

Les Fièvres hémorragiques africaines d'origine virale. Contribution à leur étude en République centrafricaine

Jean-Paul GONZALEZ ⁽¹⁾, Joseph Benford McCORMICK ⁽²⁾
Jean-François SALUZZO ⁽³⁾, Alain-Jean GEORGES ⁽⁴⁾

Résumé

Les auteurs présentent la synthèse des résultats obtenus dans l'étude des Fièvres hémorragiques africaines d'origine virale en République centrafricaine sur une période de quatre années (1979-1982). 1909 sérums humains, 565 sérums animaux et 383 prélèvements biologiques divers, sont à l'origine des études sérologiques en immunofluorescence indirecte et des tentatives d'isolement de virus.

La présence d'anticorps dans la population humaine explorée est démontrée, dans le cas des six antigènes testés, en pourcentage de sérums positifs : 0,2 % anti-Lassa, 4,5 % anti-Ebola, 0,6 % anti-Marburg, 0,2 % anti-Fièvre hémorragique de Congo-Crimée, 1,2 % anti-Rift Valley Fever et 1,3 % anti-Virus Hantaan. Parmi les animaux étudiés les auteurs montrent que 16,9 % et 3,4 % d'anticorps anti-Lassa sont trouvés respectivement chez les rongeurs des genres *Praomys* et *Mastomys*. Chez les animaux domestiques, 17,3 % et 16,3 % respectivement de chiens et de cobayes, d'origines géographiques très localisées, ont des anticorps anti-Ebola ; ces derniers chiffres doivent toutefois être interprétés avec prudence. Les résultats sont analysés et discutés en fonction des différents antigènes viraux utilisés et des maladies qu'ils impliquent.

Les isolements à partir de rongeurs capturés en République centrafricaine (*Praomys* sp. et *Mastomys* sp.), de dix souches d'un nouvel arénavirus antigéniquement proche du virus Lassa, sont discutés.

Mots-clés : Fièvres hémorragiques — Afrique — République centrafricaine.

Summary

AFRICAN VIRAL HAEMORRHAGIC FEVERS. STUDIES IN THE CENTRAL AFRICAN REPUBLIC. The authors summarize results obtained from a study of African Hemorrhagic Fever in the Central African Republic over a period of 4 years (1979-1982). Serologic and/or virus isolation studies were carried out on 1909 human sera, 565 animal sera, and 383 tissue specimens.

The percentages of immunofluorescent antibody positive human sera to six different antigens are 0.2 % anti-Lassa, 4.5 % anti-Ebola, 0.6 % anti-Marburg, 0.2 % anti-Congo Crimean Hemorrhagic Fever, 1.2 % anti-Rift Valley Fever Virus, and 1.3 % anti-Hantaan virus. Among animals studied 16.9 % of *Praomys* and 3.4 % of *Mastomys* had antibodies to Lassa virus. 17.3 % of dogs and 16.3 % of domesticated guinea pigs had antibodies to Ebola virus, but these must be interpreted with caution.

(1) Virologue O.R.S.T.O.M., Division of Viral Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Ga, U.S.A.

(2) Chief, Special Pathogen Branch, Division of Viral Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Ga, U.S.A.

(3) Virologue, Institut Pasteur de Dakar, Sénégal.

(4) Directeur, Institut Pasteur de Bangui, République centrafricaine.

Evidence of infection was found for all the viruses studied, and these results are discussed in light of the associated diseases. A summary of data is given on 10 strains of arenavirus, antigenically similar to Lassa, isolated from rodents (Praomys sp. and Mastomys sp.) captured in the Central African Republic.

Key words : Haemorrhagic Fever — Africa — Central African Republic.

1. Introduction

Sous le terme de Fièvres hémorragiques (FH), on regroupe plusieurs maladies virales dont les agents infectieux appartiennent à divers groupes taxonomiques. L'unité de ces affections s'est faite autour d'un tableau clinique dominé par un syndrome hémorragique d'intensité variable et d'une expression épidémique à caractère rapidement évolutif.

Du point de vue géographique on distingue, les FH d'Amérique du Sud (la FH d'Argentine et la FH de Bolivie), les FH d'Afrique (La Fièvre de Lassa, la FH à virus Ebola, la maladie de Marburg et la Fièvre de la Vallée du Rift), la FH de Crimée-Congo connue en Europe Orientale, en Asie et en Afrique, et les FH avec syndrome rénal, pour lesquelles la répartition géographique est relativement étendue et occupe en particulier l'Eurasie (FH de Corée, Néphrose-néphrite hémorragique d'URSS, Néphropathie épidémique scandinave). Enfin d'autres viroses ont pu être considérées comme appartenant à ce groupe (FH d'Omsk, Maladie de la Forêt de Kyasanur, etc...), ce sont des affections dont les manifestations épidémiques demeurent limitées et rares (Casals *et al.*, 1966; Gajdusek, 1962).

Les Dengues et la Fièvre jaune, bien qu'aussi responsables de syndromes hémorragiques, sont considérées comme ne faisant pas partie de ce groupe. Elles s'en distinguent par plusieurs aspects : leur connaissance déjà ancienne, la qualité de l'immunisation amarile d'origine acquise ou vaccinale et la faible pathogénicité du virus de la Dengue qui peut être aisément manipulé au laboratoire. En effet, les FH, par opposition à ces deux viroses, n'ont pour la plupart été découvertes et étudiées que récemment ; il n'existe pas de vaccin ni de thérapeutique efficaces utilisables exception faite de l'unique traitement par plasma hyperimmun dans le cas de la FH d'Argentine (Maitzegui *et al.*, 1979). Les agents infectieux mis en cause font partie des entités biologiques de Classe 4 (Proposed Biosafety guidelines in Microbiology, 1981) présentant pour l'homme un risque biologique intrinsèque actuellement incontrôlable. Ainsi l'étude de ces maladies a-t-elle favorisé le développement d'une technologie

originale visant à protéger le manipulateur et son environnement de la manière la plus stricte. Les épidémies survenues en Afrique (Fièvre de Lassa, Fièvre de la vallée du Rift) ont provoqué un intérêt accru pour l'étude de ces maladies. Cela a eu pour effet d'une part la découverte de la FH à virus Ebola, et d'autre part, la constitution sur le terrain d'équipes spécialisées dans la surveillance et l'étude de ces affections. Enfin, une collaboration s'est engagée avec des laboratoires conçus pour l'isolement et l'étude des agents hautement pathogènes.

Considérée dans le contexte des épidémies à virus Ebola ayant eu lieu en 1976 au Soudan et au Zaïre puis, en 1979 à nouveau au Soudan, la République centrafricaine (RCA) semblait se situer dans la zone de circulation de ces virus. Dès 1979 une collaboration s'établit entre les Centers for Disease Control (États Unis), l'Institut Pasteur et l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer (O.R.S.T.O.M.), et permet ainsi de débiter en RCA un programme de recherche sur les FH. Le principe de cette étude était de mettre en évidence dans les populations humaines d'éventuelles marques sérologiques se rapportant à la présence de virus responsables de FH. Ce premier volet devait nous faire explorer sérologiquement des populations occupant, dans un environnement défini, les différentes zones phytogéographiques intéressant ce pays. Au vu des premiers résultats positifs, les études étaient étendues à la sérologie des animaux domestiques et paradomestiques. Dès les premières captures de rongeurs, des échantillons d'organes furent prélevés en vue de tentatives d'isolement de virus.

En quatre ans une somme importante de données fut collectée qui a permis un début d'interprétation de la répartition et de la circulation de certains de ces virus.

Enfin à la lumière de récentes informations concernant la répartition géographique du virus Hantaan responsable de la Fièvre hémorragique de Corée, il est apparu fondé d'orienter des recherches vers l'éventuelle mise en évidence de ce virus en RCA.

Le présent article rapportera l'ensemble des résultats obtenus jusqu'ici dans ce pays, en même

temps qu'il s'emploiera à définir les perspectives qui s'attachent à la poursuite de ces recherches.

2. Matériel

Les échantillons de sang humain ont été prélevés au pli du bras sur tubes secs Vacutainers[®] (1). Après rétraction du caillot et centrifugation sur le terrain (800 t.p.m. pendant 3 minutes), les sérums étaient décantés et conservés à + 4°C pour leur transport au laboratoire (durée de un à six jours), où ils étaient stockés à - 20°C.

Les prélèvements de sang et d'organes de rongeurs ont été faits au laboratoire, le plus souvent sur des spécimens vivants. Le sang était prélevé à ciel ouvert par ponction cardiaque chez l'animal anesthésié au chloroforme. Pour les rongeurs de petite taille une saignée supplémentaire était pratiquée par section des gros vaisseaux du cœur et drainage dans la partie décline de la cage thoracique. Après formation du caillot, le sang était centrifugé (Microfuge Beckman), le sérum décanté puis stocké à - 20°C ou - 70°C. Les organes étaient prélevés (foie, rate, poumon, rein, encéphale, vessie) puis conditionnés dans des tubes Nunc[®] à vis et stockés à - 70°C.

La clé utilisée pour l'identification des rongeurs était celle de Rosevear (1969) modifiée en fonction d'informations plus récentes fournies par les travaux de Petter (1977).

3. Méthodes et techniques

La technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) a été largement utilisée pour les études sérologiques et dans la recherche d'antigènes viraux lors des tentatives d'isolement. Cette technique a été mise au point par Wulff et Lange (1975) et modifiée par Johnson *et al.* (1981 a).

Pour les recherches sérologiques, la réaction d'IFI a été pratiquée sur des cellules de type Vero, clone E6, infectées par les différents virus étudiés (tabl. I). Des préparations polyvalentes en antigènes viraux ont servi au triage des sérums, tandis que des préparations monovalentes ont été utilisées pour le titrage des sérums positifs après triage. Les conjugués fluorescents utilisés sont ceux du commerce : anti-Immunglobulines d'homme (Wellcome

Diagnostics Products), anti-Immunglobulines de rats et de souris (Laboratoires Miles). Un conjugué anti-Immunglobulines de *Mastomys* préparé et testé au laboratoire donne une réponse interspécifique satisfaisante tant chez les rats que dans le genre *Praomys*. Les témoins positifs humains proviennent de malades convalescents, et les témoins négatifs de sujets sédentaires de zone tempérée. Les sérums témoins de rongeurs positifs proviennent de spécimens infectés expérimentalement au laboratoire (titre en anticorps fluorescents supérieur ou égal à 512), et les témoins négatifs d'animaux d'élevage.

Les essais d'isolement de virus ont été faits par inoculation de broyats d'organes et de sérums aux cultures cellulaires Vero E6, suivie de la recherche d'antigène intracellulaire par la réaction d'IFI. Les organes de rongeurs conservés à - 70°C ont été broyés dans un mortier, avec de la poudre de verre, et dans un millilitre de tampon PBS (à 1,7 % d'albumine bovine) par gramme d'organe.

Après dix minutes de diffusion la préparation était centrifugée (3 000 t.p.m., 30 mn, 4°C), le surnageant récolté et quatre tubes à essais de culture de cellules Vero étaient inoculés avec 0,1 ml de la suspension pure et à trois dilutions (1/10, 1/100, 1/1 000). Après une heure de contact à 37°C du matériel infectant, les tubes sont rincés trois fois et nourris avec 1 ml de milieu de Eagle à 2 % de sérum de veau foetal, puis conservés à 37°C. Au dixième jour, des frottis de cellules étaient préparés à partir de ces tubes infectés, fixés à l'acétone pendant 10 mn et inactivés aux rayons gamma (10⁵ rads, dose totale). L'IFI était pratiquée sur ces préparations à la recherche d'antigène viraux. Les témoins négatifs étaient constitués de cultures cellulaires conservées non infectées lors de l'inoculation des échantillons.

L'identification des souches isolées a été réalisée par la méthode d'IFI en utilisant des sérums humains de convalescents puis une batterie d'anticorps monoclonaux préparée principalement contre les arénavirus Lassa, Mozambique (McCormick *et al.*, en préparation) et la Chorioméningite lymphocytaire de la souris (Buchmeier *et al.*, 1980).

4. Résultats

1909 sérums humains et 565 sérums de diverses espèces animales ont été testés en sérologie (tabl. II

(1) Les noms de marques ne figurent que pour la clarté de l'exposé.

TABLEAU I

Souches virales utilisées

Virus	Souche	Origine	Echantillon	Auteur	
FH Crimée-Congo	"Matin"	Pakistan	1976	homme	Webb, P.A.
Ebola	BON.	Soudan	1976	homme	Bowen, E.T.
Ebola	MAY.	Zaire	1976	homme	Johnson, K.M.J.
Marburg	MUS.	Kenya	1980	homme	Johnson, B.
Fièvre de la Vallée du Rift	CDC 803548	Ethiopie		homme	USAMRIID (#801641)
Hantaan	761187	Corée	19	rongeur	Lee, H.W.
Lassa	"Josiah" Lp3	Sierra Leone	1976	homme	Wulff, H.
Mopeia	MOZMp ³	Mozambique		rongeur	McIntosh, B.
Mobala	All3047	RCA	1980	rongeur	Gonzalez, J.P.

TABLEAU II

Sérologie par immunofluorescence contre les antigènes des virus responsables de fièvres hémorragiques en Afrique : sérums humains de République centrafricaine

Lieu des prélèvements	Total testé	Pourcentage de sérums positifs vis à vis des antigènes viraux :*					
		LAS	EBO	MAR	CHF	RVF	HTN**
Basse Lobaye	499	0,0	2,6	0,2	nt***	nt	nt
M'Bomou	497	0,0	2,0	0,6	nt	nt	nt
Bozo	100	0,0	5,0	0,0	0,0	4,0	1/89
Birao	280	0,0	9,3	1,1	0,0	0,0	0/16
Bambari	90	0,0	nt	nt	2,2	0,0	1/26
Bouar	184	2,2	nt	nt	0,0	1,6	0/32
Nola	80	0,0	3,7	0,0	0,0	0,0	nt
Gomoka	83	0,0	7,2	0,0	0,0	3,6	1/74
Bouboui	44	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	0/3
Botambi	52	0,0	5,6	0,0	0,0	0,0	nt
RCA	1909	0,2	4,5	0,6	0,2	1,2	3/240

* Titre en anticorps fluorescents supérieur ou égal à 16.

LAS = Virus de Lassa

EBO = Virus Ebola, souches "Soudan" et "Zaïre"

MAR = Virus de Marburg

CHF = Virus de la fièvre hémorragique de CONGO-CRIMÉE

RVF = Virus de la Fièvre de la Vallée du Rift

HTN = Virus Hantaan

** Dans cette colonne : Nombre de positifs/Total testé

*** non testé

TABLEAU III

Sérologie par immunofluorescence indirecte contre les antigènes des virus responsables de fièvres hémorragiques en Afrique : sérums animaux de République centrafricaine

Lieu des captures	Genre	Total testé	Nombre de positifs pour les antigènes :					
			LAS	EBO	MAR	CHF	RVF	HTN*
Bozo	<i>Praomys</i>	40	8	0	1	0	0	nt
"	<i>Mastomys</i>	31	1	0	1	0	0	nt
"	<i>Mus</i>	15	0	0	1	0	0	nt
"	<i>Rattus</i>	2	0	0	nt	nt	0	nt
"	<i>Lemniscomys</i>	3	0	0	0	0	0	nt
"	<i>Aethomys</i>	2	0	0	0	0	0	nt
Birao	<i>Praomys</i>	2	0	0	0	0	0	nt
Bouar et sa région	<i>Praomys</i>	6	1	0	0	1	0	nt
"	<i>Mastomys</i>	56	2	7	0	2	2	nt
"	<i>Mus</i>	2	0	0	0	0	0	nt
"	<i>Rattus</i>	2	0	0	0	0	0	nt
"	Chien	133	9	23	8	3	0	nt
Bangui	<i>Rattus</i>	2	0	0	0	0	0	nt
"	Cobaye	80	nt	13	nt	nt	nt	nt
Bouboui	<i>Praomys</i>	55	5	0	0	0	0	nt
Gomoka	<i>Praomys</i>	51	6	0	0	0	0	0/38
"	<i>Mus</i>	19	2	0	0	0	0	0/19
"	<i>Rattus</i>	1	0	0	0	0	0	0/1
Botambi	<i>Praomys</i>	41	13	0	0	0	0	nt
"	<i>Mastomys</i>	2	0	0	0	0	0	nt
"	<i>Mus</i>	18	0	1	0	0	0	nt
"	<i>Rattus</i>	2	0	0	0	0	0	nt

* Dans cette colonne : Positifs/Total testé.

et III). La population humaine explorée appartient aux différentes zones phytogéographiques décrites en RCA (Sillans, 1958) et dans ces zones, à des régions de densité humaine importante.

383 échantillons d'origine animale, en grande partie constitués de prélèvements de sang et d'organes de rongeurs (tabl. IV) ont été l'objet de tentatives d'isolement de virus. 7 sérums humains prélevés chez des sujets suspects de FH ont été inoculés aux cultures cellulaires sans donner lieu à l'isolement de virus.

Nous avons obtenu des séropositivités pour l'ensemble des antigènes testés.

Plusieurs souches d'un arénavirus antigéniquement proche du virus de Lassa ont été isolées de rongeurs des genres *Praomys* et *Mastomys* (tabl. IV).

Les virus et les affections qu'ils engendrent sont exposés séparément dans ce chapitre et dans la discussion.

4.1. LE VIRUS DE LA FIÈVRE DE LASSA

Seuls 4 sérums humains (tabl. II), soit 0,2 % du total des sérums testés, possédaient des anticorps

anti-Lassa à un titre supérieur ou égal à 16 (souche Lassa « Josiah » de Sierra Leone). 16,9 % des sérums de *Praomys* ont été retenus comme positifs, contre 3,4 % chez le genre *Mastomys*. Enfin 9 chiens sur 133 testés avaient aussi des anticorps (tabl. III et V).

L'étude de 164 et 84 sérums et organes de rongeurs appartenant respectivement aux genres *Praomys* et *Mastomys*, a conduit à l'isolement de 10 souches d'un nouvel arénavirus, nommé provisoirement virus Mobala (Gonzalez *et al.*, 1983 a). 9 de ces souches ont déjà fait l'objet d'une publication princeps (Gonzalez *et al.*, 1983 b). On a pu démontrer du point de vue antigénique, que ces souches étaient très proches des souches Lassa et Mopeia (nom de la localité d'où la première souche a été isolée, R. Swanepoel, comm. pers.), arénavirus isolé de rongeurs capturés au Mozambique et au Zimbabwe (Wulff et Conrad, 1977 ; Johnson *et al.*, 1981 c), mais différaient nettement des autres arénavirus connus y compris le virus de la Chorioméningite lymphocytaire de la souris (CML). Enfin l'utilisation d'une batterie d'anticorps monoclonaux préparés contre les virus Lassa, Mopeia et CML

TABLEAU IV

Spécimens animaux utilisés pour l'isolement de virus

Genres	Spécimens inoculés	
	Organes	Sérums
<i>Praomys</i>	70/7*	94/2
<i>Mastomys</i>	70/1	14/0
<i>Mus (Leggada)</i>	38/0	13/0
<i>Rattus rattus</i>	4/0	4/0
<i>Lemniscomys</i>	5/0	1/0
<i>Aethomys</i>	2/0	4/0
<i>Thamnomys</i>	3/0	1/0
<i>Oenomys</i>	1/0	0/0
<i>Malacomys</i>	1/0	0/0
<i>Lophuromys</i>	5/0	3/0
<i>Arvicantthis</i>	5/0	13/0
<i>Dephomys</i>	1/0	2/0
<i>Stochomys</i>	0/0	2/0
<i>Hylomiscus</i>	12/0	11/0
<i>Sorex</i> sp.	1/0	0/0
<i>Micropteropus</i>	1/0	2/0

* Nombre d'échantillons testés/Nombre de souches isolées.

TABLEAU V

Sérums animaux de RCA-test sérologique par IFI contre les antigènes des virus des fièvres hémorragiques africaines.

Groupes animaux	Total testé	Pourcentage de sérums positifs *				
		LASS	EBO	MAR	CHF	RVF
<i>Praomys</i> sp.	195	16,9	0,0	0,5	0,5	0,0
<i>Mastomys</i> sp.	89	3,4	7,9	1,1	2,2	2,2
<i>Mus (Leggada)</i>	37	0,0	2,7	2,7	0,0	0,0
Chiens	133	6,7	24,8	6,0	2,3	0,0
Cobayes	80	nt	16,2	nt	nt	nt
autres	16	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

* Titre en anticorps supérieur ou égal à 8.

(les anticorps monoclonaux anti-virus CML nous ont été gracieusement fournis par le Dr. M. J. Buchmeier) a permis de distinguer nettement les souches nouvellement isolées en RCA des souches de virus Lassa et Mopeia (Gonzalez *et al.*, 1983b ; McCormick *et al.*, 1982).

Le virus Lassa est le seul arénavirus pathogène pour l'homme connu en Afrique. La spécificité de la réaction d'IFI suffit à une approche globale de la prévalence de ce virus dans les populations humaines de ce pays (Wulff et Lange, 1975). 126 sérums humains, collectés dans les zones où ont eu lieu les isolements du virus Mobala et séro-négatifs contre la souche Lassa « Josiah » de Sierra Leone, ont été testés contre l'antigène du virus Mobala ; 3 sérums possédaient des anticorps contre cet antigène (tabl. VI).

4.2. LE VIRUS ÉBOLA

Des séropositivités humaines importantes, tant en titre qu'en nombre, ont été trouvées dans diverses zones de RCA, mais le manque apparent de spécificité de la réaction d'IFI pour ce virus rend l'interprétation pour l'instant difficile en termes épidémiologiques. Malgré cela les données obtenues n'en sont pas moins une source importante d'enseignement et seront pour cela discutées.

Chez les animaux sauvages et domestiques nous n'avons pas trouvé, à une exception près, de positivités élevées (titre en anticorps >32). Cette exception concerne les cobayes ; ces animaux domestiques ont en effet retenu notre attention par leurs réactions sérologiques importantes en nombre (tabl. III) et en titre, et par le degré de réponse différent selon la souche de virus Ebola utilisée (tabl. I) (Saluzzo, comm. pers.). Ces résultats, bien qu'ils soient soumis à la même interprétation restrictive que ceux de la sérologie humaine, seront aussi discutés.

4.3. LE VIRUS DE MARBURG

Les virus Ebola et Marburg ont été proposés pour occuper un nouveau et même groupe taxonomique (Kiley *et al.*, 1982). Ils se distinguent en particulier des autres virus par leur antigénicité propre, et il n'a pas été mis en évidence jusqu'ici de réaction antigénique croisée à l'intérieur du

groupe entre les souches Ebola et les souches Marburg. Enfin l'expérience montre que pour le virus Marburg, les résultats acquis par IFI en sérologie restent cohérents et fiables. La réaction d'IFI est donc à considérer jusqu'ici comme d'une bonne spécificité (Wulff et Conrad, 1977 ; Johnson *et al.*, 1977).

0,6 % des sérums humains de la population humaine explorée possède des anticorps fluorescents contre cet antigène (tabl. II).

Dans les groupes animaux, huit sérums de chiens sur 133 testés possèdent des anticorps contre ce virus. Deux spécimens appartenant aux genres *Mastomys* et *Mus* ont aussi des anticorps en titre notable (tabl. III).

4.4. LE VIRUS DE CONGO-CRIMÉE

Deux sérums humains (tabl. II), trois sérums de chien, deux sérums de *Mastomys* et un sérum de *Praomys* (tabl. III) ont des anticorps contre le virus Congo. Seuls deux des sérums de chien ont un titre élevé en anticorps de 128 et 1 024, les autres donnent une réponse positive à la dilution maximale de 1/16 pour les sérums humains, et 1/8 pour les sérums animaux.

4.5. LE VIRUS DE LA FIÈVRE DE LA VALLÉE DU RIFT

11 sérums humains (tabl. II) ont un titre en anticorps fluorescents notable (supérieur ou égal à 16) et ont été testés par séroneutralisation par le laboratoire de l'U.S.A.R.M.I.D. à Fort Detrick *, utilisant le test de réduction des plages (tabl. VII).

2 spécimens de rongeurs (tabl. III) ont une séropositivité faible dans le test d'IFI (1/8 et 1/16) et ne possèdent pas d'anticorps neutralisants.

4.6. LE VIRUS HANTAAAN

Trois sérums humains sur 240 testés (tabl. II), ont été trouvés positifs au 1/256 contre cet antigène. Le test de séroneutralisation du virus par réduction des plages sur cultures cellulaires Vero E6 est toutefois resté négatif.

58 sérums de rongeurs testés sont négatifs (tabl. III).

* Les tests de séroneutralisation sont dus à l'obligeance du Docteur C. J. Peters, Directeur du Département des maladies infectieuses à l'U.S. Army Medical Research Institute for Infectious Disease, Ft Detrick, MD, U.S.A.

5. Discussion

5.1. LA FIÈVRE DE LASSA

Malgré le faible taux de séropositivité chez l'homme (0,2 %) contre l'antigène de Lassa, et à la lueur des isollements du virus Mobala antigéniquement proche, la question s'est posée de marques sérologiques dues effectivement à la maladie de Lassa ou à une contamination par un autre arénavirus.

Pour cela nous avons testé d'une part 126 sérums humains de RCA et d'autre part 4 sérums humains positifs vis-à-vis de l'antigène Lassa, contre les antigènes des arénavirus Lassa, Mopeia et Mobala (tabl. VI). La positivité des sérums n^{os} 2, 3 et 4 traduit vraisemblablement une infection ancienne par le virus de Lassa. Toutefois, il semble difficile de considérer la zone intéressée comme endémique de la fièvre de Lassa. Pour cela, on considère la prévalence en anticorps d'une part dans la population humaine (2,2 %) de la région d'où proviennent ces sérums (Bouar, 5°57' N-15°36' E) (tabl. II) et d'autre part celle des rongeurs de la même région (*Praomys* et *Mastomys* confondus : 4,8 %) (tabl. III), et on les compare aux chiffres moyens respectivement de 35 et 20 % de sérologies positives observées en Sierra Leone en zone d'endémie (McCormick, comm. pers.). Ces observations nous portent à considérer ces sérums comme appartenant vraisemblablement à des cas importés plus qu'à une éventuelle infection dans les zones étudiées.

Le sérum humain n^o 1 possède un titre en anticorps égal vis-à-vis de la souche Lassa « Josiah » et du virus Mopeia ; ce type de réaction est singulier et ne s'accorde pas avec celui rencontré chez les sujets convalescents de fièvre de Lassa, soit, dans ces cas, un titre en anticorps contre le virus Lassa supérieur au moins de 2 dilutions à celui contre le virus Mopeia (Wulff *et al.*, 1978). Ce sérum, épuisé, n'a pu être testé contre le virus Mobala. 3 des 126 sérums humains choisis dans les zones où les isollements du virus Mobala ont eu lieu, ont des anticorps à titre faible contre ce virus et sont totalement négatifs contre les antigènes Lassa et Mopeia (tabl. VI, n^{os} 5, 6, et 7). Il semble donc, à la lumière de ces résultats, qu'une infection de l'homme par le virus Mobala soit possible.

16,9 % des spécimens du genre *Praomys* possèdent des anticorps contre le virus Lassa contre seulement 3,4 % des spécimens du genre *Mastomys* (tabl. V). Toutefois si on pousse plus loin l'analyse des spécificités sérologiques observées, on constate

les faits suivants : en Sierra Leone, en zone d'endémie la prévalence en anticorps dirigés contre le virus Lassa, chez *Mastomys* sp., est de 27 % (McCormick, comm. pers.). Or on observe dans les sérums positifs centrafricains un titre en anticorps plus élevé à l'égard des souches centrafricaines qu'il ne l'est à l'égard des souches de Sierra Leone ; c'est l'inverse du type de réponse observée avec les sérums de rongeurs immuns de Sierra Leone (Gonzalez *et al.*, non publié). L'ensemble de ces observations nous permet d'attribuer très vraisemblablement la séropositivité des rongeurs de RCA à une infection par le virus Mobala.

En conclusion il semble que la fièvre de Lassa soit absente de cette région d'Afrique centrale tout au moins de façon endémique. Le virus Mobala isolé en RCA peut être considéré comme vicariant du virus de Lassa et à l'instar du virus Mopeia en Afrique de l'Est, occuper la même niche écologique que le virus de Lassa en Afrique de l'Ouest. Le biotope de ce virus est constitué par l'environnement paradomestique des abords des villages, avec pour réservoir *Praomys*, un petit mammifère bien représenté dans ce biotope malgré des habitudes nettement plus selvatiques que *Mastomys*. Toutefois une souche d'arénavirus, identifiable au virus Mobala par anticorps monoclonaux, a été isolée du genre *Mastomys* ; les habitudes domestiques de ce rongeur le font évoluer dans le proche environnement de l'homme ce qui augmente d'autant les chances de contact de ce dernier avec le virus Mobala. Cela nous incitera à rechercher en RCA si *Mastomys* représente un réservoir permanent ou accidentel de ce virus.

La question reste posée du passage à l'homme de cet arénavirus de rongeur et de son pouvoir immunogène vis-à-vis des autres arénavirus rencontrés en Afrique. Dans ce but, des enquêtes de terrain à la recherche d'épisodes cliniques ou pseudo-épidémiques évoquant une infection par un arénavirus devront être réalisées, ainsi que l'étude de la séroprotection induite chez le modèle animal inoculé avec le virus Mobala.

De l'ensemble de ces observations résulte l'esquisse possible d'un groupe « Lassa » constitué par les Arénavirus africains comme on a pu décrire en Amérique du Sud et centrale, le groupe Tacaribe (Lehman-Grube, 1971). En effet des différences fines ont pu être mises en évidence au niveau des sites antigéniques des protéines de structure de ces virus par l'utilisation d'anticorps monoclonaux (McCormick *et al.*, 1982), mais aussi dans leurs caractéristiques physico-chimiques. Il existe en

particulier des différences nettes à l'intérieur du groupe quand on considère les distances de migration électrophorétiques des nucléoprotéines virales (Gonzalez *et al.*, 1983 a).

5.2. LA FIÈVRE HÉMORRAGIQUE À VIRUS EBOLA

Plusieurs éléments permettent de ne pas considérer la réaction d'immunofluorescence indirecte avec l'antigène Ebola comme un test sérologique parfaitement fiable. En effet des anticorps anti-Ebola ont été trouvés chez des individus sans rapport géographique ni temporel avec des zones endémiques connus (Van der Groen *et al.*, 1978). Plus récemment un test radio-immunologique (Gonzalez *et al.*, non publié) n'a pas donné de corrélation suffisante avec le test d'IFI. Enfin une prévalence en anticorps élevée, supérieure à 30 %, (Gonzalez *et al.*, non publié) dans des zones de RCA, en région de savane sub-soudanaise, pour lesquelles il n'existe aucune notion épidémique conduisant à suspecter le virus Ebola, est une autre raison de se montrer extrêmement prudent quant à l'interprétation des résultats acquis par IFI.

En contrepartie l'IFI reste le seul test sérologique disponible malgré les essais d'utilisation d'autres techniques comme la séroneutralisation ou le test ELISA (Johnson *et al.*, 1981 b). Dans la présente étude, vu l'intensité des réponses en anticorps fluorescents et afin d'augmenter la spécificité du test, sont pris en considération des sérums ayant un titre en anticorps élevé, soit un titre minimum supérieur ou égal à 64 et à 16, respectivement pour les sérums humains et les sérums animaux. L'interprétation des données de la sérologie ne peut donc être que partielle et se référer constamment aux notions de prévalence en anticorps observées lors des épidémies du Zaïre et du Soudan.

Selon leur origine géographique, Zaïre ou Soudan, on distingue deux immunotypes différents de virus Ebola (McCormick *et al.*, 1983; Cox *et al.*, 1983). Nous avons pu observer que les sérums humains positifs de RCA ont une réponse en anticorps préférentielle mais pas absolue contre la souche Ebola « Zaïre »; les individus présentant des réponses en anticorps dirigées à la fois contre les deux immunotypes sont rares (Saluzzo *et al.*, non publié). Nous ne possédons pas encore les éléments de compréhension nécessaires au niveau moléculaire pour expliquer la signification d'une telle observation.

Si l'on considère comme positifs les sérums humains ayant un titre en anticorps supérieur ou

égal au 64^e, la prévalence en anticorps anti-Ebola varie de 0 à 9,3 % selon les zones explorées; cela donne à penser qu'un virus antigéniquement proche du virus Ebola peut circuler en RCA, mais diffère nettement par son comportement épidémiologique et principalement dans sa pathogénicité pour l'homme. Ceci n'est encore qu'une hypothèse fragile sous-tendue par les études sérologiques réalisées en IFI dont la fiabilité reste à éclaircir.

La présence notable d'anticorps anti-Ebola chez les cobayes de RCA en tant qu'animaux domestiques (tabl. III) confirme des observations antérieures faites au Zaïre chez ce même animal par Johnson *et al.* (1981 b). Les sérums de chiens positifs tendraient à confirmer l'idée émise par ces auteurs d'un réservoir de virus domestique remettant ainsi en question un nombre important de propositions faites sur l'approche d'une épidémiologie de caractère selvatique du virus Ebola (Arata et Johnson, 1978).

En conclusion nous présentons ces résultats surtout à titre indicatif et nous nous gardons de toute interprétation hâtive. On peut toutefois considérer comme possible la présence en RCA d'un virus fiable aux souches Ebola « Soudan » et « Zaïre ». A l'appui de cette hypothèse on peut retenir la situation géographique de ce pays par rapport à la localisation des épidémies de FH à virus Ebola notifiées antérieurement ainsi que l'identité des biotopes centrafricains, soudanais et zaïrois.

5.3. LA MALADIE DE MARBURG

La prévalence en anticorps reste relativement faible chez l'homme (0,6 %) et il faut rechercher en priorité un éventuel réservoir de virus animal. Dans la ville de Bouar, située dans l'ouest du pays, 6 % des chiens capturés ont été trouvés porteurs d'anticorps anti-Marburg (tabl. III). Il serait intéressant de faire porter également des enquêtes sérologiques sur ces animaux dans le département du M'Bomou, principalement dans les villages de Ion-gofongo et M'Balazime où deux sujets séropositifs ont pu être retestés et confirmés à un an d'intervalle. En effet, une enquête sérologique menée en 1980 dans l'Est du pays (Département du M'Bomou) nous avait permis de conclure à la circulation à bas bruit du virus Marburg ou d'un virus antigéniquement proche dans la population humaine explorée (Saluzzo *et al.*, 1981).

5.4. LA FIÈVRE HÉMORRAGIQUE DE CRIMÉE-CONGO

Le virus de la Fièvre hémorragique de Crimée-

Congo (CHF-C) définit un groupe antigénique excluant tout autre virus africain, à l'intérieur du nouveau genre *Nairovirus*. Les réactions sérologiques croisées entre les groupes de ce genre sont encore peu connues. On note en particulier dans un groupe antigénique (Nairobi Sheep Disease Group) de ce genre, la présence du virus Dugbe, souvent isolé en RCA d'homme et de tiques.

Huit sérums humains et animaux avaient des anticorps fluorescents contre le virus de la Fièvre hémorragique de Crimée-Congo (tabl. II-III) ; un sérum de chien possédait un titre élevé de 1 028.

Le test d'IFI a été utilisé par différents auteurs avec une spécificité satisfaisante (Burney *et al.*, 1980 ; Smirnova, 1979). Toutefois il n'existe pas à ce jour d'étude sérologique comparative étendue entre les différents tests sérologiques (IFI, fixation du complément, séroneutralisation, immunodiffusion en gel) pour affirmer la spécificité et la sensibilité du test IFI.

Tout en gardant présente à l'esprit la nécessité d'un test de confirmation, on est en droit de penser que les marques sérologiques observées possèdent une relative spécificité vis-à-vis de l'antigène testé en particulier quand on considère des titres en anticorps élevés (Casals, 1978 ; Smirnova, 1979).

Il n'est pas surprenant de rencontrer en Centrafrique de telles marques sérologiques. En effet le virus CHF-C a été isolé à plusieurs reprises en Afrique et en particulier en RCA, à partir d'un lot de tiques, *Hyalomma nitidum* (Sureau *et al.*, 1976). Si les chiens séropositifs n'ont vraisemblablement pas été infectés par *H. nitidum*, parasite préférentiel de petits vertébrés et d'Ongulés (Camicas, 1980), *Rhipicephalus sanguineus*, vecteur potentiel de ce virus, est un ectoparasite fréquent du chien, et pourrait accidentellement transmettre le virus à l'homme si le chien était impliqué dans la circulation du virus CHF-C en RCA.

5.5. LA FIÈVRE DE LA VALLÉE DU RIFT

Les deux sérums de rongeurs positifs par IFI n'ont pas été confirmés par le test de séroneutralisation par réduction des plages (TDRP) et pourraient être rapportés plus vraisemblablement à deux autres virus du même groupe, le virus St Floris ou le virus Gordil.

Les 12 sérums humains positifs en IFI et contrôlés par le TDRP (tabl. VII), montrent une bonne corrélation entre le titre en anticorps fluorescents et le titre en anticorps neutralisants ($r^2 = 0,80$). Toutefois, sur 211 sérums humains

testés par les deux méthodes, on observe 3 fois plus de sérums positifs par TDRP que par IFI (Peters, comm. pers.). Cela tend à démontrer la relative spécificité du test IFI en regard de son manque de

TABLEAU VI

Sérums humains de RCA présentant des anticorps contre différentes souches d'arénavirus africains. Titrages comparatifs

No	No de Lab.	Titre en anticorps fluorescents contre les antigènes * :		
		LAS	MOP	MOB
1	1544	64	64	nt
2	1574	64	***	nt
3	1604	16	-	-
4	1624	128	-	-
5	2209	-	-	16
6	2310	-	-	32
7	2315	-	-	16

* LAS = Antigène Lassa souche Humaine "Josiah" de Sierra Leone

MOP = Souche Mopeia, arénavirus isolé de rongeur au Mozambique

MOB = Souche Mobala, arénavirus isolé de rongeur en RCA

*** Titre en anticorps inférieur au quart de dilution.

TABLEAU VII

Sérums humains positifs par immunofluorescence indirecte (IFI) contre l'antigène du virus de la fièvre de la vallée du Rift et contrôlés par le test de séroneutralisation par réduction des plages (TDRP) en culture cellulaire

Numéro du sérum	Titre en anticorps	
	IFI	TDRP
1385	160	640
1434	160	640
1474	160	1280
1478	160	640
1544	320	1280
1574	16	160
1598	32	160
2209	1280	2560
2247	160	640
2251	320	640
2315	160	640
2319	320	320

sensibilité vis-à-vis de l'antigène du virus de la fièvre de la vallée du Rift (FVR).

De récents travaux ont pu démontrer que le virus Zinga isolé en RCA et considéré alors comme nouveau (Digoutte *et al.*, 1974) est parfaitement identifiable au virus FVR (Meegan *et al.*, 1983).

De l'ensemble de ces observations et si on considère qu'un titre égal ou supérieur à 160 dans le TDRP est significatif d'une infection par le virus FVR (Shope *et al.*, 1981), nous pouvons aisément conclure à la circulation de ce virus dans les populations humaines de RCA. Ces résultats éclairent d'un jour nouveau la situation épidémiologique du virus FVR en Afrique centrale et nécessiteront à l'avenir des enquêtes virologiques focalisées sur les populations d'éleveurs et le cheptel centrafricain.

Enfin, nous avons pu observer des épisodes pseudo-épidémiques chez des agneaux nouveau-nés en RCA ; aucun virus n'a pu alors être isolé sur sourceau (Saluzzo et Gonzalez, non publié). Après avoir éliminé dans de tels cas les possibilités d'infections parasitaires et bactériennes classiques, la pri-meur devra être donnée à la recherche du virus FVR.

5.6. LA FIÈVRE HÉMORRAGIQUE AVEC SYNDROME RÉNAL

Le virus de Hantaan isolé dans la Fièvre hémorragique de Corée (Lee *et al.*, 1978) est responsable de tableaux cliniques variés (Froeb et McDowell, 1954 ; Petricevic *et al.*, 1978 ; Lahdevirta *et al.*,

1982). Il pose le problème d'un virus ou d'un groupe antigénique viral ayant une répartition cosmopolite et une pathologie induite qui varie selon les zones géographiques. Notre étude en RCA nous a fait inclure ce virus en raison de la variété éco-climatique des régions ou il semble exister à l'état endémique (Lahdevirta *et al.*, 1982 ; Lee *et al.*, 1981).

Sur 240 sérums humains testés deux seulement sont nettement positifs par IFI avec un titre de 256. Du fait de l'originalité antigénique du virus Hantaan (Tsai *et al.*, 1982), et de l'absence d'anticorps neutralisants contre ce virus, ces deux cas pourraient être rapportés à une infection par un virus antigéniquement proche. En effet l'hypothèse de souches virales différentes selon les régions du globe semble aujourd'hui admise (Lahdevirta *et al.*, 1982) et la présence en RCA de souches originales différentes des souches prototypes coréennes est une hypothèse à retenir.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. J. Mouchet, les Docteurs M. Germain, K. M. Johnson et C. J. Peters pour leurs conseils, leur aide et la critique éclairée de ce travail, ainsi que les personnels de l'Institut Pasteur de Bangui et du laboratoire de la Special Pathogens Branch du CDC pour leur aide constante dans les conditions souvent difficiles du terrain et du laboratoire de haute sécurité.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.
le 28 juin 1983.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME, 1981. — Proposed Biosafety Guidelines for Microbiological and Biomedical Laboratories, US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, U.S.A., 62 p.
- ARATA (A. A.) et JOHNSON (B.), 1978. — Approaches toward studies on potential reservoirs of viral hemorrhagic fever in southern Soudan in Ebola Virus Hemorrhagic Fever, Pattyn (S. R.) edit. Elsevier, North-Holland Biomedical Press, Amsterdam : 191-202.
- BUCHMEIER (M. J.), LEWICKI (H. A.), TOMORI (O.) et JOHNSON (K. M.), 1980. — Monoclonal antibodies to lymphocytic choriomeningitis virus react with pathogenic arenaviruses. *Nature*, 288, 5790 : 486-487.
- BURNEY (M. I.), GHAFOR (A.), SALEEN (M.), WEBB (P. A.) et CASALS (J.), 1980. — Nosocomial outbreak of viral hemorrhagic fever caused by Crimean Hemorrhagic Fever-Congo Virus in Pakistan, January 1976. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 29, 5 : 941-947.
- CAMICAS (J. L.), 1980. — Les arbovirus à tiques en zone tropicale. *Méd. trop.*, 40, 5 : 499-508.
- CASALS (J.), 1978. — Crimean-Congo hemorrhagic Fever in Ebola Virus Hemorrhagic Fever (1977), Pattyn (S. R.) edit. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam : 301-318.
- CASALS (J.), HOOGSTRAAL (H.), JOHNSON (K. M.), SHELOKOV (A.), WIEBENGA (N. H.) et WORK (T. H.), 1966. — A current appraisal of Hemorrhagic Fevers in the U.S.S.R. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 15, 5 : 751-763.
- COX (N. J.), McCORMICK (J. B.), JOHNSON (K. M.) et KILEY (M. P.), 1983. — Evidence of two subtypes of Ebola virus based on oligonucleotide mapping of RNA. *J. Inf. Disease.*, 147, 2 : 272-275.
- DIGOUTTE (J. P.), CORDELLIER (R.), ROBIN (Y.), PAJOT (F.-X.) et GÉOFFROY (B.), 1974. — Zinga virus (AfB 1976), a new arbovirus isolated in the Central African Republic. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 125 B : 107-108.
- FROEB (H. F.) et McDOWELL (M. E.), 1954. — Renal Function in Epidemic Hemorrhagic Fever. *Am. J. Med.*, May 1954.

- GAJDUSEK (D. G.), 1962. — Virus Hemorrhagic Fevers. *J. Ped.*, 60, 6 : 841-857.
- GONZALEZ (J. P.), BUCHMEIER (M. J.), McCORMICK (J. B.) et KILEY (M. P.), 1983 a. — Comparative analysis of several Lassa-like Arenaviruses isolates from Africa. 5th International Symposium on Negative Strand Viruses (sept. 83), Hilton Head, S.C., U.S.A.
- GONZALEZ (J. P.), McCORMICK (J. B.), SALUZZO (J. F.), HERVÉ (J. P.), JOHNSON (K. M.) et GEORGES (A. J.), 1983. — An Arenavirus isolated from wild-caught Rodents (*Praomys* species) in Central African Republic. *Intervirology*, 19, 2.
- JOHNSON (K. M.), ELLIOT (L. H.) et HEYMANN (D. L.), 1981 a. — Preparation of Polyvalent Viral Immunofluorescent Intracellular Antigens and Use in Human Serosurveys. *J. Clin. Microb.*, 5, 14 : 527-529.
- JOHNSON (K. M.), SCRIBNER (C. L.) et McCORMICK (J. B.), 1981 b. — Ecology of Ebola Virus : A First Clue ? *J. Inf. Dis.*, 143, 5 : 749-751.
- JOHNSON (K. M.), TAYLOR (P.), ELLIOTT (L. H.) et TOMORI (O.), 1981 c. — Recovery of a Lassa-related arenavirus in Zimbabwe. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 30 : 1291-1294.
- JOHNSON (K. M.), WEBB (P. A.), LANGE (J. V.) et MURPHY (F. A.), 1977. — Isolation and partial characterization of a new virus causing acute haemorrhagic fever in Zaire. *Lancet*, March 12 : 569-571.
- KILEY (M. P.) et al., 1982. — Filoviridae : A taxonomic group for Marburg and Ebola viruses ? *Intervirology*, 18 : 24-32.
- LAHDEVIRTA (J.), ENGER (E.), HUNDERI (O. H.), TRAAVIK (T.) et LEE (H. W.), 1982. — Hantaan virus is related to Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome in Norway. *Lancet*, sept. 11 : 606.
- LEE (P. W.), GIBBS (C. J.), GAJDUSEK (D. C.) et SVEDMIR (A.), 1981. — Antibody to Korean haemorrhagic fever in man in parts of the world where haemorrhagic fever with renal syndrome is not known. *Lancet*, August 1 : 256.
- LEE (H. W.), LEE (P. W.) et JOHNSON (K. M.), 1978. — Isolation of the etiologic agent of Korean Haemorrhagic Fever. *J. Inf. Dis.*, 137 : 298-308.
- LEHMAN-GRUBE (F.), 1971. — Lymphocytic choriomeningitis Virus. *Virology Monographs*, 10, Springer-Verlag, New York.
- MAITZEGUI (J. I.), FERNANDEZ (N. J.) et DE DAMILANO (A. J.), 1979. — Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine Haemorrhagic Fever and association between treatment and a late neurological syndrome. *Lancet*, Dec. 8 : 1216-1217.
- McCORMICK (J. B.), BAUER (S. P.), ELLIOT (P. A.) et JOHNSON (K. M.), 1983. — Biologic Differences between Strains of Ebola Virus from Zaire and Sudan. *J. Inf. Disease.*, 147, 2 : 264-267.
- McCORMICK (J. B.), GONZALEZ (J. P.), KILEY (P. M.), ELLIOT (L. H.) et MITCHELL (S. A.), 1982. — Current evidence for similarities and differences among african arenaviruses using oligonucleotide mapping and monoclonal antibody. 31st annual Meeting of the Am. Soc. of Trop. Med. and Hygiene, Nov. 7-11 1982, Cleveland, Ohio.
- MEEGAN (J. M.), DIGOUTTE (J. P.), PETERS (C. J.) et SHOPE (R. E.), 1983. — Monoclonal antibodies to identify Zinga virus as Rift Valley Fever virus. *Lancet*, March 19 : 641.
- PETRICEVIC (I.), BUNTIC (A.) et BEUS (I.), 1978. — Characteristics of hemorrhagic fever in the patients treated in the university hospital for infectious diseases, Zagreb, from 1964 to 1976. *Lij. vjes.*, 100 : 231 (résumé en anglais).
- PETTER (F.), 1977. — Les rats à mammelles multiples d'Afrique occidentale et centrale : *Mastomys erythroleucus* (Temminck, 1853) et *M. huberti* (Wroughton, 1908). *Mammalia*, 41 : 441-444.
- ROSEVEAR (D. R.), 1969. — The Rodents of West Africa. British Museum, London.
- SALUZZO (J. F.), GONZALEZ (J. P.), GEORGES (A. J.) et JOHNSON (K. M.), 1981. — Mise en évidence d'anticorps vis-à-vis du virus Marburg parmi les populations humaines du Sud-Est de la République centrafricaine. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 292 (III), 1 : 29-31.
- SHOPE (R. E.), MEEGAN (J. M.), PETERS (C. J.), TESH (R. B.) et TRAVASSOS DA ROSA (A. A.), 1981. — Immunologic Status of Rift Valley Fever Virus. in *Contribution to Epidemiology and Biostatistics : Rift Valley Fever*. Schwartz (T. A.), Klingberg (M. A.) and Goldblum (N.) edit., C. M. Papier, Tel-Aviv : 42-52.
- SILLANS (R.), 1958. — Les savanes d'Afrique Centrale. Encyclopédie biol., P. Lechevallier Édité., Paris.
- SMIRNOVA (S. E.), 1979. — A comparative study of the CHF-Congo group of viruses. *Arch. Virol.*, 62 : 134-143.
- SUREAU (J. P.), CORNET (J. P.), GERMAIN (M.), CAMICAS (J. L.) et ROBIN (Y.), 1976. — Enquête sur les arbovirus transmis par les tiques en République centrafricaine (1973-1974). Isolement des virus Dugbe, CHF-Congo, Jos et Bhanja. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 69 : 28-33.
- TSAI (T. F.), BAUER (S. P.), SASSO (D. R.), BRADFORD (H.), CARAWAY (C. T.), McFARLAND (L. M.), MEDRANO (O.) et SOULIE (G.), 1982. — Preliminary evidence that Hantaan or closely related virus is enzootic in domestic rodents. *New Engl. J. Med.*, 307, 10 : 623-624.
- VAN DER GROEN (G.), JOHNSON (K. M.), WEBB (P. A.), WULFF (H.) et LANGE (J. V.), 1978. — Results of Ebola Surveys in various populations groups, in *Ebola Virus Hemorrhagic Fever*, Pattyn (S. R.) edit. Elsevier, North-Holland Biomedical Press, Amsterdam : 203-208.
- WULFF (H.) et CONRAD (L. J.), 1977. — Marburg virus disease, in *Comparative Diagnosis of Viral Diseases*, Vol. II, Human and related viruses, part B, Kurstak (E.) and Kurstak C. edit., Academic Press, New York.
- WULFF (H.) et LANGE (J. V.), 1975. — Indirect immunofluorescence for the diagnosis of Lassa fever Infection. *Bull. W. H. O.*, 52 : 429-436.
- WULFF (H.), LANGE (J. V.) et WEBB (P. A.), 1978. — Interrelationships Among Arenavirus Measured by indirect Immunofluorescence. *Intervirology*, 9, 344-350.