avec un cas clinique⁶ ET
- Présentant une fièvre aiguë (>38 °C)

OU

- Ayant été en contact avec un cas clinique (suspect, probable ou confirmé)

ET

- Manifestant au moins 3 des symptômes ci-dessous :

OU

- Se présentant avec une fièvre aiguë ET

Manifestant au moins 3 des symptômes ci-dessous :

- Céphalées
- Douleurs généralisées ou articulaires
- Fatigue intense
- Nausées /vomissements
- Perte d'appétit
- Diarrhée
- Douleurs abdominales
- Déglutition difficile
- Difficultés respiratoires
- Hoquet
- Fausse couche

OU

- Toute personne ayant des saignements inexpliqués⁷ ou une fausse couche

OU

- Tout décès inexpliqué.

Un **cas probable** est (2 définitions courantes existes) :

- Cas suspect dont on sait qu'il a été en contact avec un cas connu (suspect, probable ou confirmé).

OU

- Patient qui, sur des bases cliniques et/ou épidémiologiques, a une très grande probabilité d'avoir une infection à virus de la maladie d'Ebola ou à virus de la maladie de Marburg.

Un **cas confirmé** est un cas **confirmé** par les tests de laboratoire, par exemple un test positif à la PCR pour le virus de la maladie d'Ebola ou Marburg.

⁶ Définition du contact : soins prodigués à un cas suspect, probable ou confirmé ou tout autre contact physique direct avec le cas (vivant ou mort) ; le fait d'avoir dormi dans le même lit, d'avoir eu des rapports sexuels, ou tout contact avec des liquides biologiques directement ou indirectement, par le linge ou en ayant partagé des repas.

⁷ En période de flambée, tout saignement inexpliqué est généralement considéré comme suspect, en ajoutant parfois le critère de fièvre OU de contact.

B) En dehors d'une épidémie

Un **cas « alerte »** est un patient présentant :

- Une fièvre inexpliquée/des antécédents de fièvre (depuis moins de 3 semaines)

ET

- Des signes hémorragiques inexpliqués :
 - Éruption hémorragique ou purpurique
 - Saignement du nez
 - Hématémèse (sang dans les vomissements)
 - Hémoptysie (sang dans les expectorations)
 - Sang dans les selles
 - Saignement des gencives
 - Autres signes hémorragiques

ET

- Aucun facteur connu prédisposant à des manifestations hémorragiques.

OU

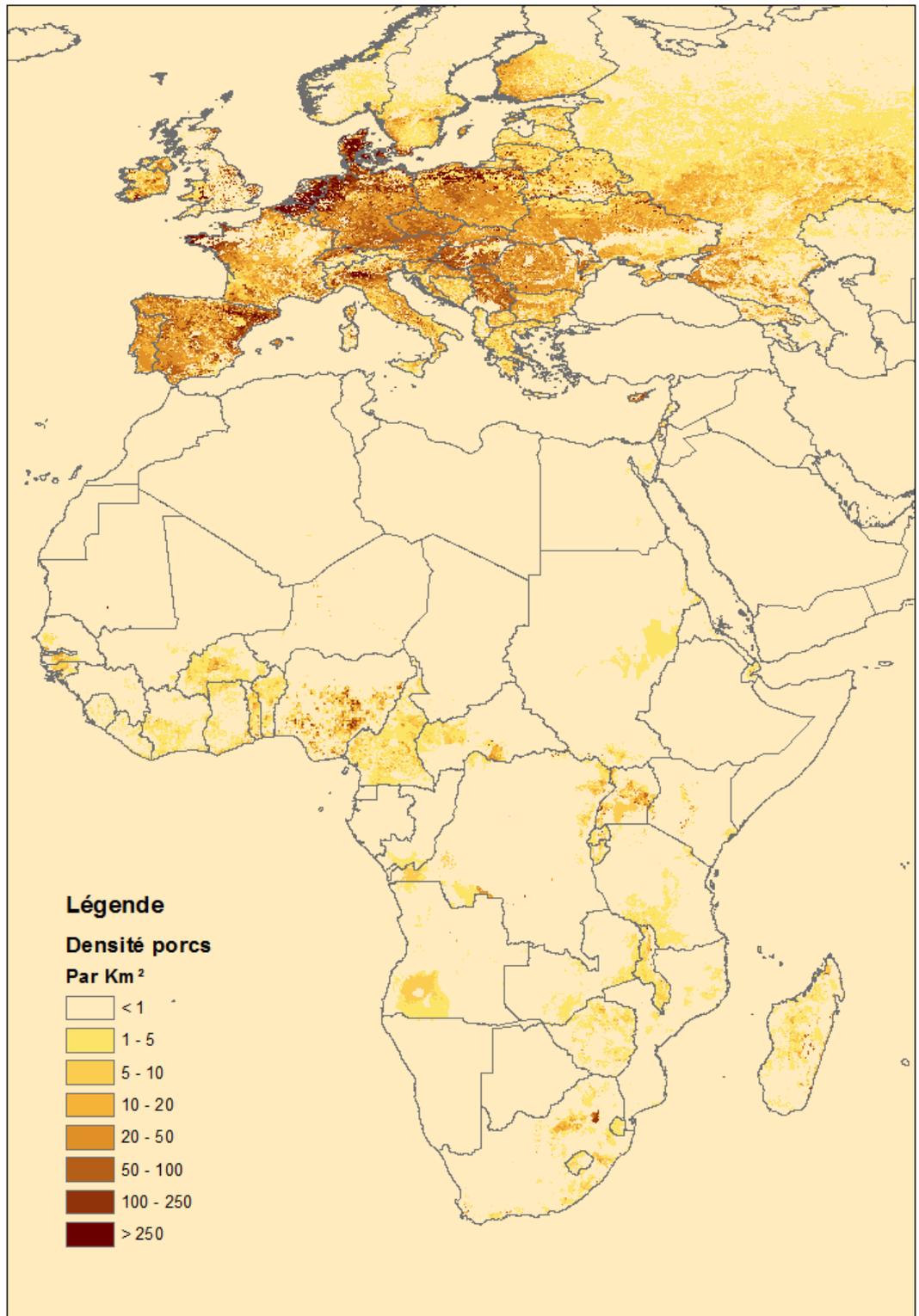
- Patient présentant : une fièvre
OU au moins 3 des symptômes suivants :

- Céphalées
- Nausées/vomissements
- Perte d'appétit
- Diarrhée
- Fatigue intense
- Douleurs abdominales
- Douleurs généralisées/articulaires
- Déglutition difficile
- Difficultés respiratoires

ET

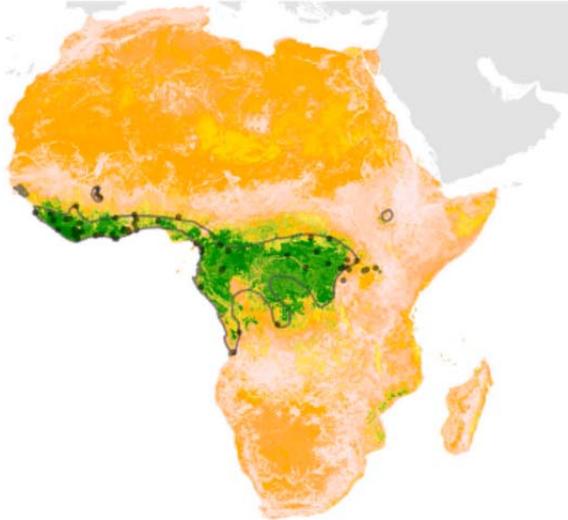
- Exposition possible à un *Filoviridae* :
 - Mort(s) inexpliquée(s) dans la famille ou les proches contacts
 - (Groupe de cas de) maladie grave inexpliquée dans la famille et les contacts.
 - Soins aux malades ; manutention des corps (aidants, agents de santé, ceux participant aux funérailles).
 - Contact à risque avec des singes, des chauves-souris, vivants ou morts
 - Morts inattendues d'animaux dans la zone, surtout des singes
 - Manipulation et/ou consommation d'animaux de brousse, (singes, chauves-souris)
 - Entrée dans des grottes, proximité d'arbres fruitiers avec des chauves-souris.

Annexe 5. Répartition géographique des porcs en Afrique (carte réalisée par L. Martinelle sur base des données FAO (2005)).

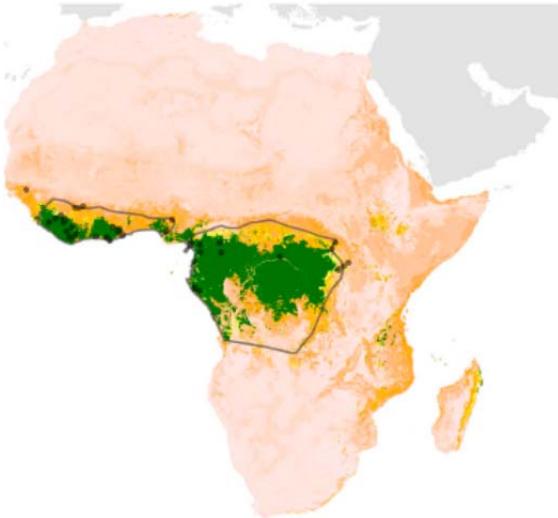


Annexe 6. Répartition prédite des espèces de chiroptères principales et potentiellement réservoir du virus Ebola (Pigott *et al.* 2014)

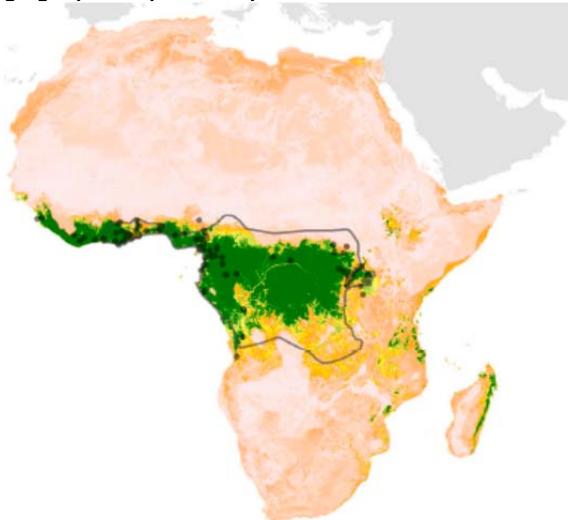
[A]. *Hypsignathus monstrosus*



[B] *Myonycteris torquata*



[C] *Epomops franqueti*



Annexe 7. Profil de recherche bibliographique et démarche appliquée

<http://www.scopus.com/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

<http://www.iastate.edu/>

<http://www.cdc.gov/>

<http://www.who.int/fr/>

<http://www.oie.int/fr/>

<http://www.cdc.gov/globalhealth/countries/china/>

<http://www.fao.org/home/fr/>

<http://www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>

<http://www.afroreb.info/>

<http://www.cdc.gov/globalhealth/countries/china/>

http://www.springer.com/biomed/virology/spotlight+on+ebola?SGWID=0-1771314-0-0-0&wt_mc=Banner.3rd%20party%20website%20banner.2.CON417.bmcnewsletter

Les recherches bibliographiques ont été faites en 2 temps :

- une 1^{ère} étape centrée sur les carnivores domestiques (Tableau 7),
- une 2^{ème} étape permettant de faire l'état des lieux des connaissances sur les fièvres hémorragiques à *Filoviridae* chez les animaux domestiques (Tableau 8).

Tableau 7 : profil de recherche bibliographique établi pour réaliser un état des lieux des connaissances sur les fièvres hémorragiques à *Filoviridae* chez les carnivores domestiques

Code requête	Thématique	Mots clé – 1 ^{ère} étape
#1	Populations cibles :	Animal OR Wild animal OR Domestic animal OR Dog OR cat OR ferret
#2	Famille des <i>Filoviridae</i> Genre <i>Ebolavirus</i> (ou virus Ebola)	Ebola Hemorrhagic Fever OR Ebola Virus Disease OR Ebolaviruses OR Ebola -like Viruses OR Ebola like Viruses OR Ebola -like Virus OR Ebola Virus OR Ebola Viruses OR (Virus* AND Ebola), (Ebola OR Ebola Virus) AND Zaire OR Zaire ebola virus OR (Ebola Virus AND Sudan) OR Sudan ebola virus OR (Ebola Virus OR Cote d'Ivoire) OR Cote d'Ivoire ebola virus OR (Ebola Virus AND Reston) OR Reston ebola virus OR (Ebola Virus AND Tai forest) OR Tai forest ebola virus
#3	Caractéristiques :	Virus transmission OR susceptibility OR receptivity OR sensitivity OR excretion OR symptoms OR clinical signs OR routes of infection OR host specificity OR shedding OR Asymptomatic transmission OR Virus resistance OR stability OR Virulence OR fomite OR Virus persistence OR Specific antibodies
#4	Type d'étude	<i>in vivo</i> OR <i>in vitro</i> OR experimental infection OR epidemiology OR modeling OR model OR routes of infection

Lors de cette 1^{ère} étape, la requête suivante a été réalisée : #1 OR #2 OR #3 OR #4.

La base d'article a ensuite été enrichie par les articles d'intérêt relevés dans les sites cités plus haut.

Tableau 8 : profil de recherche bibliographique établi pour réaliser un état des lieux des connaissances sur les fièvres hémorragiques à *Filoviridae* chez les animaux domestiques

Code requête	Thématique	Mots clé – 2 ^{ème} étape
#1	Populations cibles :	Animal OR Domestic animal OR Farm animal OR Pig* OR Swine* OR <i>Sus scrofa domesticus</i> OR cattle OR sheep OR small ruminant* OR goat* OR Sheep OR horse, rabbit OR <i>Potamochoerus</i> OR Pet* OR exotic pet OR mice OR mouse OR rat OR aulacode (<i>Thryonomys</i>) OR <i>Thryonomys swinderianus</i> OR cane rat OR grass cutter guinea pig OR <i>Cavia porcellus</i> OR hamster OR "rat" de Gambie OR Gambian rat OR cricétome des savanes OR cricetoma OR <i>Cricetomys gambianus</i> OR Bird* OR Dog OR cat OR ferret OR Animalia
#2	Famille des <i>Filoviridae</i> Genre <i>Ebolavirus</i> (ou virus Ebola) – –	<i>Filoviridae</i> OR filovirus* OR Ebola Reston OR <i>Ebolavirus</i> OR Ebola virus (EBOV) OR <i>Marburgvirus</i> OR Ebola virus Zaire OR Ebola virus Sudan, OR Ebola virus Bundibugyo OR Ebola virus Tai Forest OR Ebola virus Reston OR Cote d'Ivoire ebola virus
#3	Caractéristiques : sensibilité, réceptivité	Receptivity OR Susceptibility AND Clinical sign* OR Susceptibility AND Symptom* OR Susceptibility AND Disease

Lors de cette 2^{ème} étape, la requête suivante a été réalisée : #1 OR #2 OR #3, puis les articles comportant les termes d'exclusion listés ci-dessous ont été retirés.

La base d'article a ensuite été enrichie par les articles d'intérêt relevés dans les sites cités plus haut.

Termes d'exclusion	Crimean-Congo hemorrhagic fever virus OR CCHF OR CCHFV OR Hemorrhagic fever with renal syndrome OR Hemorrhagic fever with renal syndrome virus OR HFRS OR HFRSV OR <i>Hantavirus</i> OR Hantaan virus (HTNV) OR Puumala virus (PUUV) OR Seoul (SEOV) OR Prospect Hill virus (PHV) OR Nephropathia epidemica OR NE OR Argentine hemorrhagic fever OR AHF OR Lassa OR Junin virus OR JV OR Rift valley fever OR RVF*
--------------------	--

Un suivi des requêtes sélectionnées a été réalisé.