688

RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE

(Période de Février 1984 à Octobre 1984)

par J.P.GONZALEZ

Docteur en Médecine
Chargé de Rechcerche à l'ORSTOM
Departement G, UR1

Bangui le 30 Octobre 1984

Fonds Documentaire ORSTOM
010019923

Fonds Documentaire ORSTOM
Cote : B*19923 Ex : unique

DOCUMENT COMMUNIQUE A :

- Pr Pierre SUREAU Directeur de Recherche
- Mr J. MOUCHET Parrain de Recherche
- Dr M. GERMAIN Chef du département G
- Mr J. COZ Président de la Commission Scientifique
- Mr M. CORNET Président de l'UR 501
- Mr Y. BOULVERT Directeur du Centre ORSTOM
- Dr A.J. GEORGES Directeur de l'Institut PASTEUR
- Bureau Commun des Commissions Scientifiques.

BG 0574/1

Nous avons rédigé récemment (Juin 83: Rapports de l'Institut Pasteur et Réunion du Groupe d'Etudes Virologique) une mise à jour de nos travaux qui présente en détail les résultats obtenus et les perpectives envisagées dans le Programme de Recherche sur les Fièvres Hémorragiques d'Origine Virale(FHAOV) en République Centrafricaine (RCA); Le présent rapport posèdera en annexe de larges extraits contenus dans les deux documents précités qui ont tout deux été communiqués dans leur intégrité aux personnes intéréssées par ces recherches.

1.ASPECTS GENERAUX

En affectattion comme virologue à l'Institut Pasteur de Bangui depuis Février 1984.

1.1. Programme de recherche principal: Les fièvres Hémorragiques d'Origine Virale en Afrique

La Fièvre de Lassa: Grâce à la somme de résultats accumulés pendant3 ans sur le terrain centrafricain puis pendant 3 ans dans un laboratoire des Centers for Disease Control aux Etats Unis, j'ai pu démontrer l'existence et l'unicité de groupe que présentaient les arénavirus d'Afrique. Plusieurs publications et réunions scientifiques m'ont permis de présenter ces résultats et de proposer la définition du "Complexe Lassa" pour un groupe nouveau des arénavirus d'Afrique par analogie au Complexe Tacaribe connuau Nouveau Monde (25,27,44,51). Les derniers résultats obtenus par analyse génétique des cartes des oligonucléotides de digestion des segments courts d'ARN de ces virus, apporte des éléments complémentaires dans cette thèse et devront être complétés ultérieurement par la technique d'hybridation d'ARN viraux interspécifique et/ou la séquence des extrémités 3'des brins d'ARNs.

Enfin, récemment le Dr Swanepoel d'Afrique du Sud a pu démontrer que des virus isolés en particulier au Sénégal et en Afrique Centrale inscrits au Catalpgue des Arbovirus et non classés jusqu'ici, étaient vraisemblablement des arénavirus. Le Dr Swanepoel a ainsi étudié de façon théorique les conditions d'isolement de nombreuses souches dites nouvelles puis les a testées avec des anticorps monoclonaux connus; enfin le Dr B.Shope du YARU a pu confirmer certains de ces résultats. Ces travaux sont actuellement en cours et nous ont été communiqués lors de la réunion de Sendai. Pour la RCAdeux virus semblent impliqués; Parmi eux, le virus Ippy apparait comme un arénavirus antigéniquement proche du virus Lassa mais distinct de celui-ci et du virus Mobala par l'usage d'anticorps monoclonaux. Des études sont en cours à l'Institut Pasteur de Bangui pour en préciser ces relations.

Des photomicrographies en microscopie électronique réalisées lors de mon affectation aux CDC, dont je n'ai pu réaliser l'étude que récemment, montrent des différences morphologiques portant sur les projections de surface de membrane entre les virus Mobala (Arenavirus de RCA cf.26) et Mopeia (Arenavirus du

Mozambique); ces études devraient être développées considérant que ces formations sont vraisemblablement les principaux antigènes spécifiques des souches, et étendues aux arenavirus nouveaux venus et actuellement en voie d'être caractérisés.

La Fièvre de la Vallée du Rift: Nous avons démontré depuis plusieurs années (Sérologie et isolements) l'aspect endémo-enzootique que pouvait revêtir cette affection en RCA. Mes premiers résultats sérologiques (1980) mettaient en évidence la circulation de ce virus dans les population humaine et animales; ces données étaient confirmées et augmentées à Fort Detrick (Dr C.J.Peters) par l'utilisation du test de séroneutralisation plus sensible et parfaitement spécifique.

Les nombreux résultats obtenus, et la circulation évidente du virus de la RVF en RCA nous ont alors amené à rechercher les mécanismes de circulation et de maintenance de ce virus dans le pays. Les bases de cette recherche ont été déterminées lors de mon séjour aux USA par une étude comparative des résultats obtenus et des travaux en cours entrepris par l'équipe de Fort Detrick (C.J.Peters et C.Bailey) principalement au Kenya et en Afrique du Sud; Pour cela nous nous sommes aidés de cartes conventionnelles et de photointerprétation concernant les biotopes recherchés.

De retour sur le terrain centrafricain j'ai pu mettre en évidence des zones intéressant ces études. En Février, Mars 84 une importante mission nous a conduit succesivement dans les départements de l'Ombella M'Poko puis de la Vakaga où de nombreux échantillons sérologiques humains ont été prélevées. Ces échantillons ont confirmé d'une part les observations antérieures, démontrant l'activité récente dans les classes d'âge jeunes du virus de la RVF et d'autre part nous ont fait mettre en évidence d'autres foyers actifs.

Enfin les mêmes échantillons sont aussi testés dans une sérologie fine afin de déterminer la part éventuelle d'activité des deux autres Phlébovirus de Centrafrique (Les virus Gordil et St. Floris). En ce qui concerne ces virus, des enquêtes antérieures ne nous ont pas permis jusqu'ici de mettre en évidence des sérologies humaines positives.

En raison des importantes migrations humaines de peuplades de pasteurs venant il y a 5 ans du Soudan et depuis 5 années venant du Tchad un aspect important de nos recherhes concerne le cheptel Bovin et les populations peuhles concernées.

La maladie de Marburg et la Maladie d'Ebola:

Une importante mission sur le terrain a eu lieu en Février -Mars 1984 qui nous a conduit de l'extrême Nord de la RCA (Birao) à la pointe Sud de ce pays (Bayanga), guidés sur ce terrain par les résultats de nos recherches antérieures. Cette mission avait été décidée à Washington en Décembre 1983 lors d'une rencontre USAMRIID/IPB/ORSTOM et devait inaugurer un programme de recherche commun sur l'épidémiologie des Filoviridae

Un vaste programme d'étude épidémiologique de ces virus vient pour la première fois en Afrique de l'Ouest et Centrale d'être mis au point en RCA. Il concerne de vastes zones parfaitement identifiées dans leur milieu physique et leur

écologie, avec des foci de prévalence en anticorps particulièrement intéressants. En Février Mars plusieurs missions rélisées selon un transect sensiblement Nord-Est/Sud-Ouest nous ont fait explorer trés précisément des zones de savanne au nord du pays (Vakaga) et des zones de forêt dense au Sud (Haute Sangha). Les résultats obtenus sont présentés pour l'essentiel dans le tableau suivant:

DISTRIBUTION OF FILOVIRUS IN THE CAR
(1984, CAR serosurvey; E.J.Johnson and coll.)

		antibody prevalence		
District	Village	No Pos.	No Tested	%
SANGHA	LIDJOMBO	17	163	10.4
	BAYANGA	10	97	10.3
	BABINGO	2	32	6.3
OMBELLA-MPOKO	BOZO	15	93	16.1
VAKAGA	TOUMOU	29	128	22.6
	AMARDJEDI	3	80	3.8
	SIKIKEDE	17	99	17.2

All specimen were initially screened at a 1/16 dilution on CRE2ML slides. All CRE2ML positive specimens reacting with EBO-S or MGB virus infected cells and negative on control cells at 1/&§ in a indirect FA test were considered positive for virus specific antibody.

Il en ressort que d'autres missions vont être nécessaires en particulier dans cette zone Nord du pays de façon à explorer complètement (Cartographie des villages, etudes démographiques, socio ethnologie,etc...) certains de ces villages à priori semblables par leur situation géographique et leur peuplement mais qui présentent des prévalence en anticorps anti Ebola significativement différentes (Vakaga).

Paralèllement à ces études des sondages constants sont menés dans les populations animales eten particulier, pour ces virus, sur les animaux domestiques.

Le virus Marburg tout aussi méconnu que le virus Ebola laisse des marques sérologiques beaucoup plus rares et rend ainsi son étude beaucoup plus difficile sur le terrain.

La Fièvre Hémorragique de Crimée-Congo: L'isolement récent d'une souche de virus CHF-Congo à partir d'un rongeur sauvage (Mastomys sp.) capturé dans le Nord Ouest du pays (Boheng), contitue un élément important dans ce chapitre des FHAOV. En effet si les isolements sont rares, celui-ci est le second en RCA aprés l'isolement du virus par Sureau et coll. en 1973 à partir d'une tique (Hyalomma nitidum) à Berbérati, et confirme ainsi la circulation de ce virus dans le pays. A

cela vient s'ajouter en 1980 l'observation de sérologie positives par IFI chez des spécimens de Mastomys sp. et des chiens capturés à Bouar.

A la faveur de ces résultats nous pensons d'une part poursuivre les tentatives d'isolement du virus chez les tiques sauvages, et d'autre part rechercher l'antigène viral directement sur les spécimens de tiques capturé en utilisant l'IFI et des anticorps monoclonaux. Cet aspect du programme reste en fait axé sur une surveillance plus que sur une investigation poussée. Un mission sera réalisée aux abattoirs de Berbérati à la fin du mois d'Octobre (Récolte de tiques, sérologie des bovidés).

La Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal:

Nous avons trouvé jusqu'ici, et pour la première fois en Afrique, 4 sérums de sujets centrafricains ayant des anticorps dirigés contre l'antigène du virus Hantaan par IFI (05). Ces sérums particulièrement intéressants ont pu être testés vis à vis de différentes souches du virus Hantaan et aussi dans la reaction de neutralisation par TDRP. Les résultats montrent, comme nous avons pu l'observer avec des sérums européens, que la réaction d'IFI donne une réponse croisée trés large avec différents antigènes (De Corée, Suéde, USA, Europe, URSS) sans variation notable de titre tandis que par le TRDP la réaction est spécifique des sérums homologues et donc négative avec les sérums africains en l'absence d'un isolat de même nature.

1.2 Programmes de recherches annexes:

Surveillance et sondages sérologiques pour les FHAOV au niveau du continent africain et en particulier dans des zones géographiques peu explorées par les divers service de santé:

. Au Boukila Fasso (Haute Volta) plusieurs enquêtes sérologiques nous ont permis de déterminer certaines zones de prévalence en anticorps contre les FH et de débuter quelques sondages spécifiques en particulier pour la Fièvre de Lassa à Ouagadougou (06,50).

. Au Bénin une prévalence importante en anticorps anti-Hantaan (virus respponsable des Fièvres Hémorragiques avec Syndrome Rénal) a pu être mise en évidence dans la région de Porto Novo (05). L'importance de ces résultats nécessiterait une mission spécifique dans cette région pour confirmer ces données, capturer des rongeurs et réaliser des enquêtes cliniques au niveau de différents centres de santé. En effet l'importance grandissante de ce groupe Hantaan nécessite aujourd'hui un effort au niveau planétaire pour en saisir l'épidémiologie vraisemblablement complexe et les tableaux cliniques variés

. En Ouganda des enquêtes préliminaires sont particulèrement intéressantes puisqu'elle concernent un foyer africain de la maladie de Marburg. Ce travail est actuellement dans sa phase d'étude au laboratoire.

Monkey Pox: Nous avons été sollicité par l'OMS pour participer en RCA à cet intéressant secteur de recherche Drs

Kodakevich et Widy Wirsky). En effet plusieurs cas de Monkey pox ont été démontrés chez les pygmés de la partie sud du pays et nous avons décidé en commun d'intéger la surveillance et le dépistage du Monkey Pox dans nos études de terrain concernant le virus Ebola en zone forestière. Déja nos enquêtes du premier semestre nous ont permis de contrôler les cas observés plusieurs semainesprécédemment par l'équipe OMS , de les reprélever pour en suivre l'évolution des anticorps (Dr Nakano-CDC),et noter l'évolution clinique de la maladie; Au cours de la même mission nous avons pu mettre en évidence un nouveau cas mais ne représentant sans doute pas un cas secondaire ce qui serait alors d'une importance épidémiologique considérable.

1.3. Informatique et programmes:

. La totalité de nos publications, notes, rapports et courrier sont enregistrés sur ordinateur IBM PC en utilisant deux logiciel de traitement de texte (EW et Multimate).

. Un important programme a été mis au point (P.Blondin et J.P.Gonzalez) et sert à la saisie de l'ensemble des données sérologiques obtenues par notre laboratoire. Ce logiciel a été conçu de façon a pouvoir être exploitable par divers logiciels de traitement (tabulation, stastique...).

. Un programme de traitement statisque a été réalisée pour exploiter les résultats d'une vaste enquête d'étude comparative de tests à la tuberculine (P.Blondin et J.P.Gonzalez).

. D' autres logiciels sont en cours de réalisation d'une part pour la saisie de données concernant des observations physiques de terrain et d'autre part pour tenter l'établissement de clés taxonomiques.

1.4. Méthodologie:

.Le programme de recherche sur les Fièvres Hémorragiques est dans une phase trés avancée qui a pu être atteinte grâce aux 5 années passées; Sur ce sujet des Fiévres Hémorragiques en Afrique c'est sans doute un des rares programmes de recherche les plus avancés dont les moyens en peronnel et en matériel ne devraient que se développer dans les années à venir. La sérologie de routine pour la surveillance des FH est réalisée dans le service de sérologie et diagnostic biologique de l'Institut Pasteur. Un réseau de surveillance et de recherche des cas humains de FH à été établi en particulier avec les deux principaux hôpitaux de RCA (Bangui, Bouar). Enfin, la mise en fonctionnement du laboratoire de haute sécurité dés avant la fin de cette année devrait nous permettre de traiter un matériel destiné à l'isolement de ces virus hautement infectieux (Prélèvements humains et organes de rongeurs); De plus, la mise en route de ce laboratoire nous permettra de préparer des cellules infectées avec différentes souches de virus pour développer nos recherches sur les parentés antigéniques et donner une parfaite autonomie au laboratoire.

Bien entendu la collaboration entreprise depuis plusieurs années avec les CDC et récemment avec l'USAMRIID doit se

développer et devenir de plus en plus efficace.

.L'établissement de ce support logistique de laboratoire devrait nous faire intensifier nos missions sur le terrain qui devraient augmenter de 25% du temps d'occupation actuel à 50% dans le premier semestre 1985.

. L'acquisition d'un Ordinateur pour le laboratoire devrait nous donner l'efficacitée souhaitée dans le traitement rapide des données que nous accumulons quotidiennement.

1.5. Retombées des recherches

Les travaux menés sur les Arénavirus d'Afrique, tant sur le terrain qu'au laboratoire m'ont permis de proposer un travail original avec le "Complexe Lassa" et le soutenir comme thèse de Doctorat d'Etat es Sciences devant l'Université de Clermont Ferrand (Décembre 1984).

L'isolement du virus Mobala et les nombreux sondages antigéniques réalisés nous ont permis de proposer ce virus comme un éventuel candidat pour la fabrication d'un vaccin contre la Fièvre de Lassa.

1.6. Collaborations:

Peu de laboratoires au Monde travaillent sur ce sujet des Fièvres Hémorragiques d'Origine Virale, aussi et comme la pluspart de nos confrères étrangers nous avons voulu préserver le caractère international de nos recherches; Les principaux centres collaborateurs sont la Spécial Pathogens Branch des Centers for Disease Control (Dr J.B.McCormick) et le Medical Research Institute of Infectious Disease (Dr C.J.Peters) aux USA, l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (Dr G.Van Der Groen), Tokio University (Drs Kitamura et T.Kurata), Special Pathogens Branch in Johannesburg (Dr Swanapoel), Institut Pasteur de Paris (Pr P.Sureau)

Le Centre ORSTOM de Bangui en la personne de Y.Boulvert devrait nous être une aide précieuse dans toutes nos études épidémiologiques dans la connaissance du milieu physique centrafricain.

Participation à des colloques:

Deux importantes réunions ont marqué 1983 et 1984:

Meeting on the replication of negative strand virus; Hilton Head Island N.C.,USA : j'ai pu présenter pour la première fois les études analytiques et les hypothèses formulées sur le groupe des arénavirus d'Afrique.

Le VIéme Congrés International de Virologie, Sendai,Japon: La présentation du complexe Lassa a été développée. Les résultats de 5 années de surveillance séro-épidémiologique sur les FHAOV en RCA ont été présentés. Le bilan de plusieurs années d'isolement de souches humaines d'arbovirusà été communiqué. Enfin hors séance nous avons pu présenté nos premières conclusions sur la présence en Afrique d'un bunyaviridae proche du virus Hantaan.

1.7. BIBLIOGRAPHIE

1 - Publications scientifiques:

1983

23 - DOURNON E., BRION E., GONZALEZ J.P. and McCORMICK J.B. 1983: More on Hemorragic Fever with renal syndrome in France. Lancet. II, 1419.

24 - GEORGES A.J., ABDUL-WAHID S.A., MEUNIER D.Y.M., GEORGES M.C., SALUZZO J.F., PETERS C.J., McCORMICK J.B. and GONZALEZ J.P. 1983: Serological equivalence of endemic Zinga Virus and Rift Fever Virus in the Central African Republic. Lancet, June 11: 1338.

25 - GONZALEZ J.P., BUCHMEIER M.C., McCORMICK J.B. and KILEY M.P. 1983: Comparative analysis of several Lassa-Like arenavirus isolated from Africa. In "Negative strand virus" (DHL Bishop and RW Compans edit.) ElsevierNorth Holland, New York.

26 - GONZALEZ J.P., McCORMICK J.B., HERVE J.P., JOHNSON K.M. and GEORGES A.J. 1983: An arenavirus isolated from wild-caught Rodents in the Central African Republic. Intervirology , 19 (2): 105-112.

27 - GONZALEZ J.P., McCORMICK J.B., SALUZZO J.F. et GEORGES A.J. 1983: Les fièvres hémorragiques africaines d'Origine virale en République Centrafricaine. Cah.ORSTOM.Ser.Ent.Méd. et Parasit., XXI,(2): 119-130.

28 - MERY J.P., DARD S., CHAMOUARD J.M., DOURNO E., BRICAIRE F., VAHERI A., BRUMMER-KORVENKONTIO M., GONZALEZ J.P. and McCORMICK J.B. 1983: Muroid Virus Nephropathies. Lancet 11, 845-846.

29 - SALUZZO J.F., GERMAIN M., HUARD M., ROBIN Y., GONZALEZ J.P., HERVE J.P., GEORGES A.J., HEME E. et DIGOUTTE J.P. 1983: Le virus Bozo (Arb7343): Un nouvel arbovirus du groupe Bunyamwera isolé en République Centrafricaine.Sa transmission expérimentale par Aedes aegypti. Ann. Virol. Inst.Pasteur. 134E: 221-232.

1984

30 - DOURNON E., MORINIERE B., MATHERON S., GIRARD P.M., GONZALEZ J.P., HIRSH F., McCORMICK J.B. 1984: HFRS after a wild rodent bite in the Haute-Savoie - A risk of exposure to Hantaan like virus in a Paris laboratory. Lancet, Mars 24 : 676-677.

31 - GEORGES A.J., GONZALEZ J.P., ABDUL-WAHID S., SALUZZO J.F., MEUNIER D.M.Y. and McCORMICK J.B. 1984: Lassa and Lassa-Like viruses antibodies in man and mammals in the Central African Republic. Trans. of Roy.Soc.Trop.Med.Hyg. (accepted).

32 - GONZALEZ J.P., DU SAUSSAY D.,GAUTUN J.C., McCORMICK J.B. et MOUCHET J. 1984: Manifestations à caractère épidémique et saisonnier de la Dengue à Ouagadougou. Bull.Soc.Pathol.Exot.

33 -GONZALEZ J.P., McCORMICK J.B., GEORGES A.J. and KILEY M.P. 1984: Mobala Virus: Biological and Physico-chemicals properties of a new arenavirus isolated in the Central African Republic. Ann.Virol.Inst.Pasteur, 135 E:

34 - MERY J.P., DARD S., CHAMOUARD J.M.,DOURNON E., BRICAIRE F., VAHERI A., BRUMMER-KORVENKONTIO M., GONZALEZ J.P. and McCORMICK J.B. 1984: Fièvre Hémorragique avec syndrome rénal en France. Lancet, ii: 845-846.

Soumis pour publication:

01 - GEORGES A.J., ABDUL-WAHID S., GONZALEZ J.P., SALUZZO J.F., DUSSARAT G.V., MEUNIER D.M.Y. and GEORGES-COURBOT M.C. 1984: Arboviruses in the Central African Republic. Incidence and diagnosis in man. Am.J.Trop.Med. (submitted).

02 - GEORGES A.J., LESBORDES J.L., ABDUL-WAHID S., RAVISSE P., MEUNIER D.M.Y., BEUZIT Y. and GONZALEZ J.P. 1984: Isolation of West-Nile virus from liver biopsies of three patients with severe hepatic failure. Lancet.(submitted).

03 - GEORGES-COURBOT M.C., GONZALEZ J.P., MEUNIER D.M.Y., GEORGES A.J.: Incidence et Electrophoretypes des Rotavirus chez l'enfant en République Centrafricaine. Bull.Soc.Pathol.Exot. (Submitted).

04 - GONZALEZ J.P., FISET P., SALUZZO J.F., GEORGES A.J. et WISSEMANN Jr. C.L. 1984: Approche sérologique sur l'incidence des Richettsioses en République Centrafricaine. Ann.Virol. (Institut Pasteur) - (Soumis).

05 - GONZALEZ J.P., McCORMICK J.B., BAUDON D., GAUTUN J.P., MEUNIER D.Y., DOURNON E. et GEORGES A.J. 1984: Serological evidences suggesting the presence of Hantaan virus related in Africa. Lancet. (Soumis).

06 - GONZALEZ J.P., BAUDON D. and McCORMICK J.B. 1984.First serological data on viral african haemorrhagic fever obtained in human populations from Bourkina Fasso (Upper Volta) and Benin.Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg.(Submitted).

07 - SANCHEZ A., ELLIOTT L.H., McCORMICK J.B., GONZALEZ J.P. and KILEY M.P. 1984: An anti Ebola virus monoclonal antibody cross-reacts with Marburg Virus antigen. Lancet (soumis)

2 - Communications scientifiques, Rapports et Documents

1983

43 - GONZALEZ J.P. (Mars 1983): Prélèvement et traitement des produits biologiques issus de malades suspects de Fièvre Hémorragique et destinés à l'analyse de laboratoire. (Doc. dactyl., CDC), pp. 2.

44 - GONZALEZ J.P., BUCHMEIER M.J., McCORMICK J.B., MITCHEL S.H., HELIOTT L.E. and KILEY M.P. 1983: Comparative analysis of several Lassa-like arenavirus isolates from Africa. 15me Réunion de l'Ame.Soc.Hyg.Trop.Med., Ken.Univ., USA.

45 - GONZALEZ J.P., McCORMICK J.B., SAUSSAY D. and GAUTUN J.C. 1983: Report from the Special Pathogens Branch, Virology Division, Center for Disease Control-Human serologic evidence of epidemic Dengue Virus in Upper Volta, isolation of two strain of Dengue 2 Virus. In Arth.B.V. Inf. Ex., 44, 166.

46 - MEUNIER D.M.Y., GEORGES-COURBOT M.C., GONZALEZ J.P., SALUZZO J.F. and GEORGES A.J. 1983: Report from the Pasteur Institut of Bangui: Biological Diagnosis and considerations on epidemiology of rabies virus in CAR. In Rabies Ex., Jan. 31.

1984

47 - DOURNON E., MORINIERE B., GIRARD P.M., GONZALEZ J.P. and McCORMICK J.B. 1984: Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome in France. Abstract in XIth International Congress for Tropical Medecine and Malaria. Calgary, CANADA.

48 - DOURNON E., MORINIERE B., GIRARD P.M., GONZALEZ J.P., LALLEMENT P.Y., KALOUSTIAN E., SCHLEMMER B., BOUVERT E. 1984: Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, France. MMWR, May 4, pp. 228.

49 - GEORGES A.J., ABDUL-WAHID S., SALUZZO J.F., DUSSARAT G., MEUNIER D.M.Y., GEORGES M.C. and GONZALEZ J.P. 1984 : Arboviruses in the Central African Republic: Incidence and diagnosis in man. Sixth International Congress of Virology, Sendai, Japan; Abstract T 28.

50 - GONZALEZ J.P., BAUDON D. et McCORMICK J.B. 1984 : Fièvres hémorragiques en Haute-Volta et au Bénin: Premières enquêtes sérologiques. Bull.OCCGE.

51 - GONZALEZ J.P., GEORGES A.J., McCORMICK J.B. and KILEY M.P. 1984: Biological and Physico-Chemical Charateristics of several Lassa and Lassa related African arenaviruses. Sixth International Congress of Virology, Sendai, Japan; Abstract T 27.

2. Adéquation des moyens affectés

2.1. Personnel: Sur les anciennes strucures du laboratoire d'entomologie à l'Institut Pasteur de Bangui, je suis la seule personne qualifiée sur le programme de Fièvres Hémorragiques pour l'ORSTOM; je gère le laboratoire, réalise les tournées et missions de terrain, travaille comme technicien au laboratoire, collige les données et les saisies sur ordinateur, fait 75% du travail de secrétariat nécessaire aux publications, rapports et courrier, la part restante est prise en charge par le Centre.

2.2. Budget:

Le budget 1984 aura été juste équilibré en raison de ma prise de fonction en Février seulement et de la mise en place d'une partie de travail débutante.

Le budget 1985 a été établi de façon réaliste et parfaitement étudié selon un plan comptable précis, toute réduction qui ne pourra alors qu'être arbitraire de ce budjet aura une conséquence immédiate sur le déroulement d'un ou plusieurs secteurs du programme de recherche sur les Fièvres Hémorragiques.

2.3. Equipement

Les demandes d'équipement pour l'année 1985 se présente ainsi par ordre d'urgence des matériels, mais tous restent indispensable:

Un ordinateur
Un congélateur à -70°C
Un véhicule adapté au terrain et aux types de missions
Renouvellement du matériel de tournées

2.4. Structures

Locaux et laboratoires entièrement fournis par l'Institut Pasteur de Bangui.

L'insectarium de l'ORSTOM à l'Institut Pasteur de Bangui est devenu totalement inutilisable en raison de l'absence d'entretient (Crédits).

La station expérimentale de Bozo est toujours fonctionnelle et constitue un de nos points de recherche sur la RVF.

2.5. Administration: un secrétariat propre au laboratoire d'écologie virale de l'Orstom devrait être crée en raison de la gestion de trés nombreuses données informatisée dont la saisie occupe le chercheur pour 10 à 30% de son temps selon les

expériences en cours. La création d'un poste de secrétaire permettrait en outre la rédaction de notes d'information scientifique et de rapports plus conséquents, le développement de nouveau moyen informatique impossible jusqu'ici en raison du temps d'occupation du chercheur; ce sont par exemple l'informatisation des clés taxonomiques (Tiques, Rongeurs, Poissons, Moustiques, etc...) spécifiques de ce pays.

ANNEXE

Extrait du Rapport Bisannuel sur le Fonctionnement de l'Institut Pasteur de Bangui 1983-1984.

EPIDEMIOLOGIE DES FIEVRES HEMORRAGIQUES AFRICAINES D'ORIGINE VIRALE.

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'un génie 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 maladie d'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 semble jusqu'ici n'épargner que l'Océanie. 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.

Les FH se distinguent des Dengues et de la Fièvre Jaune, pouvant être responsables de syndrome hémorragique, par plusieurs points: Elles n'ont été pour la plupart découvertes et étudiées que récemment; Il n'existe pas de vaccin ni de thérapeutique efficace utilisables exception faite de l'unique traitement par plasma hyperimmun dans la FH d'Argentine. Les agents infectieux mis en cause font partie des entités de classe 4 présentant pour l'Homme un risque biologique intrinsèque actuellement incontrôlable. Aussi 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 ont provoqué un intérêt accru pour l'étude de ces maladies, des équipes de terrain spécialisées dans la surveillance et l'étude de ces affections ont été créées et une collaboration s'est engagée avec des laboratoires conçus pour l'isolement et l'étude de ces agents hautements pathogènes.

Le choix Centrafricain, pour l'étude de ces virus, a été guidé par la situation enclavée de la République Centrafricaine (RCA) au centre géographique des épidémies retoutables de la maladie d'Ebola.

Le programme de recherche sur les Fièvres Hémorragiques d'Origine Virale (FHAOV) qui avait timidement débuté en Rca en 1979, s'est rapidement développé et grâce aux résultats obtenus des perspectives nouvelles de recherche ont pu être envisagées.

Dés le début une collaboration s'était établie entre les Centers for Disease Control (Etats Unis), l'Institut Pasteur et l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer. Puis plus récemment sont venus s'ajouter les concours de

l'Organisation Mondiale de la Santé et de l'USA Medical Research Institut of Infectious Disease. Le principe en était la mise en évidence dans les populations humaines d'éventuelles marques sérologiques pouvant être rapportées à tel ou tel virus responsable de FH. Puis ces études étaient étendues dans des zones phytogéographiques et des écosystèmes définis aux populations animales et domestiques.

C'est en RCA que pour la première fois en Afrique des enquêtes exhaustives sur la prévalence en anticorps contre les FHAOV ont été menées. En plus de quatre années une somme importante de données a été collectée et a permis un début d'interprétation de la circulation et de la répartition de certains de ces virus. Ce territoire centrafricain est aujourd'hui un des mieux documenté et exploré sur le continent en ce qui concerne les virus étudiés.

Les difficultés d'une telle entreprise qui avaient été exprimées dans ce même rapport en 1982, ont pu être partiellement dominées et nous avons pu alimenter de résultats conséquents les secteurs d'étude que nous nous étions fixés. L'Institut Pasteur qui a disposé dés cette année d'isolateurs flexibles de type Vickers, est en train de terminer de s'équiper afin de pouvoir manipuler surplace ces virus dans les conditions de sécurité requises.

Les méthodes utilisées dans les différents instituts collaborateurs ont été décrites par nous ou nos confrères dans les diverses publications issues de ces travaux. Nous avons choisi de présenter les différents virus par groupe d'intérêt en exposant successivement et brièvement les buts recherchés, les résultats obtenus les plus récents et les perspectives qui en découlent; Ainsi seront analysés successivement :

1. Le Groupe Phlebovirus
2. La Fièvre de Lassa et les arenavirus d'Afrique
3. La Maladie d'Ebola
4. La Maladie de Marburg
5. La Fièvre Hémorragique de Crimée-Congo
6. La Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal

Avant de rapporter les résultats obtenus il nous faut souligner la qualité de la collaboration établie avec le Dr J.B.McCORMICK, chef des Agents Pathogènes Spécaiaux de la division de Virologie (CDC) et son prédécesseur le Dr K.M.JONHSON sans le concours desquels ce travail n'aurait jamais pu se rélaliser.

1.LE GROUPE PHLEBOVIRUS:

Seul jusqu'ici le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift (RVF) avait retenu notre attention et ce en relation directe avec les FHAOV. Dés 1980 nous démontrions la circulation du RVFV dans les populations humaines de RCA. Cela été réalisé en utilisant la technique d'Immunofluorescence Indirecte (IFI)et conforté par l'utilisation du Test de Réduction des Plages (TDRP) et du test ELISA .

Pour confirmer nos observations, venait s'ajouter en 1983 les recherches de Meegan et coll. identifiant comme RVFV le virus "Zinga" anciennement isolé en RCA et alors non reconnu comme tel. Nous avons pu aisément en utilisant des sérums humains centrafricains démontrer la parfaite corrélation de réponse en titre d'anticorps contre une souche RVFV du Pakistan et une souche du virus "Zinga" (AJG et coll., Lancet, 1983, June 11, 1338).

Ces résultats importants obtenus par IFI et généralement confirmés par TDRP nous ont incité à comparer la sensibilité d'une methode par rapport à l'autre. Si le test d'IFI donne une parfaite spécificité pour des titre de 16 et supérieurs il demeure peu sensible et le TDRP nous donne pour les mêmes zones explorées une prévalence en anticorps supérieure.

Au point de vue enzootique et en nous basant sur les travaux de Maurice et Provost en RCA, nous avons pu identifier deux cheptels ovins contaminés et débuter ainsi une étude longitudinale de ces échantillons.

L'importance relative de l'endémie RVF et la présence d'autres virus du même groupe en RCA, nous a poussés d'une part à rechercher d'éventuelles réactions croisées et d'autre part à rechercher l'activité des virus Gordil et Saint Floris dans leurs zones d'origine. En effet il a été démontré au laboratoire la possibilité de réassortiment de segments d'ARN entre Plébovirus de souches et d'espèces différentes (R.Shope, comm.pers.). Sur le terrain, la souche Saint Floris a été isolée du même spécimen de rongeur qu'une souche Gordil en RCA, l'hypothèse d'un réassortimant in natura apparaît dés lors très vraisemblable. Sans pour cela être une préoccupation majeure dans notre programme, cette intéressante observation reste présente dans nos démarches et déja des prélèvements de choix (géographique) sont à l'étude.

2. LA FIEVRE DE LASSA ET LES ARENAVIRUS D'AFRIQUE:

En 1983, nous nous sommes particulièrement intéressés à tenter de démontrer l'existence d'un complexe viral constitué par les arenavirus africains; De plus le virus Mobala (Arenavirus isolé de RCA, JPG et coll.) a été spécialement étudié tant au laboratoire que sur le terrain.

L'approche systématique des arenavirus africains comme entité taxonomique, s'est faite sur des souches virales clonées des virus Lassa de Sierra Leone, Mopeia du Mozambique et Mobala de RCA. Les méthodes d'analyse utilisées ont été multiples et variées. L'étude de la réplication de ces virus en cultures cellulaires et l'établissement de leur courbe de croissance en vue de leur marquage, concentration et purification .

La sérologie comparative par IFI a été pratiquée en utilisant différentes souches provenant de divers isolats géographiques d'arenavirus africain et aussi le virus de la Chorio-Méningite Lymphocytaire (CML) de la Souris et enfin les souches représentatives des arenavirus du Groupe Tacaribe; Des sérums homologues et hétérologues ont été testés contre les différents antigènes viraux et ces derniers testés contre des

immunes ascites de souris. L'étude de l'antigénicité des souches clonées a été poursuivie par l'utilisation d'anticorps monoclonaux, puis aprés résolution et identification des proteines de structure par Electrophorèse sur Gel de Polyacrylamide (PAGE). L'exploration des sites antigéniques de ces proteines a été pratiquée par l'utilisation de l'immunoprécipitation combinée à un marquage par isotope radioactif (S35) puis une électrophorèse (PAGE); La réaction de précipitation mettait en jeu les proteines virales purifiées et une batterie d'anticorps monoclonaux préparés contre des souches Lassa, Mopéia et LMC. En collaboration avec la Scripp Clinic (DrM.Buchmeir.USACal.) des cartes oligopeptidiques de digestion des Nucleoproteines et de la Glycoproteine2 des 3 souches ont été obtenues.

Les proteines ont été obtenues d'une part à partir du virus purifié en gradient de centrifugation (Proteines virales) et d'autre part par extraction du cytosol de cellules infectées (Proteines intracellulaires)

Une étape importante centrée sur l'étude des ARN viraux nous a amené de façon progressive à dresser la carte des oliginucleotides de digestion par la RNase T1 (ou Finger Print:FP) de l'ARN total de ces souches clonées et d'autres souches sauvages d'origines différentes, puis aprés résolution des 4 espéces d'ARN contenus dans les particules virales , préparer les FP du sARN codant pour les proteines de structure (résultats en cours d'analyse). Ce matériel devrait nous permettre de réaliser la séquence de l'extrémité 3'de ces sARN.

Nous avons pu mettre en évidence une prévalence en anticorps humains anti Mobala supérieure, dans les populations explorées, à celle rencontrée pour le virus Lassa en RCA, cette observation pose la question de l'éventuelle pathogénicité du virus Mobala pour l'Homme. Nous avons débuté l'étude de la pathogénicité de ce virus en utilisant la souris blanche (Swiss CDC) comme modèle animal . On a pu noter aprés inoculation de ces différentes souches au souriceau nouveau né, un état de porteur sain des survivants avec excrétion de virus dans les urines jusqu'à 5 semaines aprés inoculation pour les 3 virus. Des expérience trés préliminaires semblent montrer le passage à la descendance (3 générations au moins)mais le mécanisme n'en n'est pas encore élucidé. Enfin la pathologie comparée des virus LAS,MOP et MOB sur le singe rhésus montre des réponses trés hétérogènes selon les souches (P.Jarlhing, comm.pers.).
Ainsi le virus Mobala se place aussi bien géographiquement que biologiquement entre au Nord-Ouest, le virus de Lassa hautement pathogène pour l'Homme, et en Afrique de l'Est le virus Mopeia pour lequel aucune prévalence en anticorps humains n'a été décelée.

3. LA MALADIE D'EBOLA:

En raison de la difficulté d'interprétation des fortes prévalences en anticorps trouvées en particulier dans diverse régions d'Afrique, les études de terrain avaient été quelque peu

délaissée pour la recherche de laboratoire sur la spécificité des tests employés. Nous avons donc réalisé à partir des sérums positifs de RCA des analyses sérologiques fines (Sérologie IFI par l'utilisation de divers antigènes, Radio Immuno Essai, Immunoprécipitation avec électrophorèse en gel de Polyacrylamide, Western Block Transfert) qui tendent à montrer dans le cas de titres élevés en anticorps fluorescents une réaction spécifique vis à vis de ce que l'on devra oeut- être appeler le "Groupe Ebola". Une observation intéressante à pu être faite en comparant nos résultats à ceux en particulier de l'USAMRIID qui tend à montrer si l'on fait le rapport des prévalences en anticorps humains vis à vis du virus Ebola Souche Soudan et du virus Ebola Souche Zaire, une inversion logique du rapport sur un transect Nord Sud (J.Meegan, comm.pers.). Comme pour les arenavirus, la RCA semble se trouver dans une situation intermédiaire particulièrement intéressante par l'existence de souche originale ou la venue de ses population au contact des Virus Ebola "Zaire" et Ebola "Soudan" pour lesquels il a été clairement démontré des différences tant dans leur antigénicité que dans leur pathogénicité pour l'Homme.

De retour sur le terrain centrafricain, l'observation de prévalence en anticorps élevée dans certaines zones et faible ou nulle dans d'autres nous a incité à étudier de façon horizontale de petits villages représentatifs de paysages bien définis. Des écosystèmes trés différents ont été sondés et leur surveillance mise en route. Récemment, nous avons pu déceler qu'au - delà du macroenvironnement phytogéographique, des écosystèmes limités (Situation géographique, ethnies) et proches pouvaient montrer une prévalence en anticorps trés différente .

4.LA MALADIE DE MARBURG:

Du point de vue épidémiologique, l'essentiel pour ces dernières années vient de l'isolement de souches humaines à partir de cas observés à Nairobi en 1980. Ces isolements constituent la troisième manifestation connue à caractère épidémique du virus Marburg, toutefois l'enquête sur le terrain n'a pas pu apporter d'éléments nouveaux en rapports avec la circulation du virus au Kenya (B.Johson,comm.pers.).

Le maintien du virus dans le milieu naturel reste totalement inconnu. La RCA est un des rares pays où ont pu être mises en évidence des marques sérologiques laissant envisager la possible circulation de ce virus dans la nature. Nous pensons à l'avenir focaliser nos recherches,sur la base des résultats sérologiques acquis , dans des zones et chez des populations bien sélectionnées et en étudier plus particulièrement l'ensemble des animaux domestiques.

5. LA FIEVRE HEMORRAGIQUE DE CRIMEE-CONGO:

L'isolement récent d'une souche de virus CHF-Congo à partir d'un rongeur sauvage (Mastomys sp.) capturé dans le Nord Ouest du pays (Boheng), contitue un élément important dans ce chapitre des FHAOV. En effet si les isolements sont rares celui ci est le second en RCA aprés l'isolement du virus par Sureau et coll. en

1973 à partir d'une tique (Hyalomma nitidum) à Berbérati, et confirme ainsi la circulation de ce virus dans le pays. A cela vient s'ajouter en 1980 l'observation de sérologies positives par IFI chez des spécimens de Mastomys sp. et des chiens capturés à Bouar.

Certains auteurs considèrent comme de caractère bénin l'affection entrainée par le virus CHF-Congo en région Afro-tropicale. Toutefois le récent cas mortel survenu chez un enfant de 13 ans en république d'Afrique du Sud (Andronikou S. et coll. Fev.1981) et parfaitement bien documenté, se doit de nous garder en alerte contre ce virus. En effet ce cas qui intervient dans une zone non endémique fait apparaître une tique du genre Hyalomma comme vecteur.

En RCA les isolements de virus, la présence des vecteurs potentiels (arthropodes dontle genreHyalommaest particulièrement lié aux manifestations graves de la maladie en URSS), et le réservoir que pourrait eventuellement constituer le rongeur péridomestique du genre Mastomys sont autant d'éléments favorables à la circulation du virus CHFC et de son risque potentiel en santé humaine.

A la faveur de ces résultats nous pensons d'une part poursuivre les tentatives d'isolement du virus chez les tiques sauvages, et d'autre part rechercher l'antigène viral directement sur les spécimens de tiques capturé en utilisant l'IFI et des anticorps monoclonaux. Cet aspect du programme reste en fait axé sur une surveillance plus que sur une investigation poussée.

6. LA FIEVRE HEMORRAGIQUE AVEC SYNDROME RENAL (HFRS):

Récemment un groupe de travail réuni par l'OMS a recommandé l'utilisation du terme HFRS afin de réunir un ensemble d'observations cliniques et épidémiologiques apparemment distinctes; Le lien était fait par la mise en évidence d'agents infectieux ou de cicatrices sérologiques identifiables ou apparentés antigéniquement au Virus Hantaan responsable de la Fièvre Hémorragique de Corée.

Nous avons trouvé jusqu'ici, et pour la première fois en Afrique, 4 sérums de sujets centrafricains ayant des anticorps dirigés contre le virus Hantaan par IFI. Ces sérums particulièrement intéressants ont pu être testés vis à vis de différentes souches du virus Hantaan et aussi dans la reaction de neutralisation par TDRP. Les résultats montrent, comme nous avons pu l'observer avec des sérums européens, que la réaction d'IFI donne une réponse croisée très large avec différents antigènes (De Corée, Suède, USA, Europe, URSS) sans variation notable de titre tandis que par le TRDP la réaction est spécifique des sérums homologues et donc négative avec les sérums africains en l'absence d'un isolat de même nature.

Ces quelques résultats bien que modestes mais avec des titres en anticorps relativements élevés (16 à 256) nous ont incités à tester dans le même but une collection de sérums de Haute Volta (Dr D.Baudon). Cette fois les résultats sont très prometteurs et montrent clairement des zones phytogéographiques

préférentielles. Ces résultats sont aujourd'hui à l'étude pour définir un éventuel cadre d'endémie d'un virus apparenté au virus Hantaan en Afrique. En fait cela n'est pas pour nous surprendre car ce type de virus semble s'étendre à tout le globe. Récemment nous avons pu démontrer l'existence d'une affection de type Néphropathie Epidémique en France dans laquelle une réponse en anticorps spécifiques du "Groupe" a pu être démontrée (E.Dournon, J.P.Gonzalez et coll.).Enfin nous possédons aujourd'hui plus de 15 observations en France avec un diagnostic clinique et biologique, le rongeur Clethrionomys glaerolus pourrait être le réservoir potentiel, au moins dans le centre de la France (J.P.G. et coll.).