

Année 2017

**ESSAIS D'ÉVALUATION DU RISQUE
ZONOTIQUE ASSOCIÉ AUX VIRUS EBOLA À
TRAVERS LES DONNÉES DU TERRAIN,
EXPÉRIMENTALES ET DE MODÉLISATION**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le 12 Juillet 2017

par

Chloé DURAND

Née le 28 avril 1992 à Lyon 7ème (Rhône)

JURY

Président : Pr. Françoise BOTTEREL

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Mme Nadia HADDAD-HOANG-XUAN

**Professeur à l'unité d'enseignement des maladies réglementées, zoonoses et
épidémiologie à l'ENVA**

Assesseur : Mme Sophie LE PODER

**Maître de conférences de l'unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie à
l'ENVA**

Liste des membres du corps enseignant

Directeur, par intérim : M. le Professeur Degueurce Christophe

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : Cotard Jean-Pierre, Mialot Jean-Paul, Moraillon Robert, Parodi André-Laurent, Pilet Charles, Toma Bernard.

Professeurs émérites : Mme et MM. : Bénét Jean-Jacques, Chermette René, Combrisson Hélène, Courreau Jean-François, Deputte Bertrand, Niebauer Gert, Paragon Bernard, Pouchelon Jean-Louis.

Département d'élevage et de pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique de cardiologie - Pr Chetboul Valérie* - Dr Gkouni Vassiliki, Praticien hospitalier</p> <p>Unité pédagogique de clinique équine - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Maître de conférences contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier * - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier</p> <p>Unité pédagogique de médecine interne - Dr Benchekroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane Maître de conférence contractuel - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guéneq Christelle, Maître de conférences</p> <p>Discipline : imagerie médicale - Dr Stambouli Fouzia, Praticien hospitalier</p>	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport - Dr Cléro Delphine, Maître de conférences - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale - Pr Fayolle Pascal - Dr Mailhac Jean-Marie, Maître de conférences - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Moissonnier Pierre - Pr Viateau-Duval Véronique*</p> <p>Discipline : anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs - Dr Zilberstein Luca, Maître de conférences</p> <p>Discipline : ophtalmologie - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</p> <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier</p>
---	---

Département des Productions Animales et de la Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments - Pr Augustin Jean-Christophe - Dr Bolnot François, Maître de conférences * - Pr Carlier Vincent</p> <p>Unité pédagogique de maladies règlementées, zoonoses et épidémiologie - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Praud Anne, Maître de conférences - Dr Rivière Julie, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production - Pr Adjou Karim* - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences - Pr Millemann Yves - Dr Ravary-Plumioën Béangère, Maître de conférences - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier</p>	<p>Unité pédagogique de reproduction animale - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr El Bay Sarah, Praticien hospitalier - Dr Mauffré Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel</p> <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Ponter Andrew - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier</p>
--	---

Département des sciences biologiques et pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Chateau Henry - Adjoint : Dr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Degueurce Christophe - Pr Robert Céline*</p> <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie - Pr Boulouis Henri-Jean* - Pr Eloit Marc - Dr Le Poder Sophie, Maître de conférences - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences - Pr Quintin-Colonna Françoise</p> <p>Unité pédagogique de biochimie - Pr Bellier Sylvain* - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier - Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences</p> <p>Discipline : éducation physique et sportive - M. Philips Pascal, Professeur certifié</p> <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques* - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences</p>	<p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Dr Desquilbet Loïc, Maître de conférences (Biostatistique, Epidémiologie) * - Dr Fournel Christelle, Maître de conférences contractuelle (Gestion et management)</p> <p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattaché au DEPEC) - Dr Darmon Céline, Maître de conférences contractuelle (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Véronica, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie - Pr Enriquez Brigitte, - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences * - Pr Tissier Renaud</p> <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Dr Gilbert Caroline, Maître de conférences (Ethologie) - Pr Panthier Jean-Jacques (Génétique) - Dr Pilot-Storck Fanny, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent, (Physiologie, Pharmacologie) *</p>
--	---

* responsable d'unité pédagogique

REMERCIEMENTS

Au Président du jury, Pr. Françoise BOTTEREL

Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommage respectueux.

Au Professeur Nadia HADDAD-HOANG-XUAN,

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour avoir accepté d'encadrer ma thèse et m'avoir donné votre confiance pour réaliser ce travail,
Pour votre investissement, votre patience et votre gentillesse,
Sincères remerciements.

Au Docteur Sophie Le Poder

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort
Pour vos conseils et pour avoir aimablement accepté de participer à ce jury de thèse,
Sincères remerciements.

REMERCIEMENTS PERSONNELS

À ma famille

Pour laquelle ces quelques lignes de remerciements ne suffiront pas,
Pour m'avoir accompagnée au cours de ces 25 dernières années,
Pour m'avoir toujours soutenue dans mes projets passés et à venir,
Avec tout mon amour.

À mes amis de tout horizon

À ceux de Blaise Pascal, quand bien même les années nous ont dispersés,
À Noémie, pour cette complicité qui m'est si chère,
À Cyndie, pour cette amitié inébranlable malgré la distance qui nous sépare,
À Marion, Elise et Sylvain, sans qui ces années de prépa n'auraient pas été les mêmes,
À mes ANCIENS, pour m'avoir ouvert à la vie alforienne de la meilleure façon qui soit,
Au Groupe 2 et aux Alforiens qui ont rendu ces cinq ans mémorables, aux belles années qui nous attendent,
À mes poulots, parce que, malgré tout, vous faites ma fierté,

To my Erasmus friends,

for having made this experience unforgettable and for all the other adventures to come.

À mes professeurs

À tous ceux ayant rythmé mon cursus,
Merci d'avoir rendu ma formation si enrichissante.

Aux docteurs vétérinaires ayant croisé ma route

À ceux qui m'ont pris sous leur aile lors de mes nombreux stages,
À ceux qui m'ont permis de faire mes premiers pas dans le monde du travail,
Merci, chers confrères, de m'avoir accordé votre confiance.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	1
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	7
LISTE DES ANNEXES	10
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION	13
Partie 1 : Les <i>Ebolavirus</i>	15
I- Généralités sur les virus Ebola	15
1. Taxinomie	15
2. Structure	16
3. Génome	17
4. Le cycle viral : déroulement de l'infection	20
4.1. L'attachement du virus à la cellule	20
4.2. L'internalisation du virus par endocytose	21
4.3. Transport du virus dans la cellule	21
4.4. Libération du matériel génétique dans le cytoplasme	23
4.5. Transcription et traduction du matériel génétique viral	24
4.6. Réplication virale	25
4.7. Assemblage et libération des nouveaux virions	26
5. Les protéines virales	26
II- Les maladies dues au virus Ebola	30
1. Epidémiologie	30
1.1. Descriptive	30
1.1.1. La maladie à virus Ebola sur le continent Africain	30
1.1.2. La maladie à virus Ebola sur le continent Asiatique	33
1.2. Analytique et synthétique	35
1.2.1. Le cycle épidémiologique des <i>Filoviridae</i>	35
1.2.2. Notion d'hôte relai amplificateur	36
1.2.2.1. Primates non humains	37
1.2.2.2. Autres animaux sauvages	40
1.2.2.3. Des animaux domestiques comme hôtes relais ?	41
1.2.2.3.1. Les chiens	42

1.2.2.3.2.	Les porcs	44
1.2.3.	Le réservoir des <i>Filoviridae</i>	45
1.2.4.	Bilan des espèces naturellement réceptives et sensibles	49
2.	Clinique	51
2.1.	Signes cliniques : notion de sujet asymptomatique et de sujet symptomatique	51
2.1.1.	Homme	51
2.1.2.	Animaux (PNH)	53
2.2.	Lésions	54
2.3.	Physiopathologie de l'infection	55
2.3.1.	Action directe sur les tissus de l'hôte	55
2.3.2.	Action indirecte via la réaction de l'hôte à la présence du virus	55
2.3.2.1.	Action sur la réponse immunitaire innée	55
2.3.2.2.	Action sur la réponse immunitaire spécifique	55
2.3.2.3.	Action de la glycoprotéine soluble	56
3.	Diagnostic	58
3.1.	Diagnostic biologique	58
3.1.1.	Diagnostic direct	59
3.1.1.1.	Tests rapides	59
3.1.1.2.	Isolement viral	59
3.1.1.3.	Autres techniques	60
3.1.2.	Diagnostic indirect	60
3.2.	Diagnostic de terrain vs diagnostic hors épidémie	60
4.	Gestion des foyers humains d'Ebola	61
Partie 2 : Evaluation du risque zoonotique lié aux virus de la maladie d'Ebola		63
I- Analyse du rôle des chauves-souris dans la transmission zoonotique du virus Ebola à l'Homme		63
1.	Métabolisme et cycle de vie des chauves-souris	63
1.1.	Métabolisme particulier des chauves-souris	63
1.2.	Adaptation du système immunitaire au cours de l'évolution	66
1.3.	Comportements susceptibles de favoriser le risque de transmission du virus Ebola	67
2.	Répartition géographique	68
2.1.	D'espèces de chauves-souris réceptives à l'infection par les <i>Filoviridae</i>	68
2.2.	Identification d'espèces de chauves-souris susceptibles d'être réceptives à l'infection par les <i>Filoviridae</i> et modélisation de leur répartition géographique	72

3. Modes et facteurs de risque de transmission du virus Ebola par les chiroptères à des espèces sensibles.....	74
II- Analyse du rôle de l'hôte relais dans la transmission zoonotique de la maladie à virus Ebola à l'homme.....	78
1. Evaluation des facteurs de risque liés à la faune sauvage.....	78
1.1. Les primates non humains.....	78
1.1.1. Apport des données expérimentales.....	78
1.1.1.1. Etudes de la sensibilité des PNH en fonction de mode d'inoculation.....	79
1.1.1.2. Etudes des modes de transmission entre PNH.....	79
1.1.2. Facteurs de risque de contact entre les PNH et d'autres animaux sauvages.....	81
1.1.2.1. Mise en évidence de comportement de prédation entre des singes cercopithèques et des chauves-souris.....	81
1.1.2.2. Les implications pour l'Homme.....	81
1.1.3. Facteurs de risques d'exposition des hommes aux PNH.....	81
1.1.3.1. Sur le continent africain.....	82
1.1.3.1.1. Les risques d'exposition par contact indirect.....	82
1.1.3.1.2. Les risques d'exposition par contact direct.....	84
1.1.3.1.3. Bilan sur les facteurs de risque d'exposition de l'Homme aux PNH en Afrique.....	86
1.1.3.2. Sur les continents où le virus ne circule pas.....	87
1.2. Les Rongeurs.....	88
1.2.1. Apport des données expérimentales.....	88
1.2.1.1. Sensibilité des rongeurs et adaptation de souches virales : l'utilisation des modèles murins.....	88
1.2.1.1.1. Infections expérimentales par EBOV.....	88
1.2.1.1.1.1. Chez la souris.....	88
1.2.1.1.1.2. Chez le cochon d'Inde.....	90
1.2.1.1.1.3. Chez le hamster doré syrien.....	90
1.2.1.1.1.4. Bilan sur la sensibilité des rongeurs à EBOV.....	91
1.2.1.1.2. Infections expérimentales par RESV.....	92
1.2.1.2. Etude expérimentale de la transmission du virus Ebola entre rongeurs.....	93
1.2.2. Facteurs de risque d'exposition de l'Homme aux rongeurs.....	97
2. Evaluation des facteurs de risque de transmission zoonotique liés aux animaux domestiques.....	98
2.1. Les porcs domestiques.....	98
2.1.1. L'apport de l'inoculation expérimentale du virus Ebola chez des porcs domestiques.....	98
2.1.1.1. Inoculation expérimentale de RESV.....	98

2.1.1.2. Inoculation expérimentale d'EBOV.....	100
2.1.2. Etudes expérimentales des modes de transmission du virus Ebola entre le porc et d'autres animaux.....	102
2.1.2.1. Transmission du virus entre porcs.....	102
2.1.2.2. Transmission d'EBOV de porcs à des macaques.....	103
2.1.3. Quels risques pour l'homme ?	104
2.1.3.1. Promiscuité entre les porcs et l'Homme	104
2.1.3.2. Répartition géographique des porcs domestiques en Afrique	105
2.1.3.3. Facteurs de risque de transmission du virus Ebola de la faune sauvage aux porcs domestiques	105
2.1.3.3.1. Facteurs de risque liés aux porcs sauvages	105
2.1.3.3.2. Les modalités potentielles de transmission du virus de la faune sauvage aux porcs domestiques	107
2.1.3.4. Place des porcs dans la chaîne alimentaire de l'homme	109
2.2. Les carnivores domestiques	110
2.2.1. Infection expérimentale de cellules de carnivores domestiques	110
2.2.2. Les facteurs de risque de contamination du chien et de transmission zoonotique en zone de circulation virale (Continent africain)	112
2.2.2.1. Contamination du chien à partir de la faune sauvage	112
2.2.2.1.1. Transmission active du virus.....	112
2.2.2.1.2. Transmission passive du virus.....	112
2.2.2.2. Risque de contamination entre le chien et l'Homme	113
2.2.2.2.1. Risque de transmission du virus de l'Homme au chien	113
2.2.2.2.2. Risque de transmission du virus du chien à l'Homme	113
2.2.2.3. Risque de contamination entre chiens.....	114
2.2.3. Les facteurs de risque de contamination du chien et de transmission du zoonotique dans les zones où le virus ne circule pas.....	114
2.2.4. Bilan sur l'évaluation du risque zoonotique que représentent les carnivores domestiques	
115	
III- Analyse des facteurs de risque liés à l'Homme dans la transmission zoonotique de la maladie à virus Ebola des animaux à l'Homme	118
1. Les risques imputables aux activités associées au trafic de viande de brousse.....	118
1.1. La chasse d'animaux sauvages et le transport de leur carcasse	119
1.2. La consommation de viande de brousse	120
1.3. La commercialisation de viande de brousse.....	120
1.3.1. Sur le continent africain	121

1.3.2. Sur les continents américain et européen	123
1.3.2.1. Risque d'entrée dans le pays	124
1.3.2.1.1. Probabilité de contamination de la viande avant importation	124
1.3.2.1.2. Probabilité d'importation illégale.....	124
1.3.2.1.3. Probabilité que la viande arrivant contienne le virus viable	125
1.3.2.2. Risque d'exposition au virus Ebola	125
1.3.2.3. Caractérisation du danger et du risque	125
1.3.3. Sur le continent asiatique	126
2. L'impact de la déforestation et de l'appropriation du territoire par l'Homme.....	128
3. Bilan sur l'impact des activités humaines liées à l'industrie alimentaire sur l'apparition d'une épidémie de maladie à virus Ebola	129
4. Contexte socio-économique et culturel.....	130
5. Impact de l'évolution démographique et des mouvements de populations	133
Partie 3 : Gestion du risque zoonotique lié aux virus de la maladie d'Ebola ..	135
I- Gestion du risque sur le continent africain.....	135
1. Plan général de lutte.....	135
1.1. Actions menées en amont de l'épidémie	136
1.2. Alerte et lutte en phase d'épidémie	137
1.3. Evaluation et réflexion post épidémique.....	137
2. Gestion du risque lié à la faune sauvage	138
2.1. Prévenir et limiter les contacts avec la faune sauvage	138
2.2. Surveiller la mortalité de la faune sauvage	138
2.3. Régulation et contrôle des activités liées à la viande de brousse	139
2.3.1. Renforcement des contrôles et de la législation	139
2.3.2. Proposition d'alternatives au commerce de viande de brousse.....	140
2.4. Communication et sensibilisation de la population	141
2.5. Protection des écosystèmes forestiers	143
3. Gestion du risque lié à la faune domestique	145
3.1. Gestion du risque lié aux porcs domestiques.....	145
3.2. Gestion du risque lié aux carnivores domestiques.....	146
4. Modèle de répartition géographique du virus Ebola : Prévission de la transmission zoonotique	147
II- Gestion du risque sur les autres continents	151
1. Gestion de cas importés sur les continents européen et américain.....	151

1.1. Cas de chiens potentiellement contaminés par des humains reconnus infectés.....	151
1.1.1. Prise de décision	152
1.1.2. Transport et mise en quarantaine.....	153
1.1.3. Déroulement de la quarantaine	154
1.1.4. Personnel de surveillance.....	154
1.1.5. Test de recherche d'infection virale.....	155
1.1.6. Conditions de levée de la quarantaine	155
1.2. Cas d'importation de singes provenant des Philippines sur le continent américain	156
1.3. Règlementation relative à l'importation d'animaux sauvages vivants	159
2. Régulation de la commercialisation de viande de brousse et gestion des importations illégales de produit animal	161
2.1. Les acteurs.....	161
2.2. Régulation des importations de viande brousse et de produit d'origine animal.....	162
3. Régulation du flux de voyageurs aériens.....	163
III- Perspectives	164
1. Progression des connaissances	165
1.1. Etudes de terrain	165
1.1.1. Etudes éco-épidémiologiques	165
1.1.1.1. Sur la faune sauvage africaine.....	165
1.1.1.2. Le cas des carnivores domestiques	166
1.1.1.3. Le cas des porcs domestiques et sauvages	166
1.1.2. Développement de techniques non invasives d'identification virale.....	167
1.2. Etudes de laboratoire	168
2. Renforcement de la capacité de gestion des épidémies en Afrique.....	169
2.1. Renforcement des infrastructures sur le continent Africain.....	169
2.2. Sensibilisation de la population et lutte contre la corruption	169
2.3. Développement d'une filière contrôlée de viande de brousse en Afrique	170
3. Renforcement de la coopération internationale.....	171
CONCLUSION	173
BIBLIOGRAPHIE.....	175
ANNEXES.....	189

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1: Représentation en trois dimensions de la structure du virus Ebola (Feldmann et Geisbert, 2011).....	17
Figure 2 : Structure du virus Ebola et organisation de son génome (Mahanty et Bray, 2004)	18
Figure 3 : Arbre phylogénétique des virus de la famille des <i>Filoviridae</i> (ANSES, 2014).....	19
Figure 4 : Entrée et transport du virus (Coté et Cunningham, 2012).....	22
Figure 5 : Clivage de la glycoprotéine de surface par la cathepsine (Coté et Cunningham, 2012)	23
Figure 6 : Mécanisme d'activation de la fusion membranaire (Côté et Cunningham, 2012)	24
Figure 7 : Formation de GP à partir de la maturation du précurseur GP0 (Côté et Cunningham, 2012)	25
Figure 8 : Le cycle du virus Ebola au sein de la cellule infectée (Mahanty et Bray, 2004)	26
Figure 9 : Déterminants de la pathogénicité du virus Ebola (inspiré de de Wit <i>et al.</i> , 2011)	28
Figure 10 : Carte de distribution des flambées de maladie à virus Ebola ayant eu lieu en Afrique de 1976 à 2014, par espèce et par taille	31
Figure 11 : Première chaîne de transmission de l'épidémie actuelle de maladie à virus Ebola à Méliandou (« OMS Tout a commencé en Guinée », s. d.).....	33
Figure 12 : Mise en évidence de RESV en Asie du sud-est	34
Figure 13 : Cycle biologique naturel supposé des virus de la maladie d'Ebola (OMS, 2014).....	36
Figure 14 : Séroprévalence vis-à-vis du virus Ebola chez des chiens échantillonnés dans différentes zones (Allela <i>et al.</i> , 2005)	43
Figure 15 : Rôle de la glycoprotéine soluble dans l'infection par le virus Ebola (Escudero-Pérez <i>et al.</i> , 2014).....	57
Figure 16 : Répartition prédite des trois espèces de chiroptères principales et considérées comme étant le réservoir du virus Ebola le plus probable (Pigott <i>et al.</i> , 2014).....	69
Figure 17 : Carte de localisation des différentes flambées humaines de maladie à virus Ebola en Afrique (Inspirée de Pigott <i>et al.</i> , 2014)	70
Figure 18 : Répartition géographique des espèces de chauves-souris susceptibles d'être des hôtes réservoirs pour (A) RESV, (B) EBOV (inspirée de Olival <i>et al.</i> , 2014).....	71
Figure 19 : Carte de répartition géographique mondiale des chauves-souris réceptives et supposées réceptives à l'infection par les <i>Filoviridae</i> (Han <i>et al.</i> , 2016a)	73
Figure 20 : Diagramme schématisé de la chaîne de transmission du virus Ebola à partir d'une chauves-souris lors de l'épidémie de 2007 en République Démocratique du Congo (Leroy <i>et al.</i> , 2009)	76
Figure 21 : Illustration des cinq stades d'évolution/catégories d'agents microbiens à réservoir animal et aboutissant à des maladies humaines (Wolfe <i>et al.</i> , 2007)	78
Figure 22 : Pourcentage de participants, échantillonnés dans des villages ruraux représentatifs de trois habitats du Cameroun (Savane, forêts galeries, forêts de basse altitude), ayant rapportés avoir déjà gardé un PNH comme animal de compagnie et/ou chassé un PNH et/ou abattu un PNH ainsi que la quantité moyenne mensuelle de viande de PNH consommée par habitant (Wolfe <i>et al.</i> , 2004)	83
Figure 23 : Fréquence d'exposition d'habitants avec des carcasses et de la viande de primate non humain dans la région de la forêt du Taï en Côte d'Ivoire (Mossoun <i>et al.</i> , 2015).....	84
Figure 24 : Fréquence de contact entre différentes espèce de primates et les hommes aux alentours du parc national de Kibale en Ouganda (Paige <i>et al.</i> , 2014)	86

Figure 25 : Gradient de sensibilité à EBOV des rongeurs et lagomorphes (Chepurnov <i>et al.</i> , 2003)....	91
Figure 26 : Pourcentage de survie de cochon d'Inde infectés par une souche adaptée d'EBOV et de cochons d'Inde naïfs mis dans la même cage en fonction du jour d'introduction après inoculation (Wong <i>et al.</i> , 2015).....	94
Figure 27 : Taux de survie de cochons d'Inde infectés et de cochons d'Inde naïfs placés sans possibilité de contact direct dans une cage ventilée (Wong <i>et al.</i> , 2015)	96
Figure 28 : Frise chronologique présentant les résultats des deux études successives, menées par Mars et ses collaborateurs en 2011 consistant en l'inoculation expérimentale de RESV à des porcelets de 5 semaines.....	99
Figure 29 : Présentation schématique des connaissances actuelles concernant le déroulement de l'infection expérimentale des porcs domestiques par EBOV et la stratégie d'échantillonnage pour la détection du virus (Weingartl <i>et al.</i> , 2013)	101
Figure 30 : Détection d'anticorps, dans le sérum de porcs inoculés expérimentalement par EBOV, au cours du temps (Kobinger <i>et al.</i> , 2011)	102
Figure 31 : Répartition géographique de quatre espèces de porcs sauvages en Afrique (Jori et Bastos, 2009).....	106
Figure 32 : Interactions entre les porcs domestiques et la faune sauvage (Atherstone <i>et al.</i> , 2015)	108
Figure 33 : Schéma événementiel d'une éventuelle transmission induite par un chien exposé au virus de la maladie Ebola (ANSES, 2014).....	116
Figure 34 : Algorithme de probabilité pour qu'un carnivore domestique en contact avec un humain infecté par EBOV se contamine ou s'infecte à son tour (EFSA, 2014).....	117
Figure 35 : Schématisation simplifiée du processus de commercialisation de viande de brousse de chauves-souris au sud du Ghana (Kamins <i>et al.</i> , 2011).	122
Figure 36 : Schématisation de l'analyse de risque de transmission d'EBOV a une personne en Europe via la manipulation, la préparation et la consommation de viande de brousse importée d'Afrique (EFSA, 2014).....	126
Figure 37 : Bilan sur les différentes activités liées à l'industrie alimentaire pouvant aboutir à une épidémie de maladie à virus Ebola (inspiré de Mann <i>et al.</i> , 2015).....	130
Figure 38 : Les quatre périodes de la stratégie de prévention et de lutte concernant les épidémies de maladie à virus Ebola ou de Marburg (OIE, 2014).....	136
Figure 39 : Nombre de carcasses commercialisées sur 9 marchés de viande de brousse au sud du Nigéria avant et après l'épidémie de maladie à virus Ebola ayant sévi au Nigéria en 2014 (Akani <i>et al.</i> , 2015).....	142
Figure 40 : Cartes de modélisation de la transmission zoonotique du virus Ebola en Afrique (Pigott <i>et al.</i> , 2016, 2014).....	148
Figure 41 : Carte de l'Afrique présentant la survenue de cas de maladie à virus Ebola chez l'Homme et les animaux (Pigott <i>et al.</i> , 2016).....	150
Figure 42 : Gestion de l'infection à virus Ebola chez des singes importés aux Etats-Unis en 1996 et provenant des Philippines	157
Figure 43 : Nombre de PNH importés par an aux Etats-Unis entre 1994 et 2011 (CDC, 2013)	159

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de la taxinomie du virus Ebola, sa répartition géographique ainsi que les espèces sensibles et réceptives connues	16
Tableau 2 : Génome des cinq espèces de virus Ebola (ANSES, 2014)	19
Tableau 3 : Tableau récapitulatif du rôle des protéines virales dans le cycle viral et la pathogénicité du virus Ebola	29
Tableau 4 : Estimation de la densité des populations de gorilles, chimpanzés et céphalophes avant (2000) et après (2003) l'épidémie de maladie à virus Ebola, dans un sanctuaire de RDC (Leroy <i>et al.</i> , 2004a).....	38
Tableau 5 : Séroprévalence d'IgG anti-Ebola chez des primates non humains en Afrique Centrale (Leroy <i>et al.</i> , 2004b)	39
Tableau 6 : Détection de fragments de gènes viraux dans l'ADN et l'ARN d'organes de sept petits mammifères (Morvan <i>et al.</i> , 1999)	41
Tableau 7 : Taux de séroprévalence (IgG spécifiques du virus Ebola) chez des chiens domestiques de différentes zones du Gabon (Allela <i>et al.</i> , 2005)	42
Tableau 8 : Espèces de chauves-souris chez lesquelles des tests sérologiques ou PCR ont permis de mettre en évidence une infection présente ou antérieure par des <i>Filoviridae</i> (Olival et Hayman, 2014)	48
Tableau 9 : Espèces animales naturellement réceptives et/ou sensibles au virus Ebola (inspiré de la saisine de 2014 de l'ANSES)	50
Tableau 10 : Taux de létalité moyen du virus Ebola dans différents pays d'Afrique (Nyakarahuka <i>et al.</i> , 2016).....	51
Tableau 11 : Tableau clinique comparé des fièvres hémorragiques dues aux virus de la maladie d'Ebola et de la maladie de Marburg (ANSES, 2014)	53
Tableau 12 : Exemples d'augmentation de température corporelle (centrale et périphérique) d'espèces de chauves-souris lors du vol (O'shea <i>et al.</i> , 2014)	64
Tableau 13 : Réponses immunitaires innée et adaptative associées à une augmentation de température corporelle chez les mammifères (O'shea <i>et al.</i> , 2014)	65
Tableau 14 : Nombre de personnes ayant rapporté des contacts directs avec des fluides biologiques de primates non humains dans 17 villages du Cameroun (Wolfe <i>et al.</i> , 2004)	85
Tableau 15 : Comparaison des caractéristiques pathologiques de différents modèles animaux d'infection par les <i>Filoviridae</i> (Nakayama et Saijo, 2013)	92
Tableau 16 : Association entre la fréquence de contact avec un animal sauvage, de blessure engendrée par un animal sauvage et de contact avec un primate avec différentes variables (âge, sexe, lieu de vie, tribu d'appartenance, profession) en Ouganda (Paige <i>et al.</i> , 2014)	132

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Frise chronologique des flambées de maladie à virus Ebola de 1976 à aujourd'hui	133
Annexe 2 : Recensement des foyers de maladies dues aux <i>Filoviridae</i> d'après Kuhn (2008).....	190
Annexe 3 : Source des infections à virus Ebola de 1976 à 2005 en Afrique	192
Annexe 4 : Espèces concernées par une hausse de morbidité et de mortalité au Gabon et en République Démocratique du Congo de novembre 1994 à avril 2005 (Lahm <i>et al.</i> , 2007).....	193
Annexe 5 : Analyse de carcasses d'animaux sauvages par PCR, capture antigénique, immunohistochimie et recherche d'IgG (Leroy <i>et al.</i> , 2004b)	194
Annexe 6 : Définitions de cas des maladies à virus Ebola et Marburg au cours et en dehors d'une épidémie selon l'OMS (OMS 2014d ; ANSES, 2014).....	194
Annexe 7: Répartition géographique des porcs en Afrique (carte réalisée par L. Martinelle sur base des données FAO (2005) ; ANSES, 2014).....	196
Annexe 8 : Prévalence d'anticorps dirigés contre le nucléoprotéine du virus Ebola dans les fèces de gorilles échantillonnées en République du Congo entre 2005 et 2008 (Reed <i>et al.</i> , 2014).....	197

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acides Aminés
Ac : Anticorps
ADN : Acide Desoxyribonucléique
Ag : Antigène
ARN : Acide Ribonucléique
ARNi : Acide Ribonucléique interférent
ARNm : Acide Ribonucléique Messenger
BDBV : Ebola virus Bundibugyo
CDC : Centers for Disease Control : Centres pour le contrôle et la prévention des maladies
CIVD : Coagulation Intravasculaire Disséminée
CITES : Convention sur le commerce Internationale des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
EBOV : Ebola virus Zaire
ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control
EDTA : Éthylène Diamine Tétracétique
EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay : dosage immuno-enzymatique sur support solide
FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
GP : Glycoprotéine
GP0 : Précurseur de la GP
GP₁ : Sous unité de GP
GP₂ : Sous unité de GP
HOPS : Homotypic fusion and protein sorting
HR₁ : Répétition Heptadique aminoterminal
HR₂ : Répétition Heptadique carboxyterminal
IC_{95%} : intervalle de confiance à 95 %
IFN α/β : Réponse Interféron de type 1
Ig : Immunoglobuline
IL : Interleukines
IRF-3 : Facteur 3 de régulation de l'interféron
IRF-7 : Facteur 7 de régulation de l'interféron
IUCN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature
LT : Lymphocytes T
NP : Nucléoprotéine
NPC1 : Niemann-Pick C1
OIE : Organisation mondiale de la santé animale

OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OR : Odd Ratio
PCR : Réaction en chaîne par polymérase
PNH : Primates Non Humains
PNN : Polynucléaires neutrophiles
RC : République du Congo
RDC : République Démocratique du Congo
RESV : Ebola virus Reston
RNP : Ribonucléoprotéique
RT-PCR : Réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse
SDRP : Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin
SIV : Virus de l'immunodéficience simienne
SIVEP : Service d'inspection vétérinaire et phytosanitaire aux frontières
STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription
SUDV : Ebola virus Soudan
TAFV : Ebola virus Forêt du Taï
TLR : Recepteur « toll-like »
TNF : Tumoral Necrosis facteur : Facteur de Nécrose Tumorale
UE : Union Européenne
UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature
USAID : Agence des États-Unis pour le développement international
VP : Viral Particle : Protéine virale
WWF : World Wild Fund : Fonds mondial pour la nature

INTRODUCTION

Les virus de la maladie d’Ebola ont causé de nombreuses épidémies depuis leur découverte en 1976, mais hormis cette date, ce n’est qu’en 2013 qu’ils ont réellement inquiété la communauté internationale en raison de l’ampleur de la flambée épidémique survenue en Afrique de l’Ouest¹. Son nombre de cas, sa localisation, son étendue géographique et sa rapidité de propagation en font l’épidémie de maladie à virus Ebola la plus grave ayant sévi. Selon le nombre de cas répertoriés, elle aurait engendré plus de 28 000 cas et tué plus de 11 000 personnes (World Health Organization, 2016).

Cet épisode récent correspond à une véritable émergence. La maladie à virus Ebola peut être qualifiée de zoonose émergente, puisqu’une maladie émergente se définit comme une « entité pathologique infectieuse connue dont l’incidence augmente dans un espace ou dans un groupe de population donné » (Picard-Meyer *et al.*, 2015), et le premier épisode connu de maladie à virus Ebola est également récent (1976). Comme 75 % des maladies émergentes, la maladie à virus Ebola est une maladie zoonotique c’est-à-dire transmissible des animaux à l’Homme et *vice versa* (Wolfe *et al.*, 2005). A l’heure actuelle l’implication de certains animaux sauvages dans le cycle épidémiologique du virus Ebola est admise mais leur rôle et leur importance dans la transmission zoonotique du virus ne sont pas démontrés pour certains d’entre eux. L’implication des animaux domestiques bien que très peu documentée commence à être étudiée compte tenu de leur proximité avec l’Homme. Il apparaît donc pertinent de s’intéresser plus précisément au rôle des animaux sauvages et domestiques dans la transmission du virus Ebola à l’Homme afin d’appréhender leur implication dans l’émergence et/ou la propagation du virus au sein des populations humaines.

L’objectif de cette thèse est de faire le point en l’état actuel des connaissances, sur le risque de transmission zoonotique du virus Ebola à des fins opérationnelles. Ce travail se base sur les différentes études réalisées à ce jour, tant expérimentales, que sur terrain ou par une approche de modélisation.

La première partie de cette étude décrit les caractéristiques générales des *Ebolavirus*, notamment leur structure et leur cycle viral, ainsi que la maladie à virus Ebola chez les hommes et les animaux, tant sur le plan clinique qu’épidémiologique, avec un rappel succinct de l’historique de la maladie, et la présentation du cycle épidémiologique et de ses acteurs.

¹ L’Afrique de l’Ouest comprend 16 pays : le Bénin, le Burkina Faso, la Côte d’Ivoire, la Gambie, le Ghana, la Guinée, la Guinée-Bissau, le Cap-Vert, le Liberia, le Mali, la Mauritanie, le Niger, le Nigéria, le Sénégal, la Sierra Leone et le Togo

La deuxième partie analyse le rôle des différents acteurs du cycle épidémiologique (réservoir supposé, hôte amplificateur et Homme) et les facteurs de risque associés à la transmission zoonotique du virus Ebola à l'Homme, pour tenter d'en évaluer le risque.

La troisième et dernière partie porte sur la gestion du risque zoonotique lors des épidémies passées, sur le continent africain d'une part, mais également sur les continents européen, américain et asiatique d'autre part, et sur les perspectives d'amélioration de la gestion, voire d'anticipation, d'une nouvelle épidémie.

Partie 1 : Les Ebolavirus

I- Généralités sur les virus Ebola

1. Taxinomie

Les virus de la maladie Ebola appartiennent à l'ordre des Mononegavirales et à la famille des *Filoviridae*. Il existe trois genres au sein de cette famille : les virus de la maladie d'Ebola ou *Ebolavirus*, le virus de la maladie de Marburg ou *Marburgvirus* et le *Cuevavirus* (Negredo *et al.*, 2011 ; Pigott *et al.*, 2014)

Il existe 5 espèces de virus Ebola (Kuhn *et al.*, 2014 ; Pigott *et al.*, 2014):

- Ebola Zaïre (EBOV) est la plus virulente, avec un taux de létalité² de 70 à 90 % (Feldmann et Geisbert, 2011). C'est la première espèce à avoir été découverte, lors de l'épidémie³ qui a eu lieu en 1976 en République Démocratique du Congo (RDC) (ex Zaïre) et au Soudan. EBOV a été responsable de la plupart des flambées recensées (13) de maladie à virus Ebola en Afrique (Pigott *et al.*, 2014).
- Ebola Soudan (SUDV) a été découverte en la même année qu'EBOV. Le taux de létalité est estimé à 50 % et elle a été responsable de sept épidémies recensées à ce jour (Pigott *et al.*, 2014).
- Ebola Reston (RESV) a été isolée en 1989 chez un macaque *Cynomologus (Macaca fascicularis)* importé en Virginie aux Etats Unis. Cette espèce n'induit pas de fièvre hémorragique chez les humains mais elle est fatale chez les macaques *Cynomologus* (Feldmann et Geisbert, 2011). RESV a été retrouvé chez des porcs aux Philippines en 2008 (Barrette *et al.*, 2009) et plus récemment, chez des porcs en Chine, en 2014, ainsi que chez des macaques aux Philippines en 2015.
- Ebola Forêt du Taï ou Côte d'Ivoire (TAFV) a été découverte en 1994. Un seul cas humain non fatal a été signalé. Il s'agit d'un vétérinaire contaminé à la suite de l'autopsie d'un chimpanzé en Côte d'Ivoire.
- Ebola Bundibugyo (BDBV) a été découverte en Ouganda en 2008. Elle est proche du TAFV mais est plus virulente. Le taux de létalité atteint 40 % (Towner *et al.*, 2008). Elle a été responsable de deux flambées en 2007-2008 et 2012 (Pigott *et al.*, 2014).

Hormis RESV, toutes les espèces sont pathogènes pour l'Homme, provoquant des flambées de fièvre hémorragique en Afrique.

² Le taux de létalité est le rapport entre le nombre de morts et le nombre de malades

³ Maladie dont l'évolution est brutale, caractérisée par une augmentation brutale du nombre de cas au sein de la population humaine

Tableau 1 : Tableau récapitulant la taxinomie du virus Ebola, sa répartition géographique ainsi que les espèces sensibles et réceptives connues

RDC : République démocratique du Congo ; PNH : Primates Non Humains ; SDRP : Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin ; EBOV : Ebola virus Zaire ; SUDV : Ebola virus Soudan ; TAFV : Ebola virus Forêt du Taï ; BDBV : Ebola virus Bundibugyo ; RESV : Ebola virus Reston.

Espèce	Année de découverte	Nombre de flambées	Répartition géographique		Taux de létalité chez l'Homme	Espèces réceptives connues	Espèces sensibles
			Continent	Pays			
EBOV	1976	13	Afrique (de l'Ouest et Centrale)	Sénégal, Mali, Guinée, Libéria, Sierra Leone, Côte d'Ivoire, Nigéria, Gabon, Congo, RDC, Afrique du Sud	75 %*	Homme, PNH, rongeurs, chiroptères, carnivores domestiques (chien)	Homme, PNH
SUDV	1976	7	Afrique Centrale	Ouganda, Soudan du Sud	53 %*	Homme, PNH	Homme, PNH
TAFV	1994	1	Afrique de l'Ouest	Côte d'Ivoire	1 seul cas humain non fatal	Homme, PNH	Homme, PNH
BDBV	2008	2	Afrique Centrale	Ouganda, RDC	34 %*	Homme, PNH	Homme, PNH
RESV	1989	0	Amérique et Europe (cas importé), Asie	Philippines, Chine, (Etats Unis, Italie)	0 %	Macaques, rongeurs, porcs, Homme	Macaques, porcs (en coinfection avec le virus SDRP)

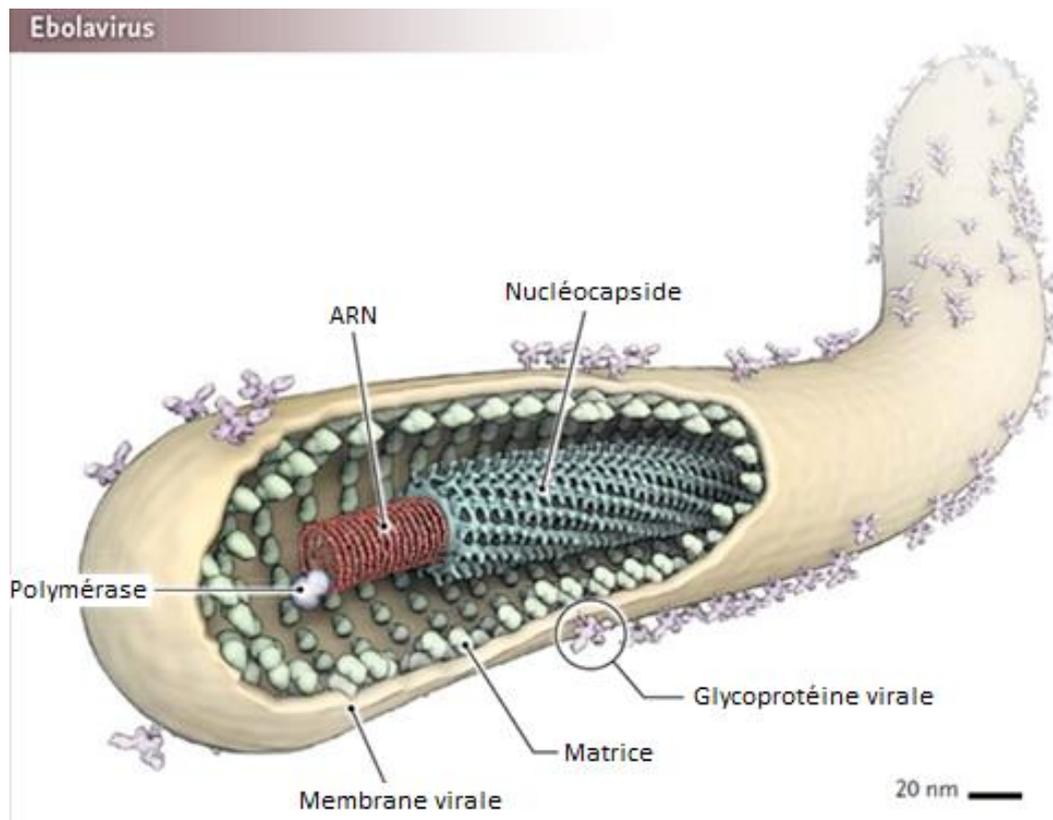
* (Nyakarahuka *et al.*, 2016)

2. Structure

Les *Filoviridae* se présentent sous la forme de longs filaments (Figure 1). Ceux-ci ont généralement la forme d'un U, d'un 6 ou d'un cercle. Leur longueur peut atteindre 1 µm et leur diamètre, uniforme, est d'environ 80nm. Il s'agit de virus enveloppés par une membrane lipidique, à ARN monocaténaire, non segmenté et de polarité négative. Chaque brin d'ARN, de forme hélicoïdale, est entouré par une ribonucléocapside hélicoïdale contenant la nucléoprotéine NP, les protéines VP30 et VP35 ainsi qu'une polymérase L. Le brin d'ARN et sa nucléocapside forment le virion. Chaque virion est contenu dans une membrane lipidique, dans laquelle sont enchâssés des exemplaires de la glycoprotéine virale GP. Cette membrane est tapissée en face interne d'une matrice hélicoïdale contenant les protéines VP24 et VP40 et entourant la nucléocapside (Mwanatambwe *et al.*, 2001).

Figure 1: Représentation en trois dimensions de la structure du virus Ebola (Feldmann et Geisbert, 2011)

Particule virale filamenteuse. Le brin d'ARN monocaténaire à polarité négative (rouge) est compris dans une nucléocapside (bleu), elle-même comprise dans une membrane lipidique virale (beige) dans laquelle sont enchâssées des glycoprotéines virales (violet). L'intérieur de cette membrane lipidique est tapissé par une matrice (vert).



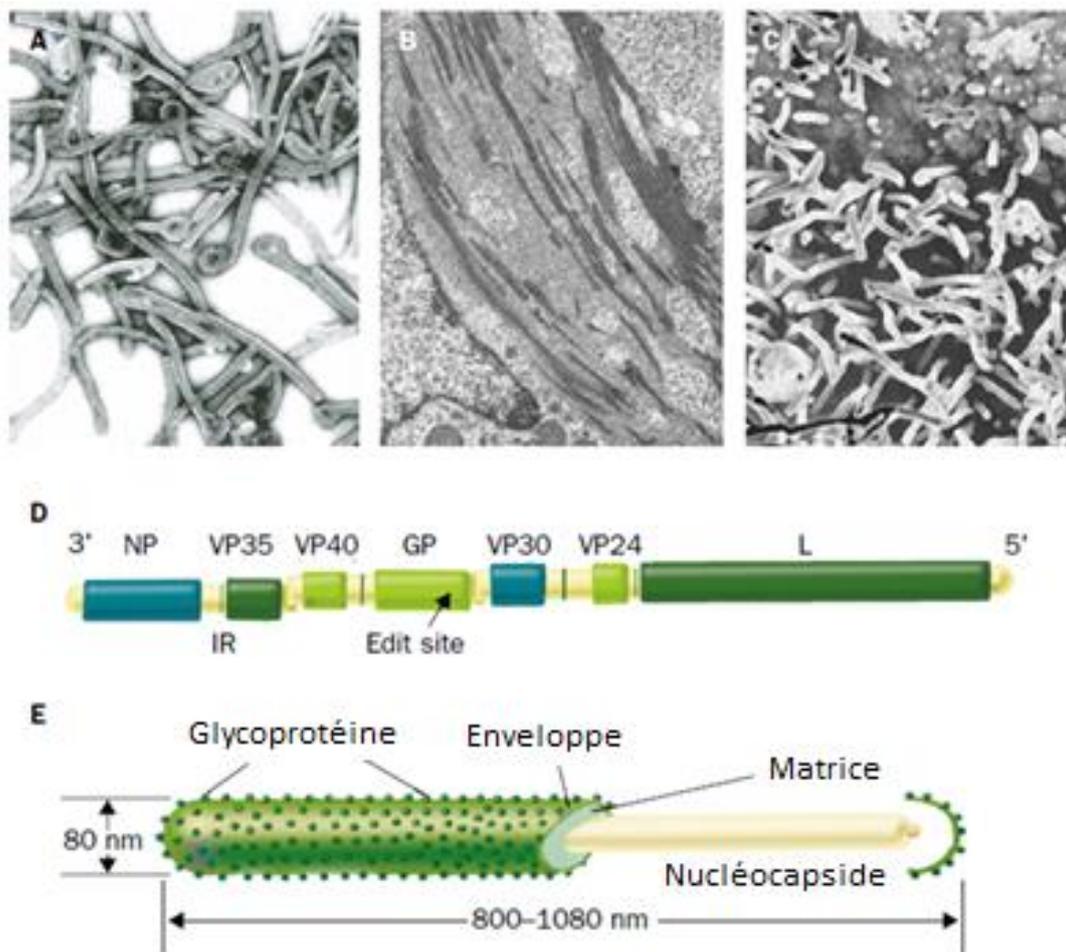
3. Génome

L'organisation du génome⁴ des virus Ebola est caractéristique de la famille des *Filoviridae*. Il est en effet composé de sept gènes, séparés par des régions non transcrites, codant pour sept protéines. Dans le sens 3'-5', se succèdent le gène codant pour la nucléoprotéine NP, pour les protéines VP35 et VP40, pour la glycoprotéine GP, pour la VP30, la VP24 et enfin pour la polymérase L. La seule différence entre les genres de la famille des *Filoviridae* est la longueur du génome. La taille du génome des *Ebolavirus* est d'environ 19kb (Mahanty et Bray, 2004 ; ANSES, 2014). Le génome représente 1,1% du poids total du virion (Escudero-Pérez *et al.*, 2014). L'organisation du génome et la structure du virus sont présentées dans la figure 2.

⁴ Le génome est l'ensemble du matériel génétique, ici codé dans le brin d'acide ribonucléique (ARN).

Figure 2 : Structure du virus Ebola et organisation de son génome (Mahanty et Bray, 2004)

(A) Virions observés par microscopie électronique en transmission. (B) Nucléocapside virale observée par microscopie électronique en transmission dans des corps d'inclusion cytoplasmiques d'un hépatocyte infecté. (C) Virions, situés à la surface d'une cellule endothéliale humaine, observés par microscopie électronique à balayage. (D) Arrangement des sept gènes viraux au sein de la particule d'ARN viral ; IR=régions non transcrites ; GP=glycoprotéine ; NP=nucleoprotéine ; VP=protéine virale ; L= gène codant pour la polymérase L. (E) Structure du viron. (Mahanty et Bray, 2004)



Mwanatambwe *et al.* (2001) ont constaté une grande stabilité génomique des *Filoviridae*. Des différences de taille de l'ARN génomique ainsi que du taux de dinucléotides GC permettent cependant de distinguer les différentes espèces de virus Ebola. Ces différences sont récapitulées dans le tableau 2 (ANSES, 2014).

Tableau 2 : Génome des cinq espèces de virus Ebola (ANSES, 2014)

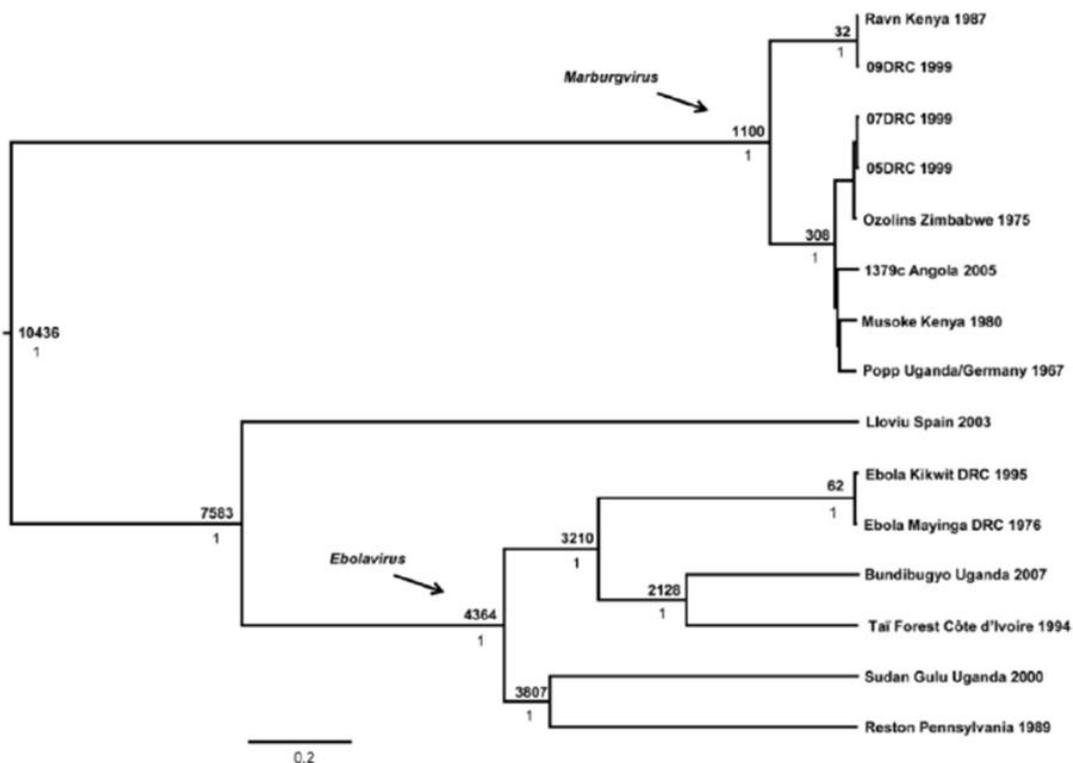
EBOV : Ebola virus Zaire ; *SUDV* : Ebola virus Soudan ; *RESTV* : Ebola virus Reston ; *TAFV* : Ebola virus Forêt du Taï ; *BDBV* : Ebola virus Bundibugyo ; *GC* : dinucléotides.

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

Les variations génétiques entre les genres de *Filoviridae* sont représentées au sein de l'arbre phylogénétique de la figure 3 (ANSES, 2014).

Figure 3 : Arbre phylogénétique des virus de la famille des *Filoviridae* (ANSES, 2014)

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) est précisé à chaque nœud (au-dessus) avec sa probabilité d'existence (en dessous). L'échelle indique des substitutions/sites



4. Le cycle viral : déroulement de l'infection

Le cycle viral du virus Ebola comprend huit étapes : l'attachement du virion à la cellule, l'internalisation du virus par endocytose, le transport du virus, la libération du matériel génétique dans le cytoplasme de la cellule, la transcription et la traduction du matériel génétique viral, la réplication virale, l'assemblage des nouveaux virions et la libération des nouveaux virions par bourgeonnement (Mahanty et Bray, 2004 ; Reynard, 2008).

4.1. L'attachement du virus à la cellule

L'attachement du virion à la cellule implique de nombreux facteurs ubiquitaires expliquant le spectre d'hôte très large du virus Ebola. Ces facteurs d'attachement, riches en glycanes, sont situés à la surface de la cellule. Les *Filoviridae* ont un tropisme très large et sont capables d'infecter un grand nombre d'espèces mais aussi une grande variété de cellules au sein d'un organisme (Wool-Lewis et Bates, 1998). Parmi ces facteurs d'attachement, il est possible de citer le facteur DC-SIGN, exprimé par des macrophages et des cellules dendritiques, le facteur DC-SIGNR, exprimé par de nombreuses cellules endothéliales, les β -intégrines et la protéine TIM-1 (T-cell immunoglobulin and mucin domain-1). Les lectines sont des protéines ubiquitaires présentes dans tous les organismes vivants ce qui pourrait expliquer le spectre d'hôte large du virus Ebola. Un type de lectine, les lectines C, constituent des récepteurs membranaires des cellules jouant un rôle dans la réponse immunitaire innée des mammifères. Parmi les lectines C favorisant l'attachement du virus à la cellule, il est possible de citer L-SIGN, DC-SIGN, DC-SIGNR et hMGL (Simmons *et al.*, 2003 ; Mahanty et Bray, 2004). Des récepteurs autres que les lectines, eux aussi assez ubiquitaires, ont été incriminés. Des études ont montré que la présence d'anticorps (Ac) anti- β 1-intégrine conduit à une diminution de l'entrée du virus dans la cellule. Cette étude suggère que les β -intégrines servent de récepteurs pour le virus, même si aucune interaction directe entre le virus et les β 1-intégrines n'a été mise en évidence à ce jour. Les β 1-intégrines sont également des protéines ubiquitaires. Enfin, il a été démontré que l'expression de TIM-1 favorisait l'entrée du virus dans les cellules et que la perte d'expression de cette protéine empêche l'entrée du virus. Une interaction entre GP et TIM-1 a également été mise en évidence, confortant l'hypothèse selon laquelle TIM-1 serait un récepteur cellulaire du virus Ebola (Hunt *et al.*, 2012).

La glycoprotéine (GP), une fois glycosylée, est capable de se lier à ces récepteurs cellulaires ubiquitaires situés à la surface des cellules (ANSES, 2014). La GP est composée de deux sous-unités. La sous-unité GP₁ joue un rôle dans l'attachement viral tandis que la sous-unité GP₂ joue un rôle dans la fusion membranaire (Escudero-Pérez *et al.*, 2014). La sous-unité GP₂ possède quatre domaines qui interagissent entre eux, entraînant une modification de conformation de la glycoprotéine et permettant la fusion des membranes cellulaires et

virale. Ces quatre domaines sont le peptide de fusion (F), constitué d'acides aminés hydrophobes, la répétition heptadique aminoterminal (HR1) et la répétition heptadique carboxyterminale (HR2), qui forment toutes deux des hélices alpha, et un domaine transmembranaire (Côté et Cunningham, 2012). La structure de GP₂ est illustrée sur la figure 6. Le virus s'attache préférentiellement à ses premières cibles : les cellules dendritiques et les macrophages (Côté et Cunningham, 2012 ; Brudner *et al.*, 2013).

Les récepteurs cellulaires du virus Ebola, bien qu'ils n'aient pas tous été identifiés à ce jour, sont ubiquitaires. Il est possible de citer les lectines, les β 1-intégrines et les récepteurs TIM-1. NPC1 joue également un rôle important dans la barrière d'espèce. Présente chez de nombreux mammifères, elle est indispensable à l'infection par le virus Ebola. Les cathepsines et les protéines Rab 5 et 7 interviennent également au cours du cycle et se révèlent ubiquitaires.

4.2. L'internalisation du virus par endocytose

Pour que l'infection ait lieu, il faut que le virus atteigne des compartiments cellulaires bien spécifiques dans lesquels sa GP est activée. Pour cela, il est internalisé par endocytose et plus précisément par macropinocytose⁵ dans le cas du virus Ebola. Ceci entraîne la formation de vésicules de diamètre d'environ 200 à 10 000 nm. L'attachement du virus à la membrane cellulaire nécessite l'activation de la voie de signalisation PI3K qui stimule la macropinocytose. Une fois internalisée, le virion doit être acheminé jusqu'aux compartiments permettant l'activation de sa GP (Côté et Cunningham, 2012).

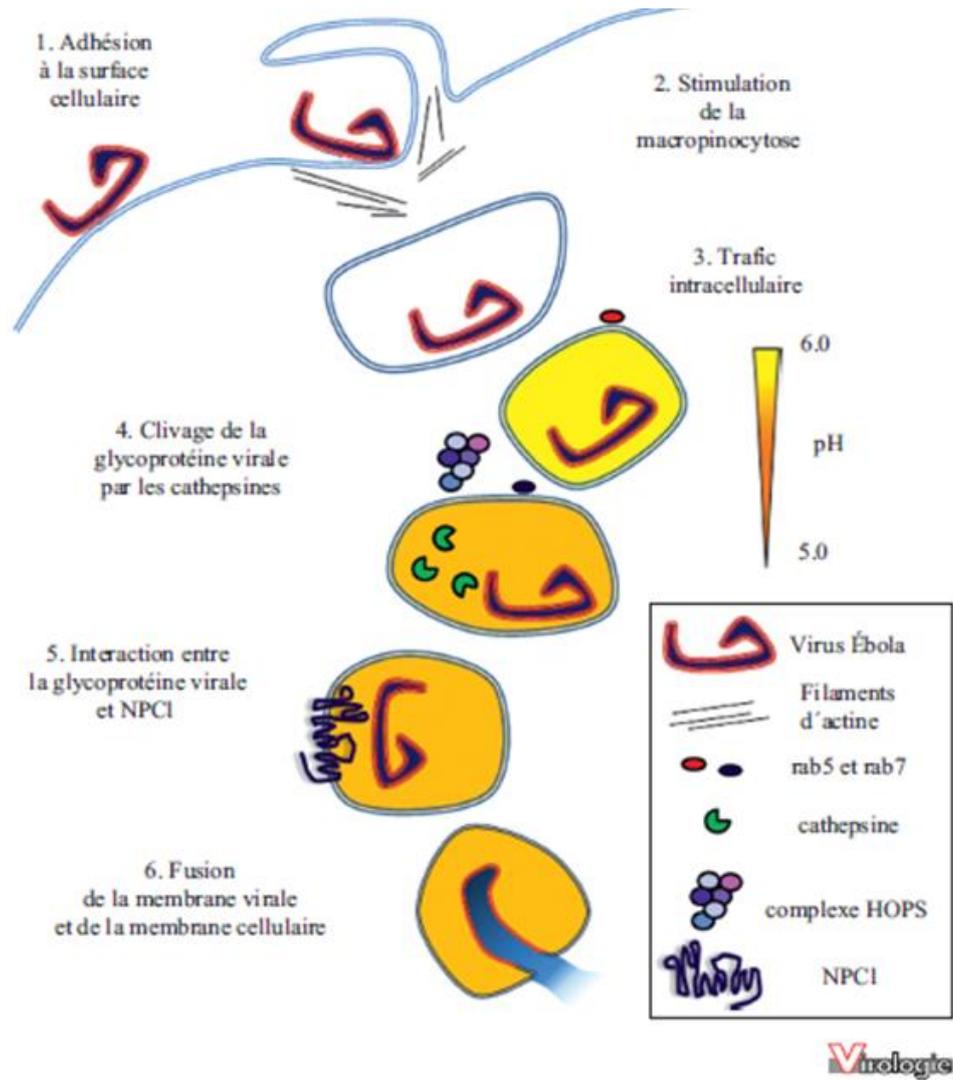
4.3. Transport du virus dans la cellule

Le transport du virus a lieu des endosomes précoces aux endosomes tardifs et nécessite de nombreuses protéines dont les protéines Rab5 et Rab7, petites GTPases ubiquitaires qui régulent le transport des vésicules chez les mammifères, et le complexe Homotypic fusion and protein sorting (HOPS) qui régule la fusion des membranes au niveau du lysosome (Lodish *et al.*, 2005). Ce transport permet d'accéder aux compartiments comprenant les cathepsines et la protéine Niemann-Pick C1 (NPC1), indispensables à l'activation et la libération de la GP dans le cytoplasme. La GP est clivée par des protéases endosomales : les cathepsines B et L. Après ce clivage, les virions deviennent infectieux. Le transport des particules virales est présenté dans la figure 4 de la page suivante (Côté et Cunningham, 2012). Les cathepsines B et L sont présentes dans les endosomes et les lysosomes d'une grande variété de cellules de mammifères. Elles sont donc ubiquitaires (Chandran *et al.*, 2005).

⁵ La macro pinocytose est le transport de particules d'environ un micromètre de diamètre à l'intérieur d'une cellule *via* des vésicules.

Figure 4 : Entrée et transport du virus (Coté et Cunningham, 2012)

Lors de l'infection, la glycoprotéine (GP) à la surface de la particule virale lie des facteurs d'attachement et active son internalisation par macro pinocytose. Le virus est transporté via des vésicules intracellulaires. Au cours de ce transport, la GP est clivée par des cathepsines, exposant un domaine de liaison lui permettant d'interagir avec la protéine Niemann-Pick C1 (NPC1). Cette interaction permet la fusion de la membrane virale et de la membrane de l'endosome tardif ou lysosome et la libération du matériel génétique viral dans le cytoplasme cellulaire.

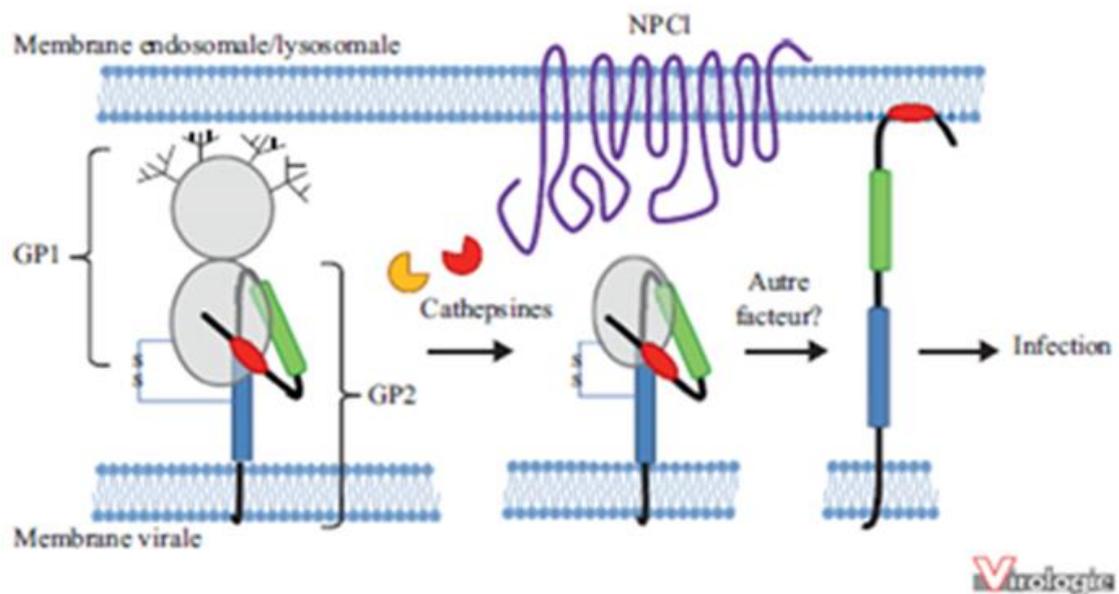


Les cathepsines sont donc indispensables pour l'infection mais ne permettent pas la fusion de la membrane endosomale avec la membrane virale. Ceci est permis par la protéine NPC1 présente dans les endosomes tardifs et lysosomes. Des études *in vivo* (modèle murin) et *in vitro* (cellules de vertébrés) ont permis de montrer que NPC1 est indispensable à l'infection par le virus Ebola. Son absence provoque une résistance à l'infection. La GP se lie à NPC1 uniquement lorsqu'elle est activée. En effet, le clivage par les cathepsines expose un domaine de liaison à la protéine NPC1. Ce clivage est illustré dans la figure 5. Cette protéine

comporte 13 domaines transmembranaires et 3 larges domaines dans la lumière des endosomes et lysosomes (Côté et Cunningham, 2012 ; Carette *et al.*, 2012 ; Escudero-Pérez *et al.*, 2014). NPC1 est très conservée chez les animaux et présente chez de nombreuses espèces. Ceci est un nouvel argument justifiant la capacité du virus Ebola à infecter de nombreuses espèces animales. Il serait intéressant d'étudier les interactions entre les GP virales et les NPC1 de différentes espèces animales. D'éventuelles incompatibilités permettraient de limiter le spectre d'hôte du virus Ebola. En ce sens, NPC1 participerait à la barrière d'espèce (ANSES, 2014 ; Herbert *et al.*, 2015).

Figure 5 : Clivage de la glycoprotéine de surface par la cathepsine (Coté et Cunningham, 2012)

Lors du transport de la particule virale jusqu'à un endosome tardif, la glycoprotéine (GP) est clivée par la cathepsine. Ce clivage expose le domaine de liaison au récepteur cellulaire NPC1. Il reste à déterminer si un autre facteur est nécessaire pour activer la fusion de GP₂.

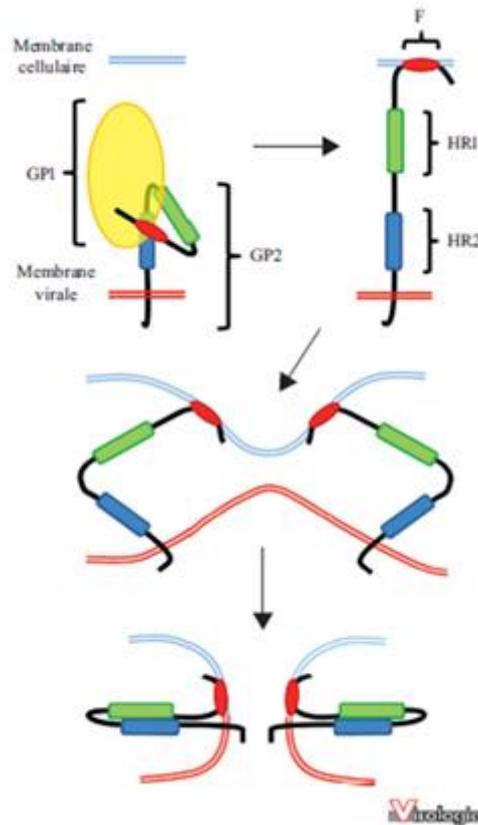


4.4. Libération du matériel génétique dans le cytoplasme

La fixation sur la NPC1 est suivie par une modification de conformation de la GP₂ permettant le rapprochement et la fusion des membranes endosomale et virale. La forme allongée initiale de la GP₂ permet au peptide de fusion de s'insérer dans la membrane cellulaire. Puis la GP₂ se replie sur elle-même, acquérant une forme en épingle à cheveux du fait de l'interaction entre HR₁ et HR₂. Ceci rapproche les deux membranes et aboutit à leur fusion (Figure 6). Le matériel viral peut alors être libéré dans le cytoplasme.

Figure 6 : Mécanisme d'activation de la fusion membranaire (Côté et Cunningham, 2012)

Suite à l'activation de GP₁, GP₂ insère son peptide de fusion (F) dans la membrane cellulaire. Un seul hétérodimère du trimère est représenté pour des raisons de clarté. Après avoir pris une conformation allongée, GP₂ va se replier sur elle-même pour former une épingle à cheveux. Ceci aboutit au rapprochement des deux membranes et à leur fusion.



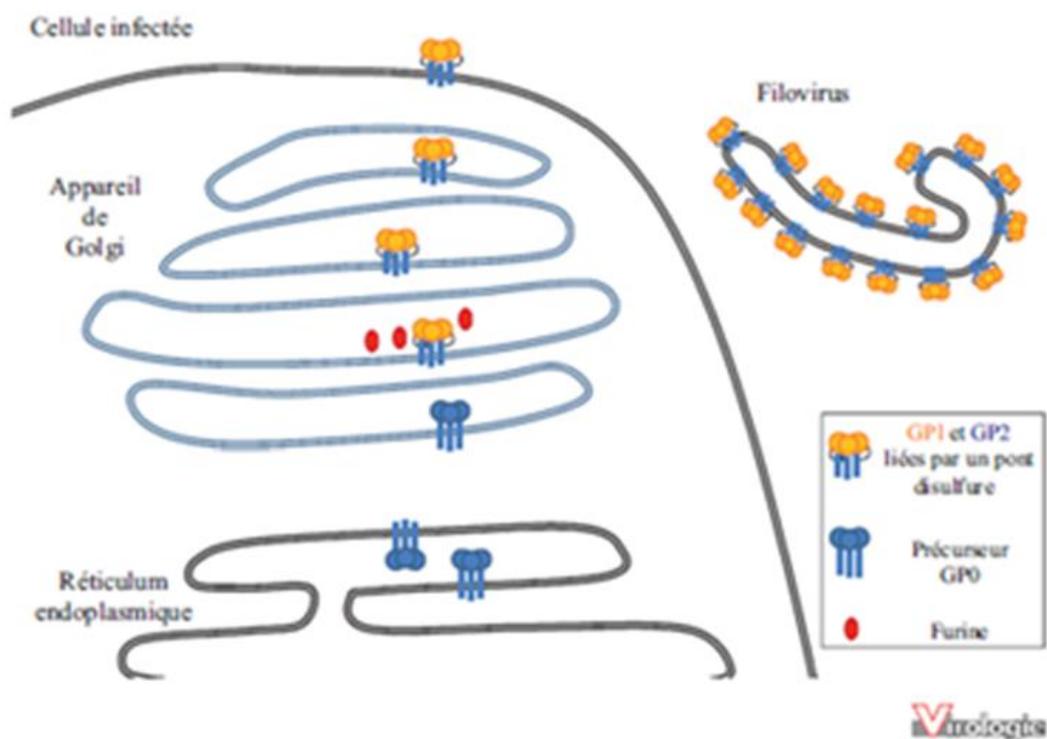
4.5. Transcription et traduction du matériel génétique viral

Une fois libéré, le brin d'ARN viral est transcrit par la polymérase en 8 ARN messagers qui sont par la suite coiffés et polyadénylés. Le gène GP est transcrit en ARNm. Cet ARNm est traduit ensuite en précurseur GP0, trimérique, ainsi qu'en une GP sécrétée (GPs), dimérique, non structurale, dans le réticulum endoplasmique granuleux. Cette GPs est libérée par la cellule infectée. Le précurseur GP0 rejoint quant à lui l'appareil de Golgi où il sera clivé par une protéase cellulaire de type furine en deux sous unités : une sous unité GP₁ de surface et une sous unité GP₂ transmembranaire, toutes deux liées de manière covalente par un pont disulfure (Figure 7). GP₁ et GP₂ forment la GP de surface, trimérique et membranaire. Celle-ci est ensuite clivée par une métallo protéase TACE (TNF- α converting enzyme), dans le cytoplasme, conduisant à la formation d'une glycoprotéine soluble. La GP soluble est structurellement identique à la GP de surface, mis à part que sa partie carboxy-terminale lui

a été retirée. Cette partie carboxy-terminale est constituée d'une petite queue cytoplasmique, de l'ancre membranaire et de 13 acides aminés (AA) situés en amont de cette ancre. La GP de surface et la GP soluble en découlant ont 295 AA amino terminaux en commun (Escudero-Pérez *et al.*, 2014). La traduction des autres protéines virales à lieu *via* les ribosomes (Francica *et al.*, 2010 ; Escudero-Pérez *et al.*, 2014).

Figure 7 : Formation de GP à partir de la maturation du précurseur GP0 (Côté et Cunningham, 2012)

La GP virale est synthétisée à partir du précurseur GP0. Ce dernier se trimérise et est clivé en deux sous-unités GP₁ et GP₂ dans l'appareil de Golgi. Cette association de GP₁ et GP₂ forme la GP de surface qui s'incorpore à la membrane de la cellule infectée et bourgeonne à sa surface.



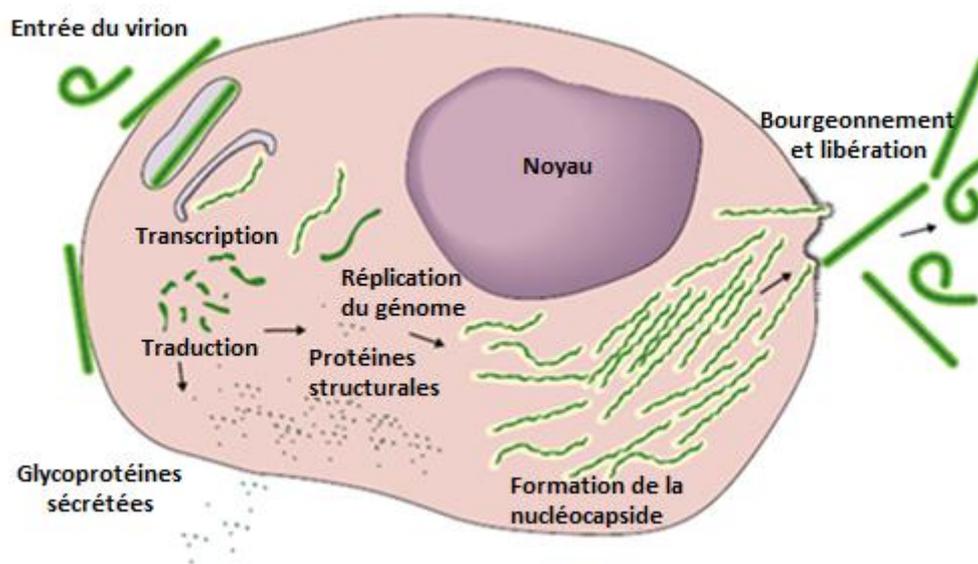
4.6. Réplication virale

Le matériel génétique est également répliqué en vue de former de nouveaux virions. La réplication est réalisée par un complexe enzymatique constitué de L/NP/VP30/VP35 et donne naissance à un brin d'ARN de polarité positive également appelé ARN anti génomique. Celui-ci sert de brin matrice pour la production de nouveaux ARN à polarité négative (Mahanty *et al.*, 2004 ; Reynard, 2008).

4.7. Assemblage et libération des nouveaux virions

Un brin d'ARN viral est associé à une ribonucléocapside, composée de nucléoprotéines et de la protéine virale VP24 issues de la traduction des ARNm viraux. Cet assemblage est facilité par la présence de protéines virales : la glycoprotéine GP et la VP40 (Mahanty et Bray, 2004 ; Reynard, 2008). Une fois formé, le virion sort de la cellule par bourgeonnement. La particule virale acquiert sa membrane lipidique lors du bourgeonnement. Le cycle du virus Ebola est présenté dans la figure 8.

Figure 8 : Le cycle du virus Ebola au sein de la cellule infectée (Mahanty et Bray, 2004)



5. Les protéines virales

Les protéines virales jouent un rôle important dans le cycle viral. Sept d'entre elles sont impliquées dans la structure du virion. Une autre protéine, non structurale, la GP, est sécrétée par la cellule infectée. La morphologie typique du virus Ebola est donc permise par l'assemblage de ces protéines virales.

La nucléocapside virale est composée de NP, VP35, L et VP30. La protéine NP est la protéine majeure du complexe ribonucléoprotéique (RNP) et permet l'encapsidation des ARN viraux lors de la transcription et de la réplication du virus Ebola. Elle jouerait également un rôle dans l'inhibition de la réponse immunitaire innée de l'hôte. En effet, des modèles murins ont montrés que des mutations touchant NP et VP24 rendraient le virus pathogène alors qu'il ne l'est pas initialement pour les souris. Cependant, le rôle joué par NP dans la réponse immunitaire demeure flou (Nakayama et Saijo, 2013). Une hypothèse serait que, associée avec VP35, la NP formerait un complexe NP-VP35 bloquant l'activation d'un

élément de réponse à la stimulation de l'IFN (ISRE) présent dans les promoteurs de nombreux gènes répondant à la stimulation de l'IFN de type I. Le complexe NP-VP35 s'opposerait donc à la réponse interféron de type I (Basler *et al.*, 2000 ; Russier, 2013).

La protéine virale VP35 participerait à la formation de la structure hélicoïdale des RNP. De plus, elle serait en interaction avec la protéine L et formerait le complexe VP35-L. VP35 serait un cofacteur de la polymérase virale L. Elle permettrait le recrutement de la polymérase sur l'ARN viral pour la transcription et la réplication. La VP35 inhiberait également l'action d'ARN interférents (ARNi). Ces ARN constituent un mécanisme de défense contre l'infection virale chez les mammifères. Lors d'une infection virale, les ARNi sont activés par la production d'ARN double brin viral. Les ARNi prennent pour cible les ARNm viraux et les détruisent, diminuant la traduction des protéines virales. Ils permettent donc de rendre un gène « silencieux ». En inhibant les ARNi, la protéine VP35 permet la traduction des ARN viraux et la survie du virus (Haasnoot *et al.*, 2007 ; Leroy *et al.*, 2011). La VP35 jouerait aussi le rôle d'antagoniste de la réponse interféron I (IFN α/β) par inhibition de la phosphorylation du facteur 3 de régulation de l'interféron (IRF-3) et de l'IRF-7 (Cárdenas *et al.*, 2006 ; Prins *et al.*, 2009 ; Leroy *et al.*, 2011). Elle serait également un antagoniste de l'activation de lymphocyte T (LT) CD4. La protéine L est l'ARN polymérase-ARN dépendante virale. Elle catalyse la synthèse des ARN génomiques et anti génomiques lors de la transcription et de la réplication. Elle met également en place la coiffe en position 5' des ARNm. En ce qui concerne la VP30, phosphorylée, elle serait impliquée dans la formation de la nucléocapside par interaction avec la protéine NP ; non phosphorylée, elle jouerait le rôle de facteur de transcription. Elle inhiberait également les ARNi (Leroy *et al.*, 2011). Les protéines NP, L et VP35 sont donc nécessaires à la réplication virale et NP/L/VP35/VP30 à la transcription (Reynard, 2008).

La glycoprotéine GP est codée par le quatrième gène du virus Ebola. Le premier cadre de lecture de ce gène code pour la GP_s, glycoprotéine non structurale et sécrétée. Celle-ci permettrait une meilleure réplication, une propagation du virus et permettrait de réguler la production de GP afin de la rendre moins toxique pour les cellules. Une autre hypothèse a été émise concernant son rôle de leurre pour le système immunitaire et de protecteur de l'endothélium vasculaire (Reynard, 2008). Comme vu précédemment, la GP de surface est issue d'un précurseur GP0. La GP est indispensable à l'attachement du virus, via GP₁, et la fusion des membranes virales et cellulaires, via GP₂. Les glycoprotéines solubles, issues du clivage de la glycoprotéine de surface par l'enzyme TACE, sont libérées par la cellule infectée et jouent un rôle important dans la pathogénicité du virus. La GP s'opposerait aux réponses immunitaires innée et adaptative de l'hôte, stimulerait la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et affaiblirait la barrière endothéliale de l'hôte. Les GP solubles se fixent aux Ac neutralisants et activent les cellules dendritiques et les macrophages à l'origine de la libération de cytokines pro et anti inflammatoires sur les macrophages et les Ac (Reynard, 2008 ; Escudero-Pérez, 2014). La protéine VP24 est codée par le sixième gène du génome. Il s'agit d'une protéine secondaire de matrice de par sa composition riche en AA hydrophobes et son incorporation dans les virions. La protéine VP24 jouerait un rôle dans le

bourgeoisement des virions. Elle inhiberait également la réponse antivirale $IFN\alpha/\beta$ et $IFN\gamma$. En effet, VP24 se fixerait à la karyophérine α_1 , empêchant la translocation nucléaire du facteur STAT1. Or ce dernier est nécessaire à la transcription des gènes codant pour les IFN (Reid *et al.*, 2006 ; Leroy *et al.*, 2011).

La protéine VP40 de la matrice est la plus abondante des virions. Recouvrant la face interne de l'enveloppe virale, elle permet la cohésion de la ribonucléocapside avec l'enveloppe. Elle assure ainsi l'intégrité structurale de la particule virale. La VP40 est également responsable de l'assemblage du virion et de son bourgeoisement (Reynard, 2008). Comme la VP30 et la VP35, elle inhiberait le « RNA silencing » (Leroy *et al.*, 2011).

Le génome du virus Ebola est constitué de peu de gènes mais chacun code pour une protéine jouant un rôle indispensable dans le cycle viral. Les fonctions de chaque protéine sont rappelées dans la figure 9 et le tableau 3.

Figure 9 : Déterminants de la pathogénicité du virus Ebola (inspiré de de Wit *et al.*, 2011)

Représentation schématique d'une particule du virus Ebola. Les rôles des protéines GP, NP, VP4 et VP35 dans la pathogénicité du virus sont présentés

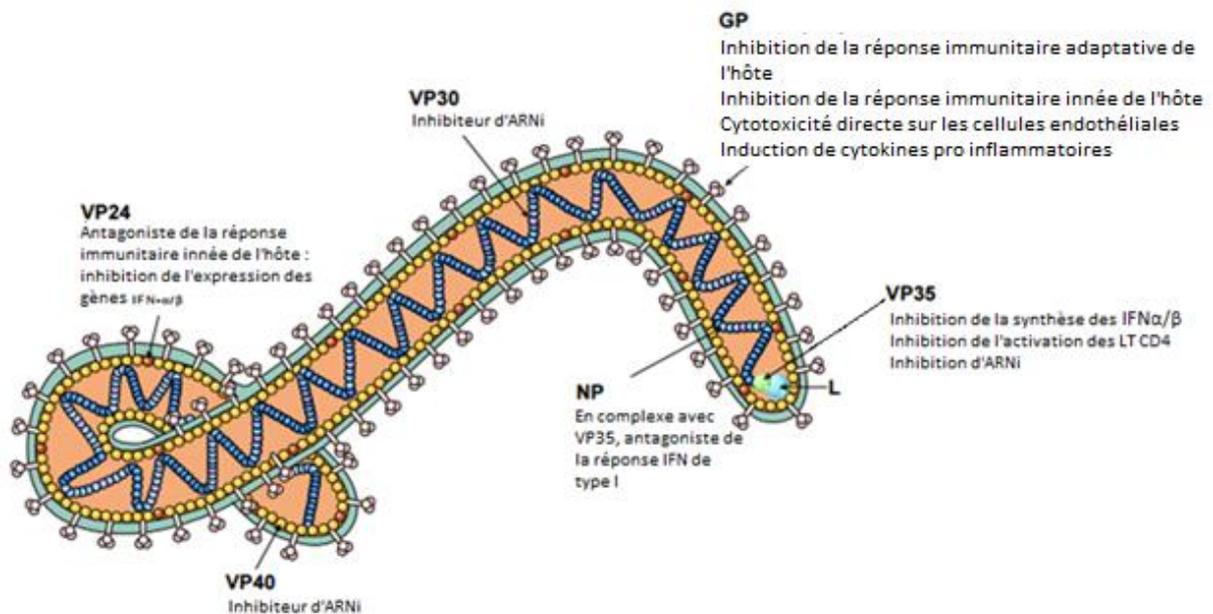


Tableau 3 : Tableau récapitulatif du rôle des protéines virales dans le cycle viral et la pathogénicité du virus Ebola

IFN : Interféron ; LT : lymphocyte T ; NP : nucléoprotéine, VP : protéine virale, GP : glycoprotéine

Structure de la particule virale	Protéine	Gène	Rôle dans le cycle viral (Reynard, 2008)	Rôle dans la pathogénicité (De Wit <i>et al.</i> , 2011; Leroy <i>et al.</i> , 2011 ; Reynard, 2008)
Nucléocapside	NP	1	Encapsidation des ARN viraux Réplication Transcription	Antagoniste de la réponse IFN de type I en complexe avec VP35
	VP35	2	Cofacteur de la polymérase L Réplication Transcription	Inhibition de la synthèse des IFN α/β Inhibition de l'activation des LT CD4 Inhibition du « RNA silencing »
	VP30	5	Phosphorylée : formation de la nucléocapside Non Phosphorylée : facteur de transcription	Inhibition du « RNA silencing »
	L	7	Transcription Réplication	
Matrice	VP24	6	Bourgeoisement des virions	Inhibition de la réponse antivirale IFN α/β et IFN γ par inhibition de l'expression des gènes des IFN α , β et γ
	VP40	3	Intégrité structurale Assemblage des virions Bourgeoisement	Inhibition du « RNA silencing »
Enveloppe virale	GP	4	Attachement du virus Fusion des membranes virales et cellulaires	Opposition à la réponse immunitaire adaptative de l'hôte Opposition à la réponse immunitaire innée de l'hôte Perméabilité de la barrière endothéliale Induction de cytokines pro inflammatoires
Protéines non structurales	GP soluble	4		Perméabilité de la barrière endothéliale Induction de cytokines pro inflammatoires et dérèglement de la réaction inflammatoire par activation des cellules dendritiques et des macrophages
	GP sécrétée	4	Optimisation de la réplication virale Régulation de la production de GP	Leurre pour le système immunitaire Protection de l'endothélium vasculaire

II- Les maladies dues au virus Ebola

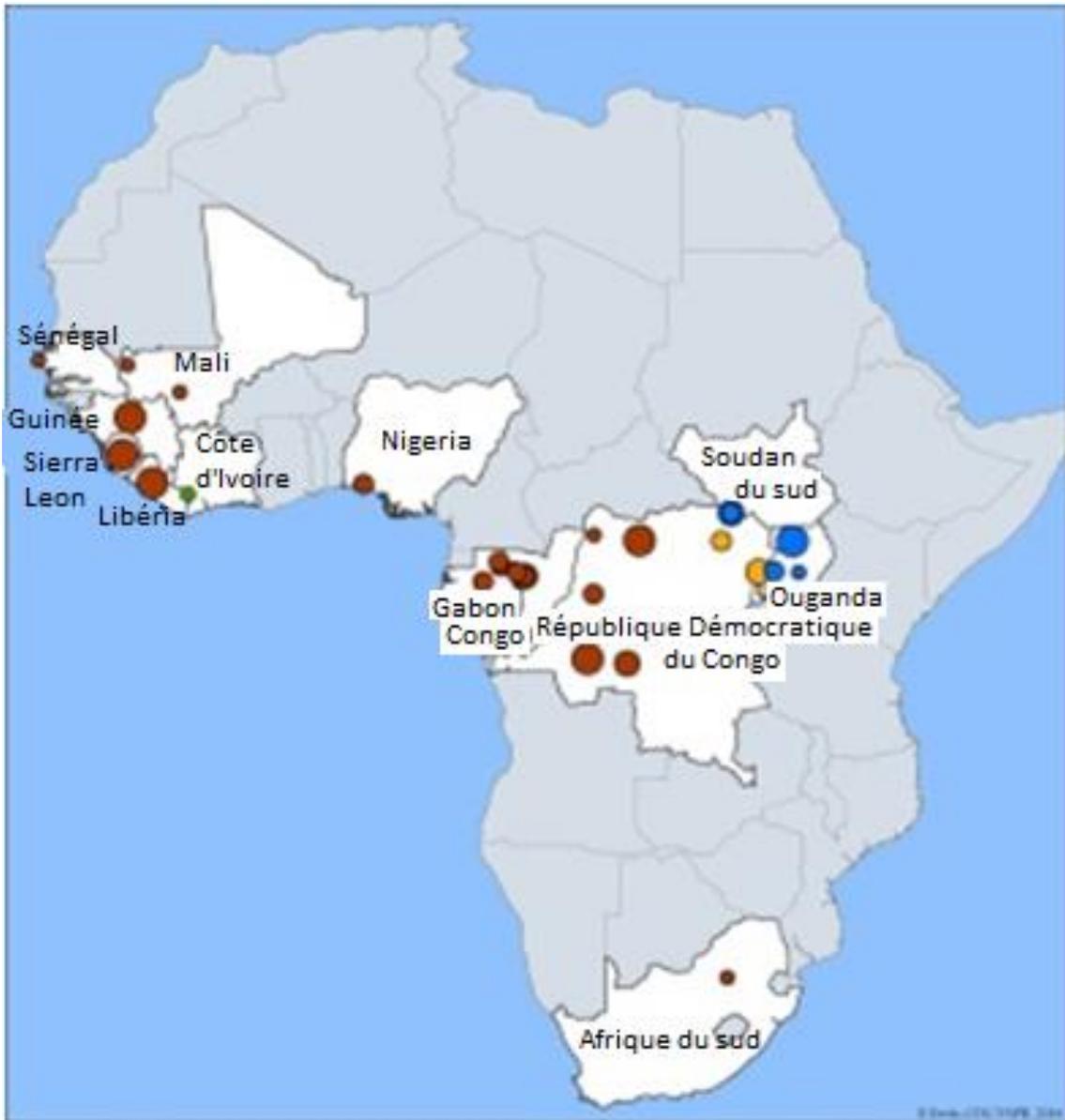
1. Epidémiologie

1.1. Descriptive

1.1.1. La maladie à virus Ebola sur le continent Africain

Parmi les cinq espèces de virus Ebola connues à ce jour, quatre sont présentes sur le continent africain : EBOV, SUDV, TAFV et BDBV. La répartition connue à ce jour correspond le plus souvent aux lieux où des épidémies de maladie à virus Ebola ont déjà eu lieu, chez l'Homme et/ou chez les primates (ce qui ne préjuge pas de l'aire de répartition réelle des virus). En effet, la maladie à virus Ebola est une maladie touchant, en Afrique, surtout les primates non humains et les humains, chez qui elle provoque une fièvre hémorragique souvent sévère. La sévérité de cette maladie a été à l'origine de déclin au sein des populations de la faune sauvage africaine, notamment des PNH, ainsi que d'épidémies humaines, ce qui a permis de révéler la circulation du virus en Afrique (Leroy *et al.*, 2004a ; Bermejo *et al.*, 2006). L'Homme se contaminerait à partir d'animaux infectés, cependant, la source animale n'est pas toujours facile à identifier. Il s'agit d'une zoonose induisant une mortalité élevée chez l'homme. Comme déjà précisé, elle a été découverte pour la première fois en 1976 en Afrique Centrale. Deux épidémies d'EBOV sont apparues simultanément en RDC et au Soudan, non loin de la rivière Ebola qui a donné son nom à la maladie. De nombreuses flambées se sont succédées depuis l'apparition de la maladie en 1976 jusqu'à l'épidémie actuelle touchant l'Afrique de l'Ouest (« OMS | Maladie à virus Ebola », s. d. ; Zhang et Wang, 2014). La carte d'Afrique présentée ci-dessous (Figure 10) illustre les flambées de maladie à virus Ebola connues à ce jour, avec les espèces qui leur sont associées et leur ampleur approximative en nombre de cas humain reportés. Aucun foyer n'a été déclaré en 15 ans entre 1979 et 1994, bien que des anticorps (Ac) aient été retrouvés chez des humains durant cette période. La fréquence des flambées a augmenté après les années 2000. A l'heure actuelle, 15 épidémies de maladie à virus Ebola ont été répertoriées (ANSES, 2014 ; Pigott *et al.*, 2014 ; Zhang et Wang, 2014). L'annexe 1 présente une frise chronologique des flambées de la maladie à virus Ebola, depuis sa découverte à ce jour.

Figure 10 : Carte de distribution des flambées de maladie à virus Ebola ayant eu lieu en Afrique de 1976 à 2014, par espèce et par taille (CDC, Carte de distribution de la maladie à virus Ebola)



Flambées de maladie à virus Ebola par espèce et par taille, de 1976 à 2014

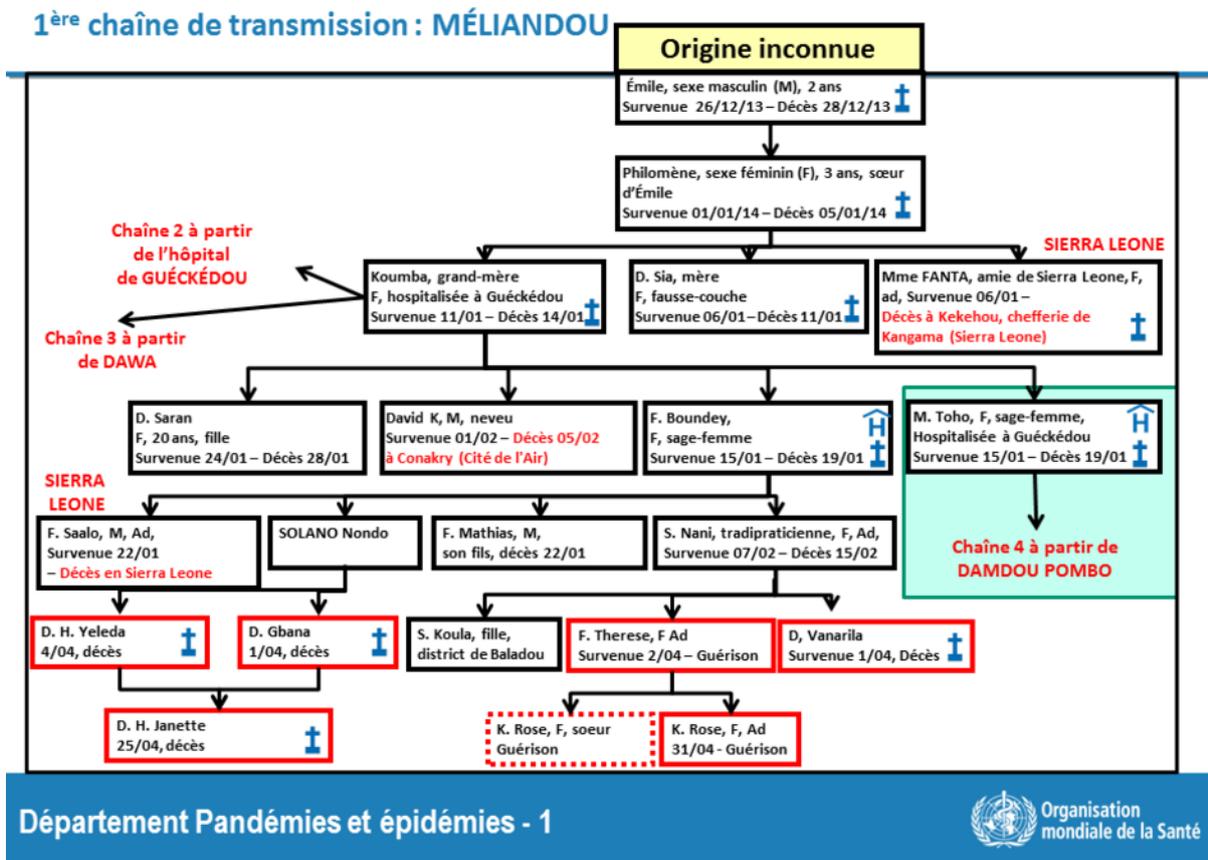
Espèces	Nombre de cas
● Zaire ebolavirus	○ 1 - 10
● Sudan ebolavirus	○ 11 - 100
● Tai Forest ebolavirus	○ 101 - 300
● Bundibugyo ebolavirus	○ plus de 300



L'épidémie apparue en décembre 2013 en Afrique de l'Ouest et sévissant encore actuellement de façon résiduelle est la plus grave, la plus longue et la plus complexe découverte à ce jour. Elle se démarque des autres flambées en termes de nombre de cas reportés, d'étendue géographique et de complexité. En effet, cette flambée a causé plus de cas que toutes les flambées réunies (Annexe 2). De plus, alors que les précédentes flambées ont eu lieu en Afrique Centrale, cette épidémie a sévi essentiellement en Afrique de l'Ouest. Elle présente également la particularité de s'être étendue au-delà des frontières du pays initialement touché. D'abord apparue en Guinée, elle s'est propagée en Sierra Leone et au Libéria, *via* les frontières terrestres, ainsi qu'au Nigéria (*via* un voyageur circulant par voie aérienne) et au Sénégal (*via* un voyageur arrivé par voie terrestre). Des cas ont également été importés en Amérique et en Europe (Espagne, France, Angleterre) (ANSES, 2014). Cette flambée s'est propagée très rapidement et de manière incontrôlée. L'épidémie est apparue dans un village de Méliandou en Guinée après le décès d'un garçon de 18 mois, en décembre 2013, deux jours après l'apparition de symptômes de fièvre hémorragique (fièvre, selles noires, vomissements). Les membres de la famille du cas index⁶ ainsi que du personnel médical et des guérisseurs traditionnels ont rapidement été contaminés, permettant la propagation du virus dans d'autres villages puis d'autres pays. Lorsque l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a annoncé officiellement l'épidémie à virus Ebola en mars 2014, le virus s'était déjà propagé de manière importante. Cette région d'Afrique n'avait jamais été confrontée au virus, qui se cantonnait plutôt à l'Afrique Centrale (à l'exception du cas ayant conduit à la découverte de TAFV, qui n'a pas été mortel), par conséquent le personnel de santé n'était pas préparé et était peu formé pour réagir à une telle épidémie. De plus, les symptômes peu spécifiques de la maladie, couplés à l'existence de maladie aux symptômes similaires et plus fréquentes dans cette zone (choléra, paludisme, fièvre de Lassa...) ont rendu le diagnostic de la maladie plus difficile et tardif, permettant au virus de se propager librement (« OMS | Une année d'épidémie d'Ebola », s. d.). L'étude rétrospective menée par le Dr Pierre Formenty, expert de l'OMS, a enfin permis d'identifier le cas index et de déterminer comment celui-ci a favorisé la propagation du virus dans d'autres villages. Cette étude a ainsi révélé la complexité et la gravité de cette épidémie (Figure 11) (« OMS | Tout a commencé en Guinée », s. d.).

⁶ Le cas index est la première personne d'une épidémie à avoir été contaminée

Figure 11 : Première chaîne de transmission de l'épidémie actuelle de maladie à virus Ebola à Méliandou (« OMS | Tout a commencé en Guinée », s. d.)



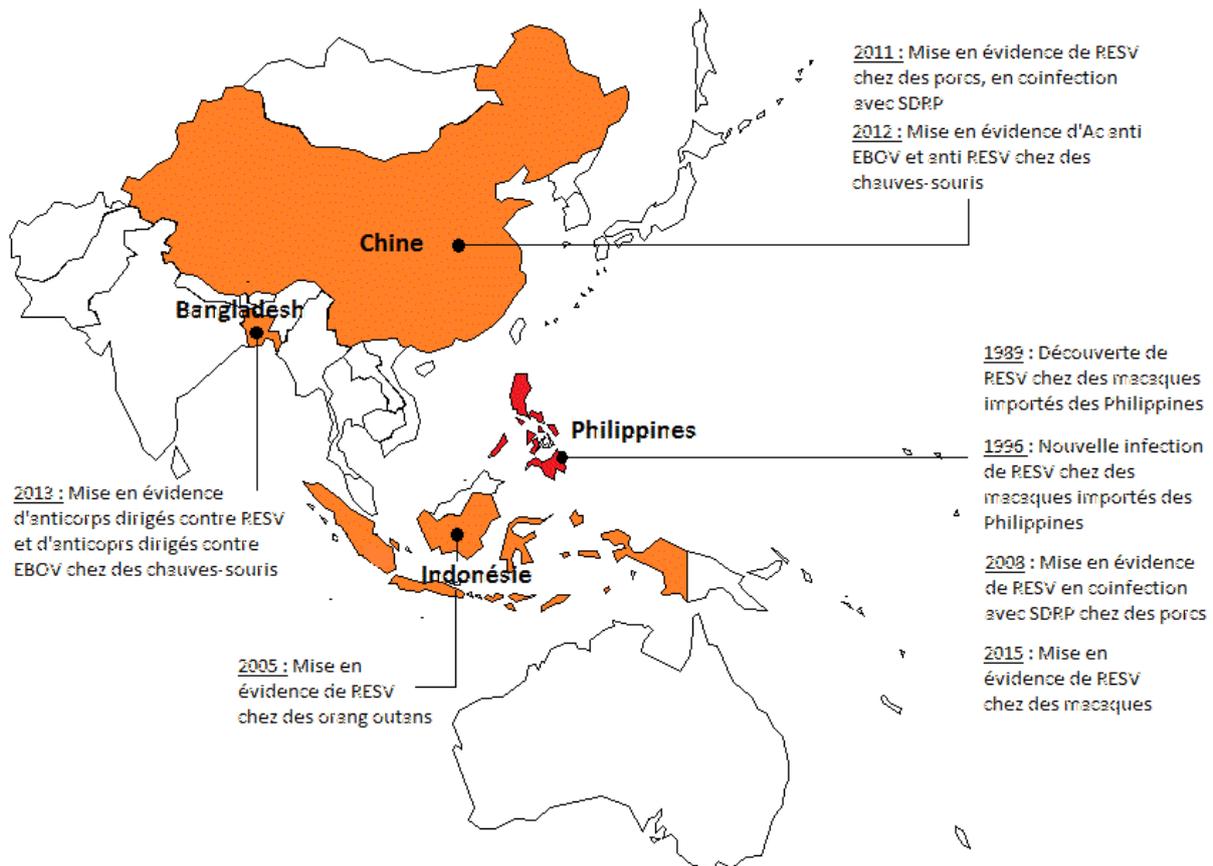
1.1.2. La maladie à virus Ebola sur le continent Asiatique

La cinquième espèce de virus Ebola, RESV, a été découverte en 1989, chez des macaques importés aux Etats-Unis depuis les Philippines, et ayant déclaré des symptômes de fièvre hémorragique. Cette espèce de virus Ebola a également été retrouvée en 1996, aux Etats-Unis et en Italie, chez des macaques, toujours importés des Philippines (Rollin *et al.*, 1999 ; Leroy *et al.*, 2011). RESV a été une nouvelle fois identifié chez des porcs présentant un syndrome respiratoire et coinfected par le virus Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP) en 2008, aux Philippines, et en 2011 en Chine (Barrette *et al.*, 2009 ; Pan *et al.*, 2014). Une séroconversion a également été mise en évidence chez des orang-outang en Indonésie, sans signes cliniques associés (Nidom *et al.*, 2012). Enfin, RESV a été mis en évidence chez des chauves-souris en Chine (Yuan *et al.*, 2012) et au Bangladesh (Olival *et al.*, 2013). Ces découvertes successives d'infection par RESV prouvent que le virus Ebola circule sur le continent asiatique (Figure 12). Néanmoins, à l'heure actuelle, aucun cas humain dû à RESV n'a été détecté. Il s'agit donc la seule espèce connue de virus Ebola pathogène pour les

PNH mais non pathogène pour l'Homme malgré la mise en évidence d'une séroconversion (Rollin *et al.*, 1999).

En ce qui concerne les autres espèces de virus Ebola, des Ac anti-EBOV ont été mis en évidence chez des chauves-souris au Bangladesh et en Chine (Yuan *et al.*, 2012 ; Olival *et al.*, 2013).

Figure 12 : Mise en évidence de RESV en Asie du sud-est



Les épidémies à virus Ebola sont donc restées cantonnées en Afrique hormis de rares cas importés en Amérique et en Europe. Le virus a été découvert en Asie mais n'a pas engendré de cas humains. La sévérité de la dernière, et actuelle, flambée de maladie à virus Ebola, ses caractéristiques géographiques et sa capacité de propagation rendent d'autant plus cruciale la nécessité d'étudier les caractéristiques épidémiologiques de l'infection par ce virus.

1.2. Analytique et synthétique

1.2.1. Le cycle épidémiologique des *Filoviridae*

D'après la saisine de l'ANSES (2014), le cycle naturel des *Filoviridae* comprendrait quatre étapes :

Etape 1 : Par similarité avec le virus Marburg, des chiroptères seraient porteurs asymptomatiques de virus Ebola et constitueraient le **réservoir naturel** du virus (Towner *et al.*, 2009). Cette circulation à bas bruit du virus au sein de populations de chauves-souris contribuerait à la survie et à la propagation du virus. Infectés de façon inapparente, ils dissémineraient le virus *via* leurs déjections ou *via* leurs fluides biologiques.

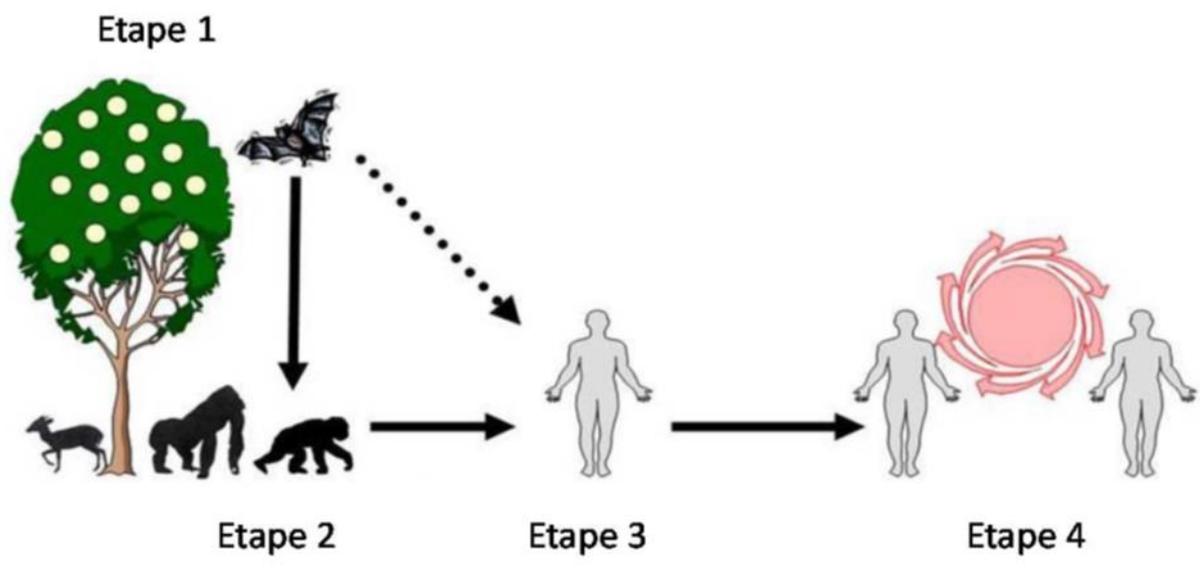
Etape 2 : Des chiroptères infectés par le virus Ebola pourraient contaminer directement (déjections, contacts étroits avec du sang ou des organes infectés de chiroptères lors de la chasse/consommation de proies) ou indirectement (fruits contaminés) d'autres espèces d'animaux sauvages comme les primates non humains ou d'autres singes. Ceux-ci constitueraient alors des **hôtes relais amplificateurs** du fait de leur sensibilité très élevée au virus Ebola, notamment EBOV. D'autres mammifères comme les céphalophes pourraient représenter une source de contamination pour l'homme.

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, de la préparation voire de la consommation de produits de chasse (chiroptères ou hôtes relais) insuffisamment cuits. Une contamination indirecte est possible à partir des fruits contaminés par des liquides biologiques (salive, déjections, sang, sécrétions génitales post-partum...) des chiroptères.

Etape 4 : Une transmission interhumaine pourrait avoir lieu par contact direct avec des liquides biologiques (sang, selles lors de diarrhée, 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 souillé...)

Figure 13 : Cycle biologique naturel supposé des virus de la maladie d'Ebola (OMS, 2014)
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/130161/1/WHO_HSE_PED_CED_2014.05_fre.pdf

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



Suite à l'identification de ce cycle épidémiologique, il convient de se questionner sur le rôle qu'y jouent différentes espèces animales incriminées. Par ailleurs, d'autres espèces, en particulier les espèces domestiques proches de l'homme, ne sont-elles pas susceptibles de jouer un rôle dans le cycle du virus Ebola ? La connaissance du rôle joué par les espèces animales pourrait permettre de mieux appréhender les circonstances de la contamination humaine et les facteurs de risques associés.

1.2.2. Notion d'hôte relai amplificateur

D'après le cycle épidémiologique du virus, les Hommes se contamineraient auprès d'une source animale, cette source pouvant être le réservoir lui-même ou un hôte relai amplificateur.

Dans le cadre de l'hypothèse de l'existence d'hôtes relais amplificateurs dans le cycle épidémiologique du virus Ebola, l'Homme se contaminerait à partir d'animaux hébergeant le virus (hôte relais) eux-mêmes infectés à partir d'un hôte réservoir. Cet hôte relais, très sensible, transmettrait facilement et rapidement le virus à d'autres animaux de la même espèce ou non, à l'origine d'épizooties⁷. L'hôte relais permet donc une amplification de la circulation du virus au sein de la population animale. Il s'agit également d'une interface entre les animaux et l'Homme puisqu'il peut être à l'origine d'une transmission zoonotique.

⁷ Maladie dont l'évolution est brutale au sein d'une population animale

La transmission interhumaine est alors facile et s'amplifie du fait de la haute sensibilité de l'Homme au virus Ebola et sa capacité d'excrétion du virus. A partir de ce cas index humain, c'est-à-dire le premier cas humain infecté, la transmission interhumaine est rapide et peut aboutir à une épidémie. Les espèces amenées à être en contact avec l'homme et capables d'excréter le virus en grande quantité seraient les plus à même de jouer ce rôle d'hôte relais amplificateur, notamment les primates non humains qui s'avèrent être très sensibles à la maladie mais d'autres animaux, sauvages ou domestiques, figurent dans la liste des hôtes relais potentiels. La mise en évidence d'une forte mortalité au sein de populations animales, précédant des cas humains de maladie à virus Ebola a permis de placer en première ligne certaines espèces animales comme hôtes relais amplificateurs. Cependant, bien que ce dernier soit moins proche de l'Homme, une transmission du virus sans intermédiaire constitué par une autre espèce animale reste possible entre le réservoir et l'Homme, comme le prouve la flambée actuelle qui aurait vraisemblablement débuté par un contact avec des déjections de chauves-souris, réservoir présumé du virus Ebola.

1.2.2.1. Primates non humains

Le taux élevé de mortalité, le déclin des populations de grands singes ainsi que les preuves de maladie à virus Ebola parmi ces populations en font des hôtes relais amplificateurs idéals. Plusieurs épidémies de maladie à virus Ebola chez les hommes ont pu être reliées à une source animale et en particulier à des PNH (Annexe 3). Ainsi, le premier PNH à l'origine de cas humains a été identifié en 1994 lorsqu'un scientifique s'est infecté en réalisant une autopsie sur un cadavre de chimpanzé. En 1996, une épidémie a eu lieu à partir de la consommation d'une carcasse de chimpanzé. La même année, une carcasse de chimpanzé infectée a été retrouvée non loin du lieu de vie d'un cas index. Les épidémies ayant eu lieu successivement de 2001 à 2003 au Gabon et en République du Congo (RC) ont démarré à partir d'un contact avec une carcasse de grand singe ou d'un autre animal sauvage (Groseth *et al.*, 2007). Le déclin de certaines populations d'animaux sauvages a pu être observé après l'épidémie ayant eu lieu en 2001 en RDC (Tableau 4). L'infection virale aurait été à l'origine de la mort d'environ 5000 gorilles (3500 au minimum), réduisant la densité de la population de gorilles en RDC de près de 56 % après la flambée et celle de chimpanzés de 89 % (Leroy *et al.*, 2004a ; Bermejo *et al.*, 2006).

Tableau 4 : Estimation de la densité des populations de gorilles, chimpanzés et céphalophes avant (2000) et après (2003) l'épidémie de maladie à virus Ebola, dans un sanctuaire de RDC (Leroy *et al.*, 2004a)

Animal	Indices/km en 2000	Indices/km en 2003	Taux de réduction (%)
Gorilles	1,69	0,74	56
Chimpanzés	0,28	0,03	89
Céphalophes	4,72	2,22	53

Ce déclin des populations a été corrélé avec une hausse de la morbidité et de la mortalité chez de nombreuses espèces de singes et chez le céphalophe. Un grand nombre de carcasses d'animaux a été découvert juste avant et pendant l'épidémie de 2001. Entre août 2001 et juin 2003, 98 carcasses ont été découvertes dont 50 gorilles, 15 chimpanzés et six singes d'espèces variées (Leroy *et al.*, 2004a ; Rouquet *et al.*, 2005 ; Lahm *et al.*, 2007). De 1994 à 2001 ce sont 397 carcasses qui ont été reportées dont 95 gorilles, 75 mandrills, 35 chimpanzés et 87 singes d'espèces variées. Les trois principales espèces concernées par une hausse de morbidité et de mortalité sont regroupées dans l'annexe 5. Ceci est d'autant plus surprenant qu'il est normalement très rare de retrouver des carcasses d'animaux sauvages dans cette région. Celles-ci se décomposent rapidement du fait des conditions climatiques (humidité, chaleur) ou sont consommées par les nombreux prédateurs. Il est intéressant de constater que la présence d'un nombre non négligeable de carcasses et le déclin des populations de gorilles et de chimpanzés précèdent souvent une épidémie humaine. Par exemple, au Gabon, des villageois ont commencé à retrouver des carcasses d'animaux en août 2001 et les premiers cas humains ont été identifiés en octobre de la même année. Les épidémies qui ont suivi ont affecté à la fois les humains et les animaux (Lahm *et al.*, 2007).

Des études sérologiques menées par Leroy *et al.* (2004b) sur des PNH au Cameroun, au Gabon et en République du Congo (RC) ont confirmé la réceptivité des PNH au virus Ebola (Tableau 5). Des IgG ont été retrouvés chez 14,3 % des animaux échantillonnés en RC (5/35) contre 10,3 % au Cameroun (31/300) et 1,1 % au Gabon (3/283). En raisonnant par espèce, des IgG ont été retrouvées chez 12,9 % des chimpanzés échantillonnés (29/225), 6,7 % des gorilles (2/30) et 4,0 % des babouins (1/25). Des IgG ont également été retrouvées chez des cercopithèques et des mandrills. Une grande variété de PNH est donc réceptive au virus Ebola, et certaines y sont très sensibles, notamment les chimpanzés et les gorilles. Des recherches par PCR, capture antigénique, immunohistochimie et la recherche d'IgG ont également été menées à partir des muscles, des os et de la moelle osseuse de carcasses de dix gorilles et trois chimpanzés, retrouvées au Gabon et en RDC (Annexe 5). Sur les dix carcasses de gorille échantillonnées, neuf ont fourni un résultat positif au test PCR, cinq à la recherche d'Ag et trois au test immunohistochimique. Concernant les carcasses de chimpanzés, des Ag ont été retrouvés dans les trois carcasses. De plus une carcasse sur les trois échantillonnées a fourni un résultat positif au test PCR et un test immunohistochimique

a été réalisé sur deux des trois carcasses, avec un résultat positif pour l'une d'entre elles. Ces résultats viennent confirmer l'infection par le virus Ebola. De plus, cela confirme l'hypothèse selon laquelle les épisodes de forte mortalité et le déclin des populations, au Gabon et en RDC, entre 2001 et 2003, seraient dus à une épidémie à virus Ebola au sein de ces espèces (Leroy *et al.*, 2004b). Leurs très fortes réceptivité et sensibilité au virus expliqueraient cette forte létalité, d'autant plus que des témoins ont décrit des symptômes chez des animaux moribonds ou mourants (vomissements, diarrhée, perte de poils, émaciation, des hémorragies au niveau des narines) durant cette même période (Lahm *et al.*, 2007). Des traces d'infection par le virus ont été retrouvées chez des macaques importés des Philippines aux Etats-Unis en 1989. Le virus concerné était cependant différent d'EBOV découvert en Afrique. L'espèce RESV a été ainsi découverte. RESV s'est avéré être très létal pour les macaques mais n'a jamais provoqué de cas humains bien que des séroconversions aient été décrites (Rollin *et al.*, 1999). Cette étude confirme la réceptivité et la sensibilité de certains PNH à diverses espèces de virus Ebola. Néanmoins, une étude menée par Nidom *et al.* (2012) a mis en évidence une séroprévalence élevée chez des orangs outan en Indonésie sans signes cliniques.

Tableau 5 : Séroprévalence d'IgG anti-Ebola chez des primates non humains en Afrique Centrale (Leroy *et al.*, 2004b)

Famille, groupe, genre	Nombre d'animaux séropositifs / Nombre d'animaux total			Total (%)
	Cameroun	Gabon	République du Congo	
<i>Cercopithecidae</i>				
<i>Cercopithecinae</i>				
<i>Cercopithecus</i>	1/74	0/33		1/107 (0,9)
<i>Papionini</i>				
<i>Papio</i>	1/25			1/25 (4,0)
<i>Mandrillus</i>	6/52	0/163		6/215 (2,8)
<i>Cercocebus</i>	0/13	0/3		0/16 (0,0)
Total	7/90	0/166		7/256 (2,7)
<i>Pongidae</i>				
<i>Gorille</i>	2/17	0/13		2/30 (6,7)
<i>Pan</i>	21/119	3/71	5/35	29/225 (12,9)
Total	31/300	3/283	5/35	39/618 (6,3)

Les populations de PNH en Afrique centrale pourraient donc être infectées brutalement par le virus Ebola. Le taux élevé de létalité participerait à leur déclin lors d'épisodes à virus Ebola. Cette forte sensibilité des PNH au virus Ebola, tout au moins aux virus EBOV et SUDV, ajouté au fait que le déclin de leurs populations précède des épidémies humaines et que de nombreuses sources d'infection humaine soient des PNH, sont en faveur du rôle d'hôte relais amplificateur joué par les PNH, plus que d'un rôle de réservoir (Groseth *et al.*, 2007 ; Nidom *et al.*, 2012).

1.2.2.2. Autres animaux sauvages

De la même manière, l'observation d'une augmentation de la mortalité et du déclin de populations d'autres animaux sauvages, notamment les céphalophes, et des preuves d'infection par le virus Ebola, ont placé ces animaux au rang de source de contamination possible pour l'homme. Leroy *et al.* (2004a) ont montré que les populations de céphalophes ont été réduites de 53 % entre 2000 et 2003 en RDC, c'est-à-dire après l'épidémie de maladie à virus Ebola (Tableau 4). Lahm *et al.* (2007) ont de leur côté mis en évidence que les céphalophes, avec d'autres espèces sauvages autres que les PNH (sitatunga, potamochère, porc-épic...), figurent parmi les espèces concernées par une hausse de morbidité et de mortalité au Gabon et en RDC de 1994 à 2005 (Annexe 4). Des carcasses de 17 céphalophes, 3 sitatungas, 64 potamochères, 20 porcs-épics et une civette ont été retrouvés de 1994 à 2001. Entre août 2001 et juin 2003, ce sont 14 carcasses de céphalophes et 13 carcasses d'autres animaux sauvages qui ont été retrouvées (Rouquet *et al.*, 2005 ; Lahm *et al.*, 2007). De plus, la recherche d'IgG et des tests PCR ont été entrepris sur des échantillons d'os de deux carcasses de céphalophe (Annexe 5). Une de ces deux carcasses a fourni un résultat positif au test PCR, suggérant une infection possible par le virus Ebola.

EBOV a été retrouvé chez des carcasses de rongeurs sauvages (*Mus setulosus*, *Praomys* sp1 et *Praomys* sp2) et une espèce de musaraigne (*Sylvisorex ollula*), en République Centrafricaine (Morvan *et al.*, 1999 ; Olson *et al.*, 2012 ; Mekibib et Ariën, 2016). Lors de l'échantillonnage des animaux, aucun d'entre eux ne présentait de signes cliniques. Des séquences nucléotidiques du virus, en particulier de sa GP et de sa polymérase ont été retrouvées dans des organes (rate, foie et rein) de plusieurs animaux par RT-PCR et par PCR (Tableau 6). Des gènes de la GP ont été retrouvés chez deux animaux : le premier identifié sous le numéro R13452 (*M. setulosus*), le second identifié sous le numéro NC76 (*Praomys* sp. 2). Des gènes de la polymérase ont été retrouvés chez cinq d'entre eux. NC76 a été testé positivement à la fois pour la recherche de gène de la GP et de la polymérase. Virus vivant ou Ag viraux n'ont pas été détectés (Morvan *et al.*, 1999).

Tableau 6 : Détection de fragments de gènes viraux dans l'ADN et l'ARN d'organes de sept petits mammifères (Morvan *et al.*, 1999)

^a Réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse (RT-PCR) sur des extraits d'ARN utilisant des amorces ciblant les gènes de glycoprotéine (GP) ou de polymérase (POL). Les amplicons⁸ ont été détectés par électrophorèse et coloration au bromure d'éthidium (coloration EB) ou par hybridation avec des sondes radio marquées (Southern-blot).

^b Réaction en chaîne par polymérase (PCR) sur des extraits d'ADN d'organes. Les amplicons ont été détectés par coloration au bromure d'éthidium (EB) après électrophorèse sur gel d'agarose.

NT = non testé

Identification	Organe	RT-PCR ^a				PCR ^b	
		Coloration EB		Southern-blot		GP	POL
		GP	POL	GP	POL		
NC76	Rate	+	-	+	+	NT	NT
R13154	Foie	-	-	-	+	NT	NT
	Rein	-	-	-	+	NT	NT
R13204	Rate	-	-	-	+	NT	NT
R13208	Rate	-	-	-	+	NT	NT
R13452	Foie	-	-	+	-	-	-
	Rein	-	-	+	-	-	-
	Rate	-	-	NT	NT	+	-
R13459	Foie	-	-	-	NT	NT	-
R18857	Rate	-	+	-	+	-	-

Cette étude montre donc la réceptivité de certains rongeurs au virus Ebola en conditions naturelles et atteste d'un contact avec EBOV. Des traces d'ARN viral ont été retrouvées à partir d'extraits d'ARN et d'ADN issus de ces animaux (Morvan *et al.*, 1999).

Bien que les primates non humains soient présents en première ligne, d'autres animaux sauvages pourraient donc jouer le rôle d'hôte relais amplificateur dans le cycle épidémiologique du virus Ebola.

1.2.2.3. Des animaux domestiques comme hôtes relais ?

Suite à l'identification d'espèces sauvages comme hôtes relais amplificateurs, des études se sont portées sur le rôle que pourraient jouer les animaux domestiques proches de l'Homme, notamment les chiens et les porcs. Une analogie faite avec les *Henipavirus* a poussé les chercheurs à s'intéresser aux animaux domestiques. Ainsi, au sein de la famille des *Paramyxoviridae*, les *Henipavirus*, également zoonotiques, affectent des espèces domestiques comme le porc (virus Nipah) et le cheval (virus Hendra), dont le rôle d'hôtes relais a été démontré. Les carnivores domestiques seraient également des hôtes potentiels pour ce virus. Ainsi, le virus Nipah est capable d'infecter le chien ainsi que le chat, et le virus

⁸ Les amplicons sont des fragments d'ARN ou d'ADN amplifiés respectivement par RT-PCR ou PCR

Hendra le chien (ANSES, 2014). La possibilité que le virus Ebola, appartenant au même ordre, puisse infecter des espèces domestiques, mérite donc d'être étudiée.

1.2.2.3.1. Les chiens

Plusieurs arguments suggèrent que les chiens pourraient jouer un rôle d'hôte relais. Certaines sources d'épidémie humaine en Afrique n'ont pas encore été identifiées alors que la possibilité d'infection à partir de PNH, de chauves-souris ou d'un humain a été exclue. Ceci suggère l'existence d'une autre source inconnue, comme le chien (Allela *et al.*, 2005). Ainsi, les travaux menés par Allela *et al.*, en 2005, ont mis en évidence la réceptivité des chiens au virus Ebola en montrant la présence d'IgG dirigés contre le virus Ebola chez des chiens en Afrique. A partir de prélèvements sanguins, ils ont étudié les taux de prévalence d'IgG anti Ebola chez des chiens de plusieurs villes et villages du Gabon où des épidémies ont eu lieu entre 2001 et 2002 (Tableau 7). Cette étude a été réalisée un an après la fin de l'épisode humain (Leroy, communication personnelle) et publiée trois à quatre ans après. A Libreville et Port Gentil, deux grandes villes situées à 600km de la région épidémique, la séroprévalence était alors de 8,9 % (7/79). A Mekambo, la séroprévalence était de 15,2 % (15/99). Enfin, la prévalence dans les villages de la région épidémique atteignait 25,2 % (40/159). La séroprévalence de l'infection chez les chiens servant de témoins négatifs (bruit de fond), échantillonnés en France était de 2 % (2/102).

Tableau 7 : Taux de séroprévalence (IgG spécifiques du virus Ebola) chez des chiens domestiques de différentes zones du Gabon (Allela *et al.*, 2005)

Caractéristiques de la zone ou du village	Nombre total	Nombre de résultats positifs	Séroprévalence* (%)	Intervalle de confiance à 95 % (%)
France	102	2	2	0,2-6,9
Villes principales (Libreville et Port Gentil)	79	7	8,9	3,6-17,4
Mekambo	99	15	15,2	8,7-23,8
Zone d'épidémie de maladie à virus Ebola (villages)	159	40	25,2	18,6-32,6
Villages avec des cas humains	92	25	27,2	18,4-37,4
Villages sans cas humains	67	15	22,4	13,1-34,2
Villages avec des cas humains et avec une source animale identifiée	66	21	31,8	20,9-44,4
Villages avec des cas humains, sans source animale identifiée	26	4	15,4	4,4-34,9

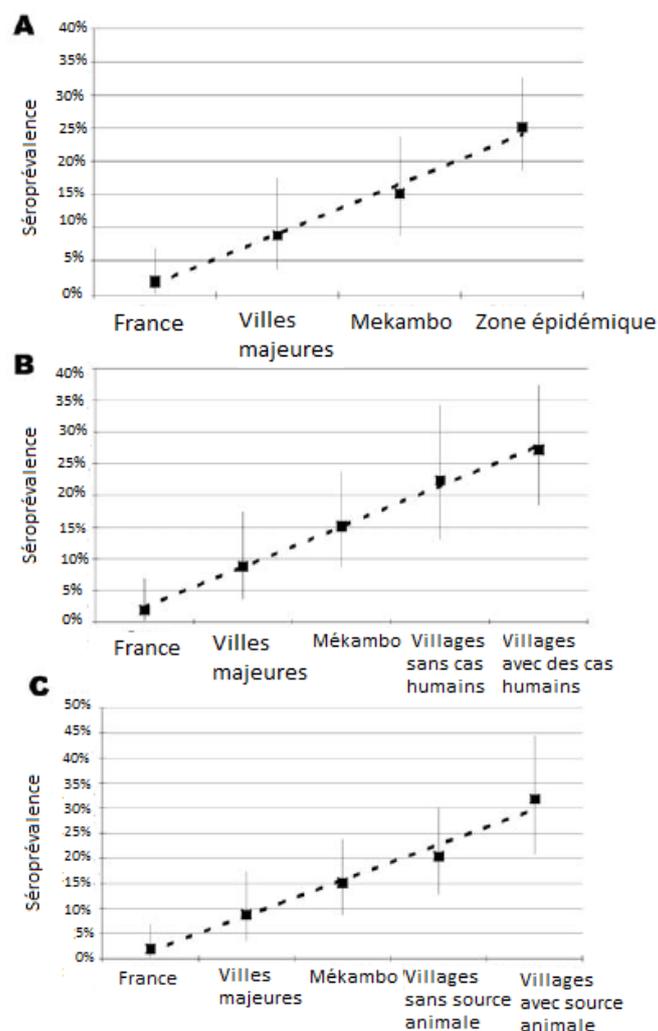
*Taux de séroprévalence sont comparés en utilisant un test de Fisher avec un degré de confiance de 0,05

Les courbes de séroprévalence en fonction des différentes zones du Gabon sont présentées dans la figure 14. Elles montrent que la séroprévalence a augmenté de façon linéaire quand la distance entre le lieu d'échantillonnage et les zones d'épidémies a diminué.

De la même façon une augmentation linéaire de la séroprévalence a été observée entre les chiens témoins et les chiens échantillonnés dans des villages où il y a eu des cas humains ou dans ceux où une source animale a été identifiée. Dans les villages dans lesquels des cas humains et des sources animales ont été identifiés, 32 % des chiens présentaient une séroconversion vis-à-vis du virus. Des RT-PCR ont par ailleurs été réalisées et se sont révélées négatives.

Figure 14 : Séroprévalence vis-à-vis du virus Ebola chez des chiens échantillonnés dans différentes zones (Allela et al., 2005)

A) France, villes majeures du Gabon, Mékambo (ville proche de la région d'épidémie) et des villages dans la zone d'épidémie ; B) France, villes majeures du Gabon, Mékambo villages sans cas humains de maladie à virus Ebola et villages avec des cas humains ; C) France, villes majeures du Gabon, Mékambo, villages avec et sans source animale identifiée. Les estimations sont représentées par des carrés noirs, limités par leur intervalle de confiance à 95%. La ligne en pointillés est la ligne de tendance.



Ces données suggèrent l'existence possible d'un contact entre le virus et le chien entraînant une stimulation immunitaire. Cependant, aucune donnée n'apporte d'éléments en faveur de la sensibilité du chien au virus. La réalité de la circulation du virus chez les chiens domestiques de cette région du Gabon, est suggérée par les résultats d'Allela *et al.* (2004), ce qui peut constituer un risque pour la population humaine (Leroy *et al.*, 2005). Néanmoins, avant de conclure par rapport à la place du chien, il est nécessaire de montrer si cette séroconversion est due à une réplication virale suite à une infection ou si elle est seulement le résultat d'une stimulation antigénique. Le taux élevé de séroconversion dans les zones où sont présents des foyers humains est néanmoins en faveur d'une infection (ANSES, 2014).

1.2.2.3.2. Les porcs

La découverte de l'infection des porcs par des virus Ebola donne à penser que ceux-ci pourraient être une source de contamination pour l'homme. L'infection naturelle des porcs par des virus Ebola a été mise en évidence pour la première fois en 2008 aux Philippines. En juillet 2008, plusieurs épisodes d'avortements et de maladies respiratoires sont apparus dans plusieurs fermes aux Philippines. Les signes cliniques de cette maladie ressemblaient à ceux du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP), ou maladie de l' « oreille bleue ». Afin de rechercher l'étiologie de cette maladie, des tissus et du sérum ont été collectés et envoyés en laboratoire en vue d'une recherche du virus SDRP et d'une recherche plus large de maladies virales pouvant contribuer aux mêmes symptômes. Les échantillons ont été testés négativement pour la peste porcine classique, la peste porcine africaine, la maladie vésiculeuse du porc et la fièvre aphteuse. Des anticorps dirigés contre le virus du Syndrome Respiratoire et Reproducteur Porcin et le circovirus porcine de type 2 (PCV-2) ont été retrouvés, attestant d'une infection par ces virus. Cependant, les recherches ont aussi abouti à la découverte d'une coinfection avec un autre virus inconnu. Des antigènes du RESV et de l'ARN viral ont été découverts dans les tissus lymphoïdes, les nœuds lymphatiques et les poumons des porcs infectés. De l'ARN viral de RESV a également été mis en évidence. L'étude du génome des isolats a permis de trouver des séquences nucléotidiques différentes de celle de la souche de RESV découverte en 1989 chez des macaques. Ceci suggère que le virus circulerait depuis de nombreuses années, peut-être même avant sa découverte en 1989, soit au sein des porcs, qui jouent le rôle d'hôtes asymptomatiques, soit chez un autre hôte non identifié. Une succession de différents événements au sein du génome, comme des mutations, expliquerait les différences génomiques observées entre le RESV découvert chez les macaques et chez les porcs (Barrette *et al.*, 2009 ; Marsh *et al.*, 2011). Pour savoir si l'infection par le RESV est sporadique ou fréquente chez les porcs aux Philippines, une étude sérologique a été menée en 2010 sur des porcs provenant de fermes touchées par l'épizootie et de fermes non touchées. Une séroprévalence élevée a été retrouvée dans les fermes affectées par l'épizootie de 2008. Environ 70 % des porcs de ces fermes ont été

testés séropositifs vis-à-vis du RESV. En revanche, aucun Ac anti RESV n'a été retrouvé chez les populations de porcs provenant de fermes non associées à l'épizootie. L'infection des porcs par le RESV n'est donc pas fréquente et ne concerne *a priori* que les porcs provenant de fermes associées à l'épizootie, c'est-à-dire les fermes dans lesquelles des porcs sont malades (Sayama *et al.*, 2012).

L'infection des porcs par le RESV n'est pas limitée aux Philippines, étant donné que le virus a également été mis en évidence chez des porcs en Chine en 2011. 137 rates provenant de porcs morts après une infection par le virus du SDRP ont été collectées dans 3 fermes différentes à Shanghai. Ces porcs ont présenté des signes cliniques classiques du SDRP et l'étiologie de la maladie a été confirmée par RT-PCR. Quatre spécimens ont donné un résultat positif pour le RESV (2,92 %, 4/137), attestant d'une infection des porcs par ce virus. Les quatre spécimens infectés par le RESV étaient des porcelets âgés de moins de 8 semaines et co-infectés par le virus du SDRP. Les séquences nucléotidiques du gène L de chaque virus identifié chez les porcelets présentaient 95,1 à 97,2 % de similarité. Il est donc peu probable que la séquence nucléotidique identifiée dérive d'un autre *Filoviridae*. En effet, le gène L des virus Ebola est très conservé au sein des membres de chaque espèce (pourcentage d'identité supérieur à 96 %), beaucoup plus qu'il ne l'est entre les espèces (inférieur à 80 %) (Pan *et al.*, 2014). En ce qui concerne le continent africain, une seule étude s'est penchée sur l'infection des suidés par des virus Ebola. Un faible effectif de porcs (12 animaux) a été testé et aucune trace d'infection n'a été retrouvée. Étant donné le faible effectif étudié, il n'est pas possible de conclure à une absence d'infection Ebola chez les porcs en Afrique (Olson *et al.*, 2012)

Les porcs peuvent donc être naturellement infectés par le virus RESV en coinfection avec le virus du SDRP et le PCV-2. Une infection par le virus Ebola seul n'a encore jamais été identifiée chez le porc. Ces études démontrent la réceptivité des porcs au RESV sans en démontrer la sensibilité. Elles ne démontrent pas non plus la réceptivité et/ou la sensibilité des porcs à d'autres espèces de virus Ebola.

Au bilan, certains animaux domestiques chez qui des traces du virus ont été retrouvées, en l'occurrence le chien et le porc, sont susceptibles de jouer le rôle d'hôte relais et de constituer un facteur risque de contamination humaine par leur promiscuité avec l'Homme. En revanche, ils ne sont pas de bons candidats pour constituer des hôtes réservoirs du virus Ebola.

1.2.3. Le réservoir des *Filoviridae*

Un réservoir permet la multiplication et la survie du virus de façon pérenne. Un réservoir est généralement pas ou peu symptomatique afin de permettre au virus de circuler et d'évoluer, sans qu'une atteinte clinique voire la mort de son hôte ne compromette sa propre survie. Dans la même logique, l'espèce réservoir doit aussi pouvoir co-évoluer avec le virus, d'où une faible voire une absence de virulence pour cette espèce. Les espèces à fort taux de mortalité comme les PNH ne sont donc pas de bons hôtes réservoirs potentiels

(Peterson *et al.*, 2004b). Ces derniers se contaminent à partir du réservoir et sont, comme cela a été montré précédemment, des espèces sentinelles. Leur sensibilité élevée permet de mettre en évidence l'infection par le virus Ebola.

Etant donné le fort taux de mortalité associé aux fièvres hémorragiques à *Filoviridae*, en particulier à virus Ebola, une attention particulière a été portée sur l'identification du réservoir de ces virus. Cependant, jusqu'au début des années 2000, les recherches mises en place pour identifier le réservoir des *Ebolavirus* sont restées infructueuses. Isoler le réservoir naturel des *Filoviridae* a été un long travail d'enquête. A l'heure actuelle, les chauves-souris frugivores constituent le réservoir le plus probable de cette famille et notamment du virus Ebola.

Les chauves-souris constituent le réservoir de nombreuses familles virales génétiquement proches des *Filoviridae* comme les *Paramyxoviridae*, les *Rhabdoviridae* ou de genre comme les *Henipavirus*. Des virus appartenant à plus de 15 familles différentes et agents de maladie zoonotique ont pu être identifiés chez au moins 200 espèces animales dont 12 familles de chauves-souris et de nombreuses familles de rongeurs. Ce constat place *a priori* les chauves-souris et les rongeurs comme réservoirs les plus probables pour le virus Ebola. Il convient aussi de noter que les chauves-souris constituent un réservoir pour un nombre plus élevé de virus que les rongeurs alors même que ceux-ci comptent deux fois plus d'espèces (O'shea *et al.*, 2014). Néanmoins, certains virus comme les *Paramyxoviridae* et les *Astroviridae* auraient une plus prévalence plus élevée chez les chauves-souris que chez les rongeurs.

Certains virus de ces familles virales affectent sévèrement les mammifères dont les hommes. L'infection des chauves-souris est cependant majoritairement asymptomatique et persistante (O'shea *et al.*, 2014).

Par ailleurs, depuis la découverte de la maladie de Marburg en 1967 et de la maladie d'Ebola en 1976, de nombreux cas semblaient être liés à la présence de chauves-souris. Par exemple, des chimpanzés, hôtes relais potentiels du virus, ont été vus se nourrissant sur des arbres avec des chauves-souris, ou des patients vivant dans une maison ou travaillant dans un lieu où des chauves-souris sont présentes. Ainsi, l'étude menée par Leroy *et al.* en 2009 a permis de mettre en évidence de façon quasi certaine la contamination d'un cas index par une chauve-souris, lors de l'épidémie de 2007 en RDC. Concernant l'épidémie actuelle en Afrique de l'ouest, Marí Saéz et ses collaborateurs (2015) ont émis de fortes présomptions concernant la contamination du cas index à partir de chauves-souris. Des preuves concrètes d'une telle contamination n'ont pu être apportées formellement, seule des témoignages en faveur de cette hypothèse ont été recueillis. Le premier cas humain, un jeune enfant, aurait régulièrement été vu jouant près d'un arbre abritant de nombreuses chauves-souris, près duquel les enfants jouaient régulièrement, aux dires des villageois. L'arbre en question a brûlé, sans raison connue, peu après le début de l'épidémie, en mars 2014, libérant un nuage de chauves-souris et provoquant le départ de la colonie ce qui a rendu les investigations plus difficiles (Marí Saéz *et al.*, 2015). Ainsi, aucune trace d'infection virale n'a été retrouvée chez les individus échantillonnés dans la région, mais des fragments d'ADN de

l'espèce *Mops condylurus* ont été retrouvés près de la souche («Bat-filled tree may have been ground zero for the Ebola epidemic », s.d.). Un certain nombre de cas de maladie à virus Ebola pourraient donc être expliqués par un contact potentiel avec une chauve-souris et/ou avec leurs déjections mais il est très difficile de trouver des preuves concrètes permettant de l'affirmer.

L'étude de Leroy *et al.*, en 2005, a permis de détecter des anticorps anti-virus Ebola (IgG) et de l'ARN viral chez trois espèces de chauves-souris frugivores : *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* et *Myonycteris torquata*. Cette large étude, menée lors d'une épidémie au Gabon, a consisté à rechercher des traces d'infection chez des centaines de petits mammifères présents dans les environs de l'épidémie à virus Ebola. Des séquences nucléotidiques virales ont été retrouvées par RT-PCR dans certains organes, notamment le foie et la rate de ces espèces de chiroptères. Ceci suggère que les chauves-souris ont été en contact avec le virus et sont capables de le multiplier. Des anticorps anti-virus Ebola ont également été détectés chez d'autres espèces de chauves-souris en Afrique. Olival et Hayman (2014) ont notamment constaté une séroprévalence élevée chez *Epomops franqueti*, *Hypsignathus monstrosus*, mais également *Epomophorus gambianus* et *Nanonycteris veldkampii*. Les différentes espèces de chauves-souris chez lesquelles des traces du virus ont été découvertes sont présentées dans le tableau 8.

Tableau 8 : Espèces de chauves-souris chez lesquelles des tests sérologiques ou PCR ont permis de mettre en évidence une infection présente ou antérieure par des *Filoviridae* (Olival et Hayman, 2014)

Les espèces de chauves-souris sont listées pour chaque espèce de *Filoviridae*. A l'heure actuelle, BDBV, SUDV et TAFV n'ont pas été retrouvés chez des chauves-souris. PCR = Réaction d'amplification en chaîne; HTS = Séquençage haut débit.

Virus	Espèce de chauve-souris	Méthode de détection
Virus Marburg	<i>Epomops franqueti</i>	Anticorps
	<i>Hypsignathus monstrosus</i>	Anticorps
	<i>Miniopterus inflatus</i>	Anticorps ; PCR
	<i>Rhinolophus eloquens</i>	Anticorps ; PCR
	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Anticorps ; PCR ; Isolation virale
Virus Lloviu	<i>Miniopterus schreibersii</i>	PCR ; HTS
Virus Ebola Reston	<i>Cynopterus sphinx</i>	Anticorps
	<i>Hipposideros pomona</i>	Anticorps
	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Anticorps
	<i>Myotis pilosus</i> (= <i>Myotis ricketti</i>)	Anticorps
	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Anticorps
	<i>Rousettus amplexicaudatus</i>	Anticorps
	<i>Rousettus leschenaultii</i>	Anticorps
Virus Ebola Zaïre	<i>Eidolon helvum</i>	Anticorps
	<i>Epomops franqueti</i>	Anticorps ; PCR
	<i>Epomophorus gambianus</i>	Anticorps
	<i>Hypsignathus monstrosus</i>	Anticorps ; PCR
	<i>Micropteropus putillus</i>	Anticorps
	<i>Tadarida condylura</i> (= <i>Mops condylurus</i>)	Anticorps
	<i>Myonycteris torquata</i>	Anticorps ; PCR
	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Anticorps
	<i>Rousettus leschenaultii</i>	Anticorps

Jayne et ses collaborateurs (2015) ont plus récemment découvert des traces virologiques et sérologiques de RESV chez plusieurs espèces de chauves-souris aux Philippines. L'étude, débutée en 2010, a consisté à récolter des échantillons de fluides biologiques de chauves-souris présentes à proximité des fermes où RESV est apparu en 2008-2009. Cette découverte est la première preuve moléculaire de l'infection de chauves-souris, notamment *Rousettus amplexicaudatus*, par la souche Reston du virus Ebola, aux Philippines. Olival *et al.* (2013) ont mis en évidence, au Bangladesh, des traces sérologiques de RESV et EBOV chez *Rousettus leschenaultii*.

En outre, des traces sérologiques ont, récemment, et pour la première fois, été retrouvés chez des chauves-souris en Chine, en particulier chez les espèces *Rousettus leschenaulti*, *Pipistrellus pipistrellus* et *Myotis*. Sur les 843 chauves-souris échantillonnées, 32 (3,8 %) étaient séropositives, avec la présence d'anticorps anti-nucléoprotéine du RESV. Parmi ces 32 chauves-souris positives, 25 ont aussi donné des résultats positifs pour les anticorps anti-nucléoprotéine d'EBOV. Un western blot a été réalisé sur 16 des 32 chauves-souris pour confirmer les résultats et dix d'entre elles ont données des résultats positifs lors de la recherche d'Ac anti-NP d'EBOV et RESV. Il pourrait donc s'agir d'Ac anti-RESV, la réaction avec la NP d'EBOV étant due à des communautés antigéniques au niveau de la NP entre ces deux espèces d'*Ebolavirus*. Par ailleurs, aucun ARN viral n'a été détecté par RT-PCR et les tests de neutralisation virale réalisés se sont révélés négatifs. Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que les chauves-souris produisent des anticorps neutralisants en quantité trop faible pour être détectés. Il est de plus non exclu qu'une espèce inconnue d'*Ebolavirus* circule au sein des populations de chauve-souris échantillonnées dans l'étude, et soit à l'origine de la production d'anticorps capables de réaction croisées mais ne neutralisant ni la NP de RESV ni celle d'EBOV (Yuan *et al.*, 2012).

Par ailleurs, le troisième genre des *Filoviridae*, correspondant (au moins pour le moment) à un unique virus, le virus Lloviu, a été isolé chez *Miniopterus schreibersii* en Espagne, une espèce de chauve-souris insectivore (Nidom *et al.*, 2012 ; Olival et Hayman, 2014).

Toutes ces preuves sérologiques démontrent la réceptivité des chauves-souris au virus Ebola. L'existence d'une infection asymptomatique et persistante au sein de ces espèces et les différentes données épidémiologiques recueillies au cours du temps les placent, à l'heure actuelle, comme hôtes réservoirs idéals pour le virus Ebola.

1.2.4. Bilan des espèces naturellement réceptives et sensibles

Les données épidémiologiques et expérimentales recueillies jusqu'à aujourd'hui ont permis de dresser un tableau bilan des espèces animales naturellement réceptives et/ou sensibles aux virus Ebola (Tableau 9). Ces espèces sont susceptibles de jouer un rôle dans le cycle épidémiologique du virus Ebola. Les chiroptères seraient le réservoir du virus alors que les autres espèces de PNH, ruminants ou de porcins joueraient le rôle d'hôtes relais amplificateurs. Les carnivores pourraient également jouer le rôle d'hôte relai.

Tableau 9 : Espèces animales naturellement réceptives et/ou sensibles au virus Ebola (inspiré de la saisine de 2014 de l'ANSES)

Rôle potentiel dans le cycle épidémiologique du virus Ebola	Ordre	Espèce	Réceptivité	Sensibilité
Hôte relais amplificateur	Primates non humains	Gorilles, chimpanzés (EBOV, TAFV) (Leroy <i>et al.</i> , 2004 ; Pigott <i>et al.</i> , 2014)	Oui	Oui
		Macaques (RESV) (Rollin <i>et al.</i> , 1999)	Oui	Oui
		Cercopithèques (Leroy <i>et al.</i> , 2004)	Oui	Inconnue
		Babouins, Mandrills (Leroy <i>et al.</i> , 2004)	Oui	Inconnue
		Orang outan (Nidom <i>et al.</i> , 2012)	Oui	Inconnue
	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
	Porcins	Porcs domestiques (RESV) (Barrette <i>et al.</i> , 2009 ; Sayama <i>et al.</i> , 2012)	Oui	Oui en coinfection avec virus du SDRP
	Rongeurs	Rongeurs (EBOV, RESV) (Morvan <i>et al.</i> , 1999 ; Olson <i>et al.</i> , 2012)	Oui	Inconnue
Hôte relais	Carnivores	Chiens (EBOV) (Alella <i>et al.</i> , 2005)	Oui	Non
Hôte réservoir probable	Chiroptères	Chauves-souris (EBOV) (Leroy <i>et al.</i> , 2005) (<i>Hypsignathus monstrosus</i> , <i>Epomops franqueti</i> , <i>Myonycteris torquata</i>)	Oui	Non

2. Clinique

2.1. Signes cliniques : notion de sujet asymptomatique et de sujet symptomatique

2.1.1. Homme

La maladie due aux virus Ebola africains les plus virulents (notamment EBOV et SUDV) est une fièvre hémorragique virale aigue et brutale avec un taux de létalité très élevé. Ce taux de létalité varie de 25 % à 90 % (« OMS | Maladie à virus Ebola », s. d.) selon l'espèce virale impliquée (Tableau 1), avec un taux de létalité moyen de 65 % (IC₉₅ %⁹ [54,0-76,0 %]) (Nyakarahuka *et al.*, 2016). Des taux de létalité différents ont également été répertoriés selon le pays étudié (Tableau 10). Ceci est probablement lié aux différences d'infrastructures médicales (équipement médical, personnel médical, fiabilité du système de déclaration, etc...), de dispositifs de ripostes mais également à l'espèce virale impliquée. Le taux de létalité moyen de l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013 en Afrique de l'Ouest était de 40 % avec, au début de l'épidémie un pic rapporté de 70,8 % (Nyakarahuka *et al.*, 2016).

Tableau 10 : Taux de létalité moyen du virus Ebola dans différents pays d'Afrique (Nyakarahuka *et al.*, 2016)

Pays	Taux de létalité moyen	Intervalle de confiance à 95 % (IC ₉₅ %)
Soudan du Sud	54 %	[46 – 63 %]
République Démocratique du Congo	72 %	[58 – 84 %]
Gabon	72 %	[64 – 80 %]
Ouganda	43 %	[27% - 61 %]
République du Congo	89 %	[84% - 93 %]
Afrique de l'Ouest	40 %	[39% - 40 %]

L'incubation est de 2 à 21 jours. Les premiers symptômes sont une fatigue fébrile à début brutal, des douleurs musculaires, des céphalées, des nausées et un mal de gorge. Suivent alors de la toux, des vomissements, de la diarrhée, une éruption cutanée, des symptômes d'insuffisance rénale et hépatique voire des hémorragies internes et externes. Ces hémorragies se manifestent par des pétéchies, des ecchymoses, des hémorragies des muqueuses comme les gencives, et par du sang dans les selles. Dans les cas les plus avancés, on observe un syndrome de choc hypovolémique pas pertes sanguines excessives, des convulsions, des perturbations métaboliques sévères et, dans plus de la moitié des cas, une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) (Feldmann et Geisbert, 2011 ; « OMS | Maladie à virus Ebola », s. d. ; Pigott *et al.*, 2014).

⁹ Intervalle de confiance à 95% (IC_{95%}) : Intervalle de valeurs ayant 95% de chances de contenir la valeur réelle du paramètre étudié

Les analyses de laboratoire révèlent une leucopénie, une lymphopénie et une thrombocytopénie ainsi qu'une élévation des enzymes hépatiques, une hyperprotéinémie et une protéinurie. Les temps de prothrombine et le temps de Quick sont allongés, témoignant d'une coagulopathie intravasculaire diffuse (« OMS | Maladie à virus Ebola », s. d. ; ANSES, 2014). Les patients meurent 6 et 16 jours après le début des symptômes de choc hypovolémique et du dysfonctionnement de plusieurs organes (Feldmann et Geisbert, 2011). Les hémorragies peuvent être sévères mais sont présentes chez moins de la moitié des patients. La maladie n'est pas toujours fatale et, dans ce cas, les patients présentent de la fièvre pendant plusieurs jours. Leur état s'améliore généralement autour de 6-11 jours, lorsque la réponse immunitaire à médiation humorale se met en place. Il existe également des personnes asymptomatiques. Nyakarahuka *et al.* avancent par ailleurs, dans leur étude parue en 2016 que « la population en bonne santé d'Afrique Centrale aurait 5 % de chance d'avoir des Ac dirigés contre le virus Ebola ».

Dans ces deux cas de figure, le patient présente une réponse immunitaire médiée par des immunoglobulines M (IgM) et G (IgG) associée à une réponse inflammatoire précoce et importante incluant les interleukines IL β , IL6 et le TNF α . La séroprévalence moyenne vis-à-vis du virus Ebola serait de 8 % (IC₉₅ % [5 % - 11 %]) (Nyakarahuka *et al.*, 2016). La convalescence est longue et souvent associée à des séquelles neurologiques, hépatiques (hépatites récurrentes) ou oculaires (uvéites). Les femmes enceintes ont un risque plus élevé d'infection et une transmission du virus serait possible *via* l'allaitement. Deux cas ont récemment été mis en évidence de contamination d'un nourrisson *via* le lait maternel ou le placenta. Une fillette de 9 mois serait décédée après avoir consommé le lait de sa mère asymptomatique, des Ac anti Ebola ayant été retrouvés dans le lait maternel (« Ebola: un bébé contaminé par le lait de sa mère », s. d., « OMS | Ce que l'on sait à propos de la transmission interhumaine du virus Ebola », s. d.).

Alors qu'il était convenu qu'une fois guéri le patient avait une quantité d'anticorps telle qu'il était définitivement guéri, un cas au moins de rechute a eu lieu en octobre 2015 aux Royaume Uni. Il s'agissait d'une infirmière ayant contracté l'infection en Sierra Leone en décembre 2014. Considérée comme guérie, elle a cependant présenté de nouveaux symptômes pouvant être rapportés à la maladie et a été hospitalisée. Sa rechute a été confirmée. Après avoir développé une méningite, son cas a été jugé sévère et elle a été placée en isolement au Royal Free Hospital de Londres. Alors que sa guérison a été confirmée en novembre 2015 (« Ebola nurse Pauline Cafferkey "has made full recovery" - BBC News », s. d.), elle a été hospitalisée une troisième fois en février 2016 avant d'être déclarée guérie cinq jours plus tard (« British nurse who recovered from Ebola back in hospital | Reuters », s. d.). Ainsi, le virus peut être présent dans les tissus d'une personne ayant guéri du virus, durant plusieurs mois suivant l'infection, avec (« Ebola nurse Pauline Cafferkey "in serious condition" », s. d.) ou sans rechute. Le virus persiste jusqu'à plus d'un an après la guérison dans le sperme et jusqu'à 16 mois après guérison dans le lait maternel (Deen *et al.*, 2015 ; « Ebola stayed in semen of man for 565 days, raising new concerns - Orlando Sentinel », s. d., « OMS | Ebola: des fragments de virus peuvent persister dans le

sperme pendant au moins 9 mois », s. d.). Il a enfin été montré récemment que des symptômes nerveux (maux de tête, douleur musculaire, dépression, perte de mémoire, faiblesse, perte de réflexes ou mouvements anormaux des yeux) pouvaient apparaître jusqu'à 6 mois après guérison (« Most Ebola Survivors Examined in Study Experienced Brain Symptoms Six Months After Infection », s. d.). Le tableau clinique de la maladie à virus Ebola est très proche de celui d'autres fièvres hémorragiques présentes en Afrique, en particulier la maladie de Marburg. Le diagnostic différentiel se révèle donc très difficile voire impossible en se basant uniquement sur les signes cliniques. Un tableau clinique comparé de la maladie d'Ebola et de la maladie de Marburg a été rendu disponible (Tableau 11).

Tableau 11 : Tableau clinique comparé des fièvres hémorragiques dues aux virus de la maladie d'Ebola et de la maladie de Marburg (ANSES, 2014)

Le nombre de croix est proportionnel à la fréquence de chaque symptôme. Les taux de létalité sont présentés en Annexe 3.

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	+	++

2.1.2. Animaux (PNH)

Les primates non humains (PNH) sont les espèces animales les plus sensibles. L'incubation est de 2 à 14 jours. Les signes cliniques étant peu spécifiques, il est difficile, en milieu naturel, de les relier à la maladie à virus Ebola. Ils sont, en particulier, difficilement distinguables de ceux d'autres maladies hémorragiques notamment la fièvre hémorragique simienne. Les signes cliniques sont globalement similaires à ceux rencontrés chez l'homme mais leur sévérité peut être accrue, et le taux de létalité est parfois plus élevé que chez l'Homme. Une étude a estimé le taux de létalité à plus de 80 % chez les macaques infectés expérimentalement par RESV. Il a été constaté que les épidémies de maladie à virus Ebola ayant eu lieu au Gabon et en RDC de 2001 à 2003 étaient associées à un fort taux de létalité au sein de la faune sauvage. Le taux de létalité atteindrait 90 à 95 % chez les gorilles et 88 % chez les chimpanzés et les épidémies imputées à la souche Zaïre du virus Ebola pourraient être impliquées dans le déclin de certaines espèces de PNH, et pourrait en tout état de cause

être à l'origine de la disparition de certains groupes (Groseth *et al.*, 2007 ; Ebolavirus and Marburgvirus Infections, the Center for Food Security and Public Health, 2014). Des modèles expérimentaux ont permis de caractériser les signes de l'infection par le virus Ebola chez les PNH. La maladie débute par un syndrome fébrile, l'hyperthermie (40°C) débutant dès 3 jours après l'infection, et persistant tout au long de la maladie. L'animal est abattu et présente une anorexie avec perte de poids, de la toux, une déshydratation ainsi qu'une diarrhée sanguinolente accompagnée, parfois, d'un méléna intermittent. Chez certaines espèces, les animaux atteints développent des pétéchies sur la peau. L'animal meurt 5 à 8 jours après l'apparition des signes cliniques. La mort est précédée d'une chute de la température corporelle. Une virémie est détectable dès trois jours après l'infection. Une neutrophilie, une lymphopénie et une thrombocytopénie sont observables. Une coagulopathie est également observable, avec une prolongation des temps de coagulation et une diminution du fibrinogène sanguin (Schou et Hansen, 2000 ; Nakayama et Saijo, 2013).

2.2. Lésions

Les autopsies réalisées sur des humains sont limitées du fait de la haute contagiosité du cadavre et du manque d'infrastructures dans les zones d'épidémies. A l'heure actuelle, seulement une trentaine d'autopsies ont été réalisées sur des cas avérés de maladie à virus Ebola (Osterholm *et al.*, 2015). Le virus Ebola infecte de nombreux types cellulaires et touche de nombreux tissus (foie, rate, reins, nœuds lymphatiques, muqueuse gastro intestinale, peau, testicules...) dans lesquels des lésions hémorragiques peuvent être retrouvées. Les principales lésions rencontrées sont pulmonaires avec une congestion et des hémorragies pulmonaires, des dommages alvéolaires diffus ou des œdèmes alvéolaires. Des corps d'inclusion viraux peuvent être présents dans les macrophages alvéolaires et des particules virales dans les espaces alvéolaires. Les découvertes chez les PNH sont cohérentes avec celles retrouvées chez les humains. Des lésions de pneumonies interstitielle ainsi que des lésions hémorragiques, de thrombose et de nécrose ont été observées dans tous les organes viscéraux, en particulier le foie et la rate, sont retrouvés chez des singes infectés expérimentalement (Nakayama et Saijo, 2013 ; Osterholm *et al.*, 2015).

Chez le porc, les lésions sont essentiellement localisées au niveau du système respiratoire. Macroscopiquement, des lésions hémorragiques peuvent être retrouvées au niveau du cœur et les poumons. Une consolidation progressive des poumons est observable. Celle-ci débute au niveau des lobes crâniens et s'étend aux lobes diaphragmatiques. Les nœuds lymphatiques associés sont hypertrophiés et parfois hémorragiques (Kobinger *et al.*, 2011). Des lésions microscopiques focales et non extensives de pneumonie broncho-interstitielle peuvent être observées (Weingartl *et al.*, 2012). Histologiquement, il est possible d'observer une accumulation de neutrophiles, de débris nécrotiques ou de fibrine, selon le stade de la maladie, dans le lumen des alvéoles œdématisées (Kobinger *et al.*, 2011).

2.3. Physiopathologie de l'infection

Après être entré dans l'organisme et s'être répliqué, le virus agit de différentes façons sur l'organisme (Mahanty *et al.*, 2004 ; ANSES, 2014). Une cascade d'évènements peut notamment conduire à la forme la plus sévère, comme cela est explicité ci-dessous.

2.3.1. Action directe sur les tissus de l'hôte

La glycoprotéine de surface du virus lui permet de se lier à de nombreuses cellules parenchymateuses et endothéliales de l'organisme et d'exercer son action cytotoxique conduisant à une nécrose des tissus (ANSES, 2014). Des études ont montré que l'action directe de la GP sur l'endothélium vasculaire était due à son domaine mucine. Ce dernier induirait un arrondissement et un détachement des cellules (Yang *et al.*, 2000 ; Mahanty *et al.*, 2004 ; Sullivan *et al.*, 2005). La cytotoxicité directe de la GP serait également liée à sa conformation en épingle à cheveux. Grâce à cette conformation, la GP s'insérerait directement dans la membrane des cellules cibles, en particulier les cellules endothéliales. Elle induirait ainsi une rupture de l'endothélium vasculaire à l'origine de l'augmentation de perméabilité vasculaire (Mahanty *et al.*, 2004).

2.3.2. Action indirecte via la réaction de l'hôte à la présence du virus

2.3.2.1. Action sur la réponse immunitaire innée

Le virus se lie aux cellules dendritiques et aux macrophages, ses premières cibles, ce qui a pour conséquence d'inhiber leur stimulation et de bloquer la production de cytokines anti virales, comme les interférons de type I. La réponse immunitaire innée est donc inhibée (ANSES, 2014).

2.3.2.2. Action sur la réponse immunitaire spécifique

La fixation du virus sur les cellules dendritiques et les macrophages a au moins deux conséquences importantes. Tout d'abord, cette fixation entraîne une inhibition de la libération de LT (Francica *et al.*, 2010). Cette inhibition passe par une inhibition stérique des protéines de surface impliquées dans la reconnaissance immune. La glycosylation d'un domaine particulier de la GP₁, le domaine mucine, entraîne une modification structurale empêchant la reconnaissance des protéines de surface de la cellule par des cellules immunitaires comme les lymphocytes T (LT) : c'est l'effet « Glycan umbrella ». Cet effet

bloque, en particulier, la stimulation des LT liée à la reconnaissance du complexe majeur d'histocompatibilité I (CMH-I). Les β intégrines ne sont également plus mobilisées. Le domaine mucine est constitué de 150 AA et de nombreux sites de glycosylation. La glycosylation de ce domaine est nécessaire et suffisante pour l'observation de ces effets. La fixation du virus provoque également une apoptose des LT (ANSES, 2014).

2.3.2.3. Action de la glycoprotéine soluble

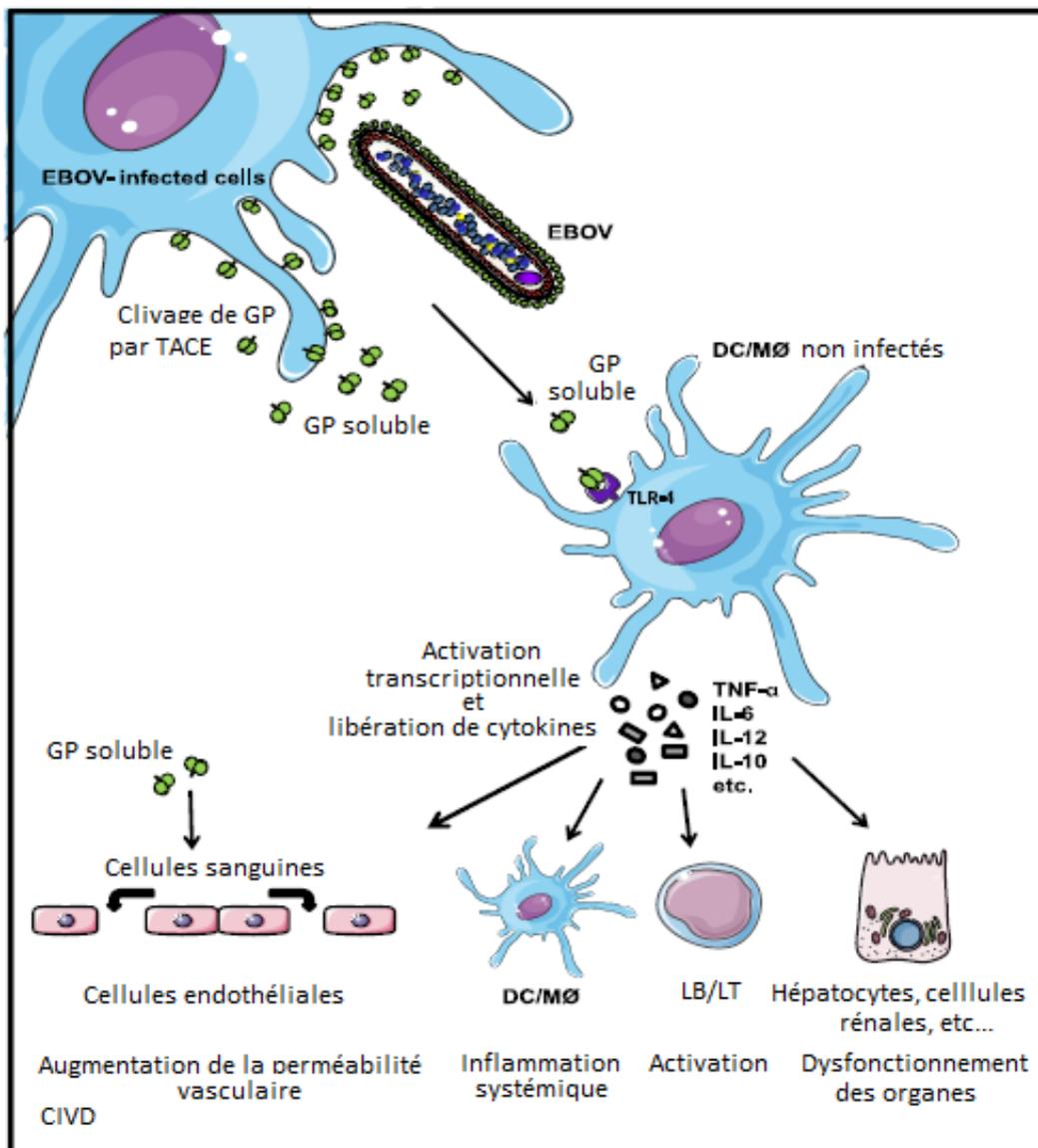
La glycoprotéine soluble, issue de la glycoprotéine de surface et libérée par la cellule infectée, joue un rôle important dans la physiopathologie de l'infection. Elle se lie et séquestre les Ac neutralisants dirigés contre la GP de surface. Elle active ainsi les cellules dendritiques et les macrophages non infectés, entraînant une sécrétion non contrôlée de cytokines pro et anti inflammatoires (TNF α , IL1 β , IL6, IL8, IL12, IL1RA, IL10) : c'est le phénomène de tempête cytokinique. La GP soluble exerce une action directe et indirecte sur les cellules endothéliales, augmentant la perméabilité membranaire. Cette activité est possible *via* un récepteur « toll-like » (TLR4) et du fait de la glycolysation de la GP soluble. Les TLR sont des récepteurs cellulaires de surface capables de reconnaître les molécules hautement glycosylées contenant des résidus O-linked-mannosyl comme la glycoprotéine soluble du virus Ebola (Escudero-Pérez *et al.*, 2014).

Une expérience a été menée par Escudero Pérez et ses collaborateurs consistant à traiter des cellules dendritiques et des macrophages avec des Ac anti TLR4 de souris puis à les incuber avec la GP soluble. Cela a induit une baisse de l'attachement de la GP à la cellule, prouvant que l'action de la GP implique forcément une interaction avec ce récepteur. Cette même équipe a également montré que la glycosylation de la GP est nécessaire pour activer les cellules dendritiques et les macrophages. La GP soluble a été ajoutée à un mélange de O- et N- glycosidases et incubée avec des cellules dendritiques et des macrophages. Ceci a entraîné une diminution de production de TNF α par ces cellules.

La réaction inflammatoire dérégulée liée à la tempête cytokinique faciliterait l'augmentation de perméabilité des barrières endothéliales à l'origine d'une CIVD et d'hémorragies. Les mécanismes provoqués par l'entrée du virus sont représentés dans la figure 15.

Figure 15 : Rôle de la glycoprotéine soluble dans l'infection par le virus Ebola (Escudero-Pérez *et al.*, 2014)

Les cellules infectées par le virus Ebola libèrent des virions et la GP soluble. La GP soluble va se fixer sur les cellules dendritiques (DC) et les macrophages (MØ) non infectés, grâce aux récepteurs TLR4, et va activer la libération de cytokines pro et anti inflammatoires par ces cellules. Cette libération de cytokines amplifie l'inflammation par recrutement et activation d'autres cellules présentatrices d'antigènes (CPA), de lymphocytes, de cellules endothéliales, d'hépatocytes, etc... La libération de GP soluble participe également à l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la CIVD, la dérégulation de l'inflammation et le dysfonctionnement des cellules (hépatocytes, cellules rénales...).



Au bilan, l'entrée du virus dans l'organisme a une action directe sur les cellules parenchymateuses et endothéliales, entraînant une nécrose tissulaire. Cette entrée a également une action indirecte sur la réponse immunitaire innée *via* une inhibition de la

production de cytokines antivirales par les cellules dendritiques et les macrophages, ainsi que sur la réponse immunitaire spécifique *via* l'inhibition stérique de la libération de LT par les cellules dendritiques et les macrophages associée à une apoptose lymphocytaire. Le virus a aussi une action indirecte *via* la GP soluble qui active les cellules dendritiques et les macrophages non infectés, libérant une quantité importante de cytokines pro et anti inflammatoire et provoquant un dérèglement de la réponse inflammatoire. Ce dérèglement conduit à une augmentation de perméabilité vasculaire et à une CIVD. Ces mécanismes provoquent la destruction des cellules parenchymateuses, à l'origine de foyers de nécrose et de la destruction des cellules endothéliales, avec pour conséquences des troubles de la coagulation et des hémorragies.

Lors des infections plus bénignes, la libération de cytokines à lieu mais diminue rapidement, empêchant l'apparition du phénomène de tempête cytokinique. La réponse *via* les interférons jouerait un rôle important dans cette issue favorable (ANSES, 2014).

3. Diagnostic

Le diagnostic clinique de la maladie à virus Ebola est très difficile car les symptômes sont peu spécifiques. En effet, les premiers symptômes pseudo-grippaux peuvent être confondus avec ceux occasionnés par d'autres fièvres hémorragiques comme la fièvre de Lassa, la fièvre typhoïde, ou d'autres maladies endémiques en Afrique comme le paludisme. La maladie doit être suspectée dès lors qu'un patient présente un état fébrile associant des symptômes généraux et un historique de voyage en zone endémique. Le diagnostic ne peut cependant être confirmé qu'à partir d'un diagnostic de laboratoire. Des tests directs et/ou indirects sont réalisés à partir de prélèvements sanguins, d'écouvillonnages nasaux ou oraux ou de prélèvements de tissus collectés *post mortem*. Ces échantillons doivent être manipulés avec une extrême prudence du fait de leur potentiel infectieux très élevé (rappelons que le virus se transmet *via* les liquides biologiques). Deux cas de figures sont également à distinguer : le diagnostic de terrain, lors d'épidémie, réalisé dans des laboratoires mobiles sécurisés, et le diagnostic hors épidémie réalisé dans des laboratoires spécialisés (ANSES, 2014).

3.1. Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique de la fièvre hémorragique à virus Ebola peut être direct ou indirect.

3.1.1. Diagnostic direct

Le diagnostic direct est possible *via* des tests rapides, ainsi que par isolement viral et d'autres techniques comme l'immunohistochimie et la microscopie électronique.

3.1.1.1. Tests rapides

Des tests rapides sont disponibles et consistent à détecter le plus rapidement possible certains constituants viraux signes d'une infection aiguë. Ils sont utilisés en conditions de terrain après inactivation du virus. La méthode la plus utilisée est la RT-PCR nichée ou en temps réel permettant de détecter des acides nucléiques du virus présent dans l'échantillon. Il s'agit d'une méthode très sensible et rapide permettant de caractériser l'espèce ou la souche virale en séquençant les produits amplifiés. Cependant elle est sensible aux variations génétiques et des mutations peuvent entraîner l'apparition de résultats faussement négatifs. La RT-PCR permet de détecter l'infection 24 à 48h avant l'ELISA antigène. Un deuxième test est le test ELISA antigène. Cette méthode permet de détecter les antigènes (Ag) viraux présents dans le sang dès 3 jours et jusqu'à 7 à 16 jours après le début des symptômes chez l'Homme. La spécificité et sensibilité sont très élevées, de l'ordre de 98% par rapport à l'isolement viral (ANSES, 2014). Le premier test rapide pour la détection d'Ag Ebola a été approuvé par l'OMS en février 2015 (« WHO | First Antigen Rapid Test for Ebola through Emergency Assessment and Eligible for Procurement », s. d.). En octobre 2015 un autre test rapide de terrain a été validé. Ce test est réalisable à partir d'une goutte de sang et détecte la glycoprotéine virale. Il permet de poser un diagnostic, pour des patients présentant des symptômes, en 15 minutes. Il présente une très bonne spécificité, permettant d'écarter le risque de faux positifs (« Diagnostic rapide d'Ebola : le test eZYSCREEN® fait ses preuves sur le terrain. », s.d.).

3.1.1.2. Isolement viral

L'isolement viral est une deuxième technique de diagnostic direct. Il s'agit de la technique de référence pour étudier le virus et sa pathogénicité. Il doit être réalisé dans un laboratoire de sécurité BSL4 sur des cellules de lignées sensibles (Vero). La multiplication du virus dans les cellules est révélée par immunofluorescence à l'aide d'Ac monoclonaux ou polyclonaux anti-virus Ebola (ANSES, 2014).

3.1.1.3. Autres techniques

Deux autres techniques sont disponibles mais sont moins utilisées. Il s'agit de l'immunohistochimie, qui permet la mise en évidence des Ag viraux dans des tissus d'animaux morts ou euthanasiés fixés au formol, et la microscopie électronique, permettant la détection des particules virales dans les tissus ou les fluides infectés. Cette dernière technique peu sensible nécessite un équipement et un personnel hautement spécialisés présents uniquement dans les laboratoires spécialisés (ANSES, 2014)

3.1.2 Diagnostic indirect

Le diagnostic indirect de la maladie d'Ebola consiste à rechercher la présence d'anticorps. Les IgM peuvent apparaître dès 2 jours après le début des symptômes et disparaissent entre 1 et 4 mois après l'infection. Les IgG apparaissent entre 6 et 18 jours après le début des symptômes et peuvent persister pendant plusieurs années chez l'homme, et plus d'une année chez les primates non humains en condition expérimentale. Le premier test utilisé est le test d'immunofluorescence direct (IFA) reposant sur la fixation des Ac sur un tapis de cellules infectées. Il présente une faible spécificité. Le second test est le test ELISA. Ce test repose sur la fixation des anticorps à des antigènes viraux irradiés produits sur culture cellulaire ou des antigènes recombinants pour les IgM.

La présence d'IgM ou l'augmentation du titre en IgG entre deux prélèvements successifs apporte une forte présomption d'une infection récente par le virus Ebola. La présence d'IgG seulement est la cicatrice d'une infection plus ou moins ancienne, comme par exemple chez les personnes ayant survécu à la maladie. La sérologie ne se pratique pas en routine dans le contexte d'une épidémie pour laquelle une détection génétique ou antigénique est préférée car plus précoce.

Une troisième technique possible est la neutralisation virale. Chez l'Homme, des titres faibles d'Ac neutralisants apparaissent tardivement au cours de la convalescence. Ces anticorps participeraient à la protection contre l'infection. Ils ont un intérêt limité d'un point de vue diagnostique car leur apparition est tardive. En outre, cette technique fait appel à du virus infectieux et requiert donc d'effectuer les manipulations en laboratoire BSL4 (ANSES, 2014).

3.2. Diagnostic de terrain vs diagnostic hors épidémie

Lors d'épidémie, des laboratoires mobiles sécurisés sont mis en place dans les pays concernés. Les missions de ses structures consistent à confirmer des cas suspects et assurer le suivi des patients des Centre d'isolement avec des tests réguliers (« Lutte contre la fièvre hémorragique a virus Ebola », s. d.). De nombreux patients peuvent s'y rendre ou y être

amenés. Ces laboratoires s'appuient sur les tests rapides. D'autres méthodes de diagnostic rapide, pouvant être utilisées directement sur le lieu de soins, ont été récemment mises au point, comme cela a été précisé plus haut, certaines étant encore à l'essai. Ces nouveaux tests peuvent être utilisés pour certains dans les conditions du terrain en cas de symptômes évocateurs et lorsqu'il faut avoir un diagnostic rapide pour agir vite (« OMS | Ebola : les tests de dépistage rapide sont prometteurs », s. d.). Le principe de ces tests est basé sur la mise en évidence de l'ARN ou d'antigènes viraux, après inactivation virale, afin d'étudier tout risque de contamination par les manipulateurs. A l'heure actuelle, des recherches sont encore menées pour mettre en place des tests rapides et efficaces lors d'épidémie de maladie à virus Ebola. Le dernier en date (Idylla™ EBOV Test) étant un test RT-PCR réalisé *via* un prélèvement sanguin veineux sur tube EDTA. Le résultat est obtenu en cent minutes (« New Idylla™ Ebola Virus Triage Test Granted Emergency Use Authorization by U.S. FDA », s. d.)

Le diagnostic est réalisé, en dehors des épidémies, 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. Le CNR est situé à proximité du Laboratoire de niveau de sécurité biologique 4 (BSL4 – Marcel Mérieux) nécessaire pour manipuler le virus vivant pour des expériences *in vitro* (culture cellulaire) ou *in vivo* (expérimentation animale). L'isolement viral, permettant d'étudier le virus et sa pathogénicité, est possible dans ces BSL4 (ANSES, 2014).

4. Gestion des foyers humains d'Ebola

La gestion des foyers humains de maladie à virus Ebola est compliquée et se déroule en plusieurs phases. Premièrement, une riposte rapide est indispensable pour enrayer l'épidémie. Elle consiste en une augmentation du nombre de centre de traitements et de capacité d'accueil des malades, un recrutement et une formation d'équipes médicales et d'équipes chargées de l'élimination des cadavres dans le respect de la culture locale. Deuxièmement, un renforcement des capacités de recherche des cas suspects et des contacts est nécessaire. Enfin, la gestion des foyers humains passe par une interruption des chaînes de transmission (« OMS | Flambée de maladie à virus Ebola: une riposte en trois phases », s. d.). N'étant pas le sujet de cette thèse, la gestion de foyers humains de maladie à virus Ebola en cas d'épidémie n'est indiquée que de manière succincte dans les paragraphes qui suivent.

Une fois que les analyses de laboratoire ont confirmé le diagnostic de maladie à virus Ebola, une zone de surveillance est définie. Cette surveillance est notamment réalisée par les hôpitaux et le personnel de santé. Une formation du personnel de santé à la prévention de la contamination et à la gestion des malades et des cadavres est également mise en place. Une enquête épidémiologique est nécessaire pour retrouver et dépister les contacts potentiels dans la zone de surveillance. La définition de cas suspect, cas probable et de

contact est présentée dans l'annexe 6. Une sensibilisation est réalisée auprès des contacts qui doivent se présenter dans un établissement de soins dès que des signes de fièvre apparaissent. Ils doivent de plus surveiller quotidiennement leur température durant le temps d'incubation de la maladie c'est-à-dire dans les 21 jours suivant l'exposition. La distribution géographique des cas et des contacts est également fournie. Si un cas suspect meurt, un échantillon cutané est prélevé et envoyé en laboratoire pour confirmation. Si l'épidémie est confirmée, il n'est pas nécessaire de réaliser systématiquement ce prélèvement, pour des raisons de sécurité. La prise en charge des malades comporte des mesures strictes. Les malades sont dans l'idéal isolés dans des centres médicaux adéquats, si le transport peut être réalisé dans de bonnes conditions. Un traitement symptomatique est apporté au patient (« Guide OMS pour la préparation et la riposte aux épidémies: Fièvre hémorragique à virus Ebola », s.d.).

Le personnel de santé constitue une population à risque de transmission du virus du fait de leur promiscuité avec les malades. Des mesures d'hygiène et de sécurité sont indispensables notamment pour éviter les lésions cutanées *via* l'utilisation d'instruments tranchants. Des vêtements de protection adaptés (gants, masques, blouses...) sont nécessaires et confinés à la zone d'isolement avant d'être désinfectés ou détruits. Les mesures d'hygiène basiques sont indispensables : il convient notamment de se laver et se désinfecter les mains après chaque contact. Tout instrument ou matériel est destiné à un unique patient et désinfecté ou détruit après chaque utilisation (« Guide OMS pour la préparation et la riposte aux épidémies: Fièvre hémorragique à virus Ebola », s.d.).

La gestion des foyers d'Ebola est difficile car elle se heurte aux mœurs et coutumes locales. En particulier, les rites funéraires sont très propices à la transmission de la maladie. Un compromis a été réalisé entre les équipes médicales et la population pour tenter de respecter au mieux les pratiques culturelles locales tout en assurant une sécurité maximale. Le transport et les contacts avec les cadavres doivent être limités au maximum et les corps présentant un risque biologique doivent être incinérés. Une sensibilisation de la population est indispensable afin de faire accepter ces mesures de santé publique (« Guide OMS pour la préparation et la riposte aux épidémies: Fièvre hémorragique à virus Ebola », s.d.).

Partie 2 : Evaluation du risque zoonotique lié aux virus de la maladie d’Ebola

I- Analyse du rôle des chauves-souris dans la transmission zoonotique du virus Ebola à l’Homme

Les chiroptères constituent le groupe de mammifères le plus abondant, après les rongeurs, le plus diversifié et le plus étendu géographiquement. Récemment, il a été prouvé qu’ils constituent des hôtes réservoirs pour de nombreux virus émergents (ou non), responsables de maladies sévères chez l’homme et les mammifères, et il existe une très forte présomption qu’ils le soient pour divers autres virus, en particulier le virus Ebola. Calisher *et al.* (2006) ont ainsi dressé une liste non exhaustive de 66 virus différents isolés chez des chauves-souris, laquelle liste s’est significativement allongée depuis. Après avoir décrit l’implication très probable en tant que réservoirs des chiroptères dans le cycle épidémiologique du virus Ebola, nous nous intéressons ici aux aspects analytiques de leur rôle dans le cycle de transmission zoonotique du virus Ebola. Quels sont les caractéristiques pouvant faire des chiroptères de bons hôtes réservoirs potentiels pour le virus ? Comment sont-ils susceptibles de participer à la transmission zoonotique du virus ? Quels sont les facteurs de risque liés à une telle possibilité de transmission ?

1. Métabolisme et cycle de vie des chauves-souris

1.1. Métabolisme particulier des chauves-souris

Les chauves-souris sont les seuls mammifères doués de vol actif (Wang *et al.*, 2011 ; Zhang *et al.*, 2013). Une modification du métabolisme durant le vol serait à l’origine d’une forte stimulation de leur système immunitaire. La capacité à voler nécessite en effet une grande quantité d’énergie, entraînant une augmentation du métabolisme et une augmentation de température corporelle. Des études ont montré que le métabolisme des chauves-souris est multiplié par 15 voire 16 lors du vol, alors qu’il n’est que doublé chez les oiseaux (O’Shea *et al.*, 2014). Les températures corporelles de plusieurs espèces de chauves-souris lors du vol sont regroupées dans le tableau 12. Leur température en vol se rapproche de la température observée lors de fièvre. Elle varie de 37 à 41°C selon les espèces. Willis et Brigham (2003) ont montré que cette augmentation concerne la température cutanée (Tableau 12b) tout autant voire davantage que la température centrale (Tableau 12a).

Tableau 12 : Exemples d'augmentation de température corporelle (centrale et périphérique) d'espèces de chauves-souris lors du vol (O'shea *et al.*, 2014)

12a. Température centrale

Espèce (famille)	Température centrale (rectale)		Source
	Instantanée (°C)	Amplitude (°C)	
<i>Eidolon helvum</i> (Pteropidé)		36,9-40,8	(Carpenter, 1986)
<i>Hypsignathus monstrosus</i> (Pteropidé)		37,2-40,0	
<i>Rousettus aegyptiacus</i> (Pteropidé)		38,2-41,2	
<i>Miniopterus sp.</i> (Miniopteridé)		41,1 ± 0,45	(Morrison, 1959)
<i>Phyllostomus hastatus</i> (Phyllostomidé)		41,2 – 42,1	(Thomas et Suthers, 1972)
<i>Carollia perspicillata</i> (Phyllostomidé)		40,2 ± 0,8	(Voigt et Lewanzik, 2011)
<i>Artibeus lituratus</i> (Phyllostomidé)		41,2 ± 1	(Morrison et McNab, 1967)
<i>Stumira liliun</i> (Phyllostomidé)		40,5 ± 0,3	
<i>Noctilio albiventris</i> (Noctilionidé)		35,5-40,6	(Roverud et Chapell, 1991)
<i>Myotis yumanensis</i> (Vespertilionidé)		40,0-40,8	(Reeder et Cowles, 1951)
<i>Eptesicus fuscus</i> (Vespertilionidé)		37-39,5	(Willis et Brigham, 2003)
<i>Mops condylurus</i> (Molossidé)		40,5 ± 1,1	(Bronner <i>et al.</i> , 1999)
<i>Tadarida brasiliensis</i> (Molossidé)		35-42	(Herreid, 1963)
<i>Eumops perotis</i> (Molossidé)		37,8-39,3	(Leitner, 1966)
<i>Myotis volans</i> (Vespertilionidé)	37,4		(O'Farrel et Bradley, 1977)
<i>Myotis evotis</i> (Vespertilionidé)	38,3		
<i>Myotis californicus</i> (Vespertilionidé)	38,4		
<i>Parastrellus hesperus</i> (Vespertilionidé)	38,8		
<i>Eptesicus fuscus</i> (Vespertilionidé)	41,0		
<i>Lasiurus cinereus</i> (Vespertilionidé)	40,2		
<i>Antrozous pallidus</i> (Vespertilionidé)	40,6		
<i>Tadarida brasiliensis</i> (Molossidé)	38,0		

12b. Température cutanée

Espèce (famille)	Température périphérique (cutanée)	Source
<i>Eptesicus fuscus</i> (Vespertilionidé)	41,3 ± 2,1	(Willis et Brigham, 2003)
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i> (Rhinolophidé)	41	(Burbank et Young, 1934)

Cette température élevée serait propice à la stimulation de la réponse immunitaire. Elle permettrait aux chauves-souris de lutter contre l'infection virale en activant la réponse immunitaire. Le tableau 13 présente les réactions immunitaires favorisées par une augmentation de la température corporelle chez les mammifères.

Tableau 13 : Réponses immunitaires innée et adaptative associées à une augmentation de température corporelle chez les mammifères (O'shea *et al.*, 2014)

Augmentation de la mobilité et migration des neutrophiles et monocytes
Augmentation de l'activité de phagocytose et de pinocytose
Augmentation de la production de radicaux oxygène par les phagocytes
Production accrue d'interférons
Augmentation de l'activité antivirale, anti-tumorale, ou antiproliférative, des interférons et de stimulation des cellules natural killers (NK) par les interférons
Potentialisation de l'activité anti-anaphylactique des interférons
Stimulation de l'activation du complément par les cellules NK
Augmentation de l'expression de récepteurs Fc
Stimulation de l'activation, de l'expression, du recrutement et de l'activité cytotoxique des lymphocytes T-helper
Blocage de l'activité des lymphocytes T-suppresseurs
Stimulation de la production d'anticorps
Stimulation du TNF- α
Augmentation de la réponse des cellules T à des mitogènes non spécifiques, aux IL-1, IL-2 et des lymphocytes allogène
Stimulation de la destruction de bactéries intracellulaires
Augmentation de l'effet bactéricide d'agents microbiens
Induction de protéines de choc thermique cytoprotectrices chez la cellule hôte
Induction par les agents pathogènes de protéines de choc thermique, activant les défenses immunitaires de l'hôte

La forte pression de sélection engendrée permettrait l'évolution de virus peu virulents pour les chauves-souris, sans préjuger de leur virulence pour les autres espèces animales. Ces virus, acquerraient ainsi la capacité de persister sans dommage (ou avec des conséquences limitées en général) chez les chauves-souris, en résistant à la réponse immunitaire (Wang *et al.*, 2011 ; Zhang *et al.*, 2013 ; O'shea *et al.*, 2014).

Une autre particularité du métabolisme influant sur le devenir des virus au sein des chiroptères est l'hibernation observée chez certaines espèces (ce n'est cependant pas le cas des espèces susceptibles d'être impliquées dans la transmission des virus Ebola). L'hypothermie serait aussi une stratégie de l'hôte pour lutter contre un agent pathogène mais elle permet aussi à des agents pathogènes de s'adapter au froid et de persister.

Au bilan, les virus ayant co-évolué avec les chauves-souris auraient acquis la capacité de survivre à des températures élevées lors du vol mais également le cas échéant à des températures très basses lors de l'hibernation. Ils auraient acquis la capacité de survivre à une large gamme de températures, ce qui pourrait expliquer leur forte virulence chez d'autres espèces (O'shea *et al.*, 2014). Ceci expliquerait que les chauves-souris sont de bons réservoirs pour une majorité de virus pouvant émerger au sein de populations de mammifères avec une plus grande virulence. Le virus Ebola en serait un bon exemple.

1.2. Adaptation du système immunitaire au cours de l'évolution

Jusqu'à il y a une dizaine d'années, il n'existait que très peu d'informations concernant le système immunitaire des chauves-souris. L'émergence et la ré émergence réelle ou apparente de virus à la fin de XXe siècle, au sein de l'espèce humaine, ont entraîné une recrudescence de l'intérêt porté par les scientifiques sur la capacité des chauves-souris à adapter leur système immunitaire pour coexister avec un virus. Les données actuelles sur l'immunité des chauves-souris ont été obtenues à partir d'études expérimentales menées sur l'infection des chauves-souris par des virus, notamment les *Lyssavirus*, agents de rage. Ces études ont montré que les chauves-souris possèdent un système immunitaire semblable à celui des autres mammifères (réponse anticorps, lymphocytes T, cytokines etc...) mais sont capables de contrôler la réplication virale de façon plus efficace grâce à leur réponse immunitaire innée (Baker *et al.*, 2011).

Zhang *et al.* (2013) ont séquencé et comparé le génome de deux espèces de chauves-souris. Ils ont ainsi mis en évidence des changements génétiques liés à leur capacité à voler. Les produits oxydatifs issus de l'élévation du métabolisme lors du vol auraient des conséquences néfastes. En particulier, ils seraient à l'origine de dommages sur l'ADN. Au cours de l'évolution, une sélection de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN a été observée. Cette sélection aurait été à l'origine de changements génétiques permettant la potentialisation du vol chez les chauves-souris. Elle a également permis d'améliorer l'efficacité de leur système immunitaire, les rendant plus robustes aux infections virales et

expliquant leur longue espérance de vie. Les chauves-souris ont une durée de vie de 25 à 35 ans (Wang *et al.*, 2011).

Les virus se seraient donc adaptés au métabolisme et aux températures corporelles extrêmes des chauves-souris lors du vol. De plus, les chauves-souris ont évolué et acquis des mécanismes permettant de palier aux dommages causés par ce métabolisme sur leur ADN et donc d'augmenter leur espérance de vie. Ceci aurait favorisé la persistance et la co évolution des virus et des chauves-souris au cours du temps, en faisant des hôtes réservoirs idéaux. En outre (cf. *infra*), certains aspects comportementaux des Chiroptères peuvent constituer des facteurs de risque de transmission zoonotique.

1.3. Comportements susceptibles de favoriser le risque de transmission du virus Ebola

Certains comportements ou événements liés au cycle de vie des chauves-souris sont à risque. Un stress dû à la raréfaction de la nourriture ou un stress physiologique comme la gestation favoriserait la réplication et la transmission du virus (Leroy *et al.*, 2005 ; Groseth *et al.*, 2007). Des études se sont intéressées aux risques de transmission du virus Ebola lors de certaines étapes du cycle de vie des chauves-souris, en particulier lors de la gestation et la parturition.

Une augmentation de la prévalence de la maladie chez l'Homme et une augmentation de la charge virale chez l'animal seraient associées aux naissances dans les populations de chauves-souris. Les femelles gestantes auraient ainsi une plus forte probabilité d'être séropositives pour le virus Ebola (Amman *et al.*, 2012 ; Olival et Hayman, 2014). En effet, Pourrut *et al.* (2007) ont étudié la prévalence du virus chez trois espèces de chauves-souris échantillonnées en zone épidémique, au Gabon et RDC, entre 2003 et 2006. Ils ont montré que la prévalence de l'infection par le virus Ebola était de 33,3 % (3/10) chez les femelles gestantes contre 7,1 % (1/14) chez les femelles non gravides. La synchronisation des naissances et du pouponnage chez les chauves-souris associés à une augmentation importante de la population et des contacts à cette période serait un élément déterminant dans la dynamique de l'infection des chauves-souris. En effet, le regroupement des chauves-souris lors de cette période augmente la densité de population et favorise le risque de transmission du virus. Les virus à ARN seraient, par ailleurs, plus souvent détectés par RT-PCR lors de la formation de la colonie et juste après la parturition (Amman *et al.*, 2012 ; Olival et Hayman, 2014). Pourrut et ses collaborateurs ont également montré, en 2007, que la prévalence d'IgG contre le virus Ebola était de 6 % chez les adultes et nulle chez les jeunes, suggérant une transmission horizontale du virus plutôt que verticale.

Certains événements du cycle de vie des Chiroptères sont donc propices à une multiplication et une transmission du virus. De plus, certains genres de chauves-souris sont connus pour vivre proches des Hommes, dans des arbres, des grottes ou même des immeubles, augmentant le risque de transmission zoonotique (Yuan *et al.*, 2012). Le lieu de

vie mais aussi la répartition géographique des chiroptères constituent un facteur de risque de transmission zoonotique du virus Ebola.

2. Répartition géographique

2.1. D'espèces de chauves-souris réceptives à l'infection par les *Filoviridae*

Pigott *et al.* (2014) ont modélisé la distribution géographique en Afrique des trois espèces de chauves-souris fortement suspectées de constituer des espèces réservoirs de virus Ebola (Figure 16). *Hypsignathus monstrosus* a été identifié dans 67 lieux (points noirs sur la carte A), *Myonycteris torquata* a été identifié dans 52 lieux (points noirs sur la carte B) et *Epomops franqueti* dans 120 lieux (Carte C). A partir de ces points, ils ont modélisé une carte de distribution pour chacune des espèces. Ces trois cartes ont été combinées dans la carte D qui illustre la probabilité de présence de ces trois espèces en Afrique. Ces espèces sont surtout présentes en Afrique centrale et en Afrique de l'Ouest. Or ces régions comprennent les lieux où des épidémies à virus Ebola ont eu lieu et où une transmission zoonotique est avérée ou supposée (Figure 17). En particulier, ces espèces se trouvent être présentes dans la zone où l'épisode le plus récent et le plus inattendu de maladie à virus Ebola a eu lieu. Cette zone comprend plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest dont la Guinée, le Libéria et la Sierra Leone. En se basant sur cette carte de répartition, l'émergence de la maladie du virus Ebola dans cette région d'Afrique n'est plus si surprenante. La présence de ces chiroptères dans des régions où des épidémies n'ont pas encore eu lieu constitue donc un sérieux facteur de risque, au vu de l'épisode récent en Afrique de l'Ouest. Le virus Ebola y est susceptible d'être transmis de ces chauves-souris à l'Homme, de la même façon que dans les pays limitrophes où une telle transmission zoonotique est avérée (ou fortement supposée). La répartition des chauves-souris dans certains pays d'Afrique apparaît donc en soi un facteur de risque d'émergence de la maladie à virus Ebola.

Figure 16 : Répartition prédite des trois espèces de chiroptères principales et considérées comme étant le réservoir du virus Ebola le plus probable (Pigott et al., 2014)

(A) Répartition géographique de *Hypsignathus monstrosus*, (B) de *Myonycteris torquata* et (C) de *Epomops franqueti*. Sur chaque carte, les points noirs représentent les lieux où la présence de ces espèces a été rapportée par le « Global Biodiversity Information Facility » (GBIF, 2014) et qui ont servi pour la modélisation (*H. monstrosus*, n=67 ; *E. franqueti*, n=120 ; *M. torquata*, n=52). Ces répartitions sont délimitées par un trait noir correspondant à une modélisation générée par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (IUCN) (Schipper et al., 2008). La légende des différentes couleurs représente la probabilité relative que les espèces soient présentes de 0 (blanc, faible) à 1 (vert, forte). (D) est la carte de distribution combinée des trois espèces, établie à partir des probabilités relatives d'apparition des espèces présentées dans les cartes (A-C).

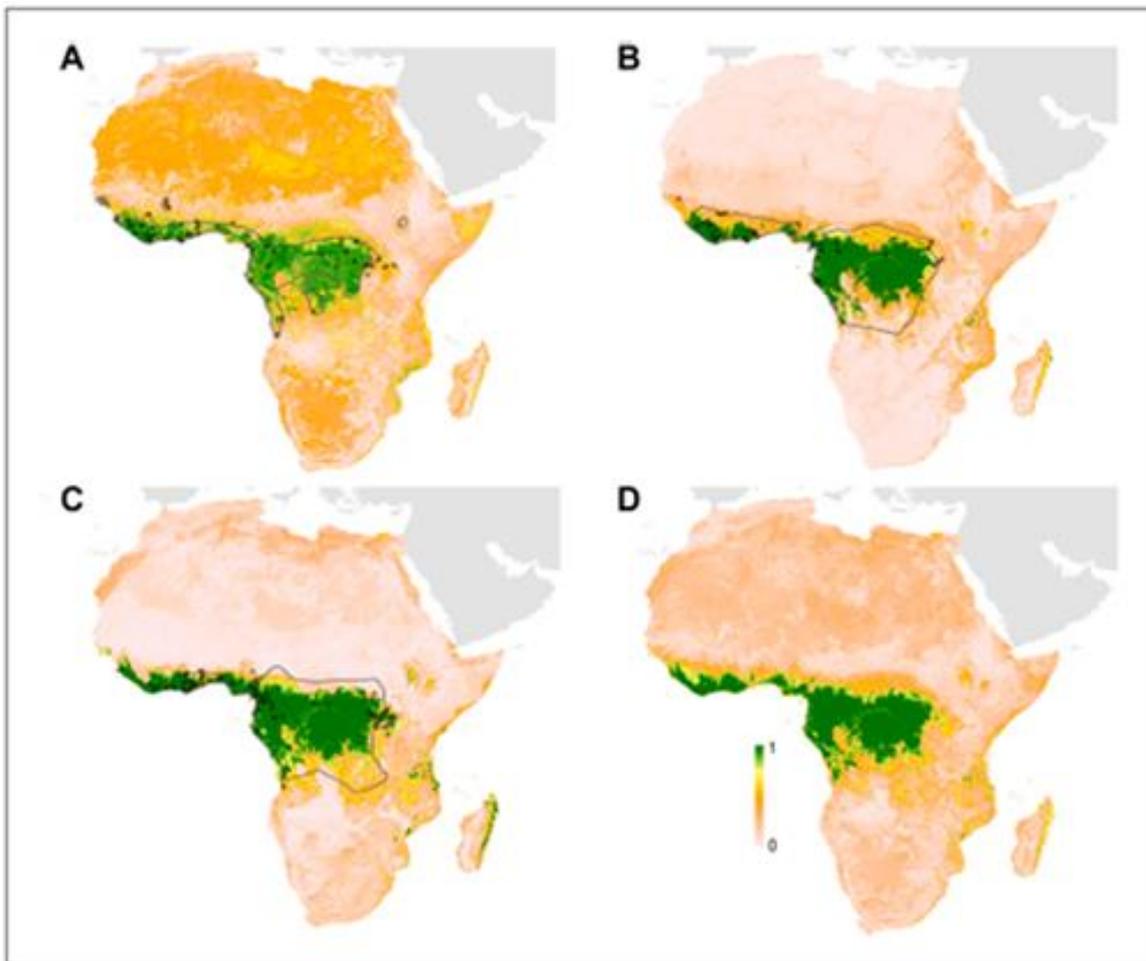
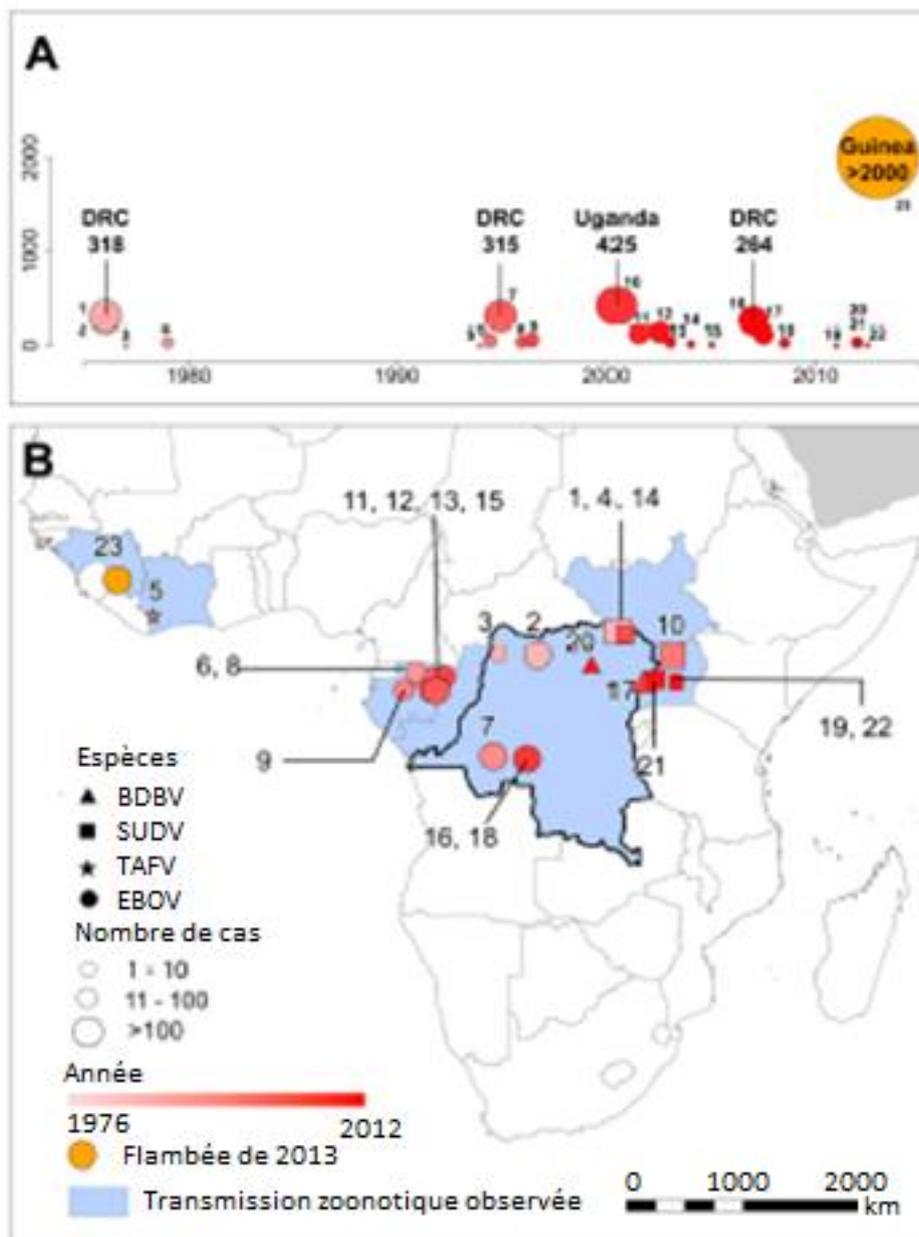


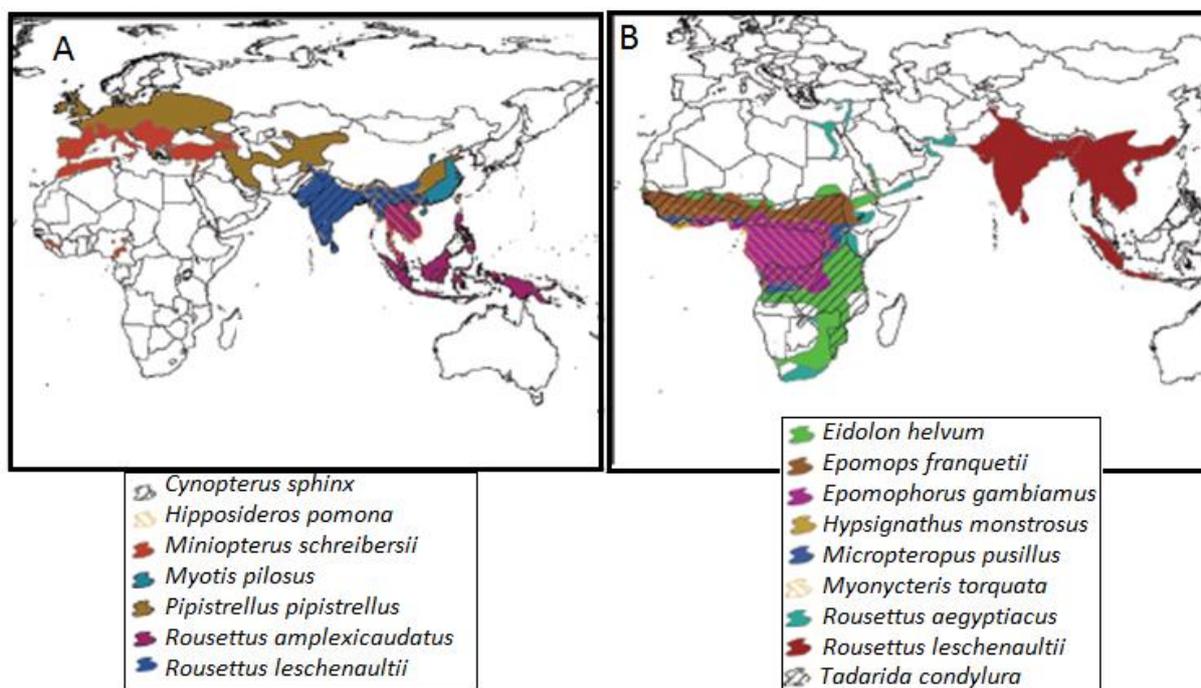
Figure 17 : Carte de localisation des différentes flambées humaines de maladie à virus Ebola en Afrique (Inspirée de Pigott *et al.*, 2014)

(A) Illustre les 23 flambées reportées en Afrique au cours du temps avec le pays concerné et le nombre de cas en ordonnée. (B) présente une carte de répartition des cas index pour chaque flambée. Les espèces de virus Ebola responsables de chaque flambée sont représentées par un symbole dont la taille représente le nombre de cas et la couleur l'année d'apparition. La flambée actuelle en Afrique de l'ouest est indiquée par le cercle de couleur jaune. Les pays où une transmission zoonotique a été reportée ou est fortement suspectée sont colorés en bleu. DRC=République Démocratique du Congo ; BDBV : Ebola virus Bundibugyo ; SUDV : Ebola virus Soudan ; TAFV : Ebola virus Forêt du Taï ; EBOV : Ebola virus Zaïre.



Olival *et al.* (2014) ont quant à eux modélisé la répartition de toutes les espèces de chauves-souris susceptibles d'être un hôte réservoir pour le virus Ebola (Figure 18). Il s'agit des espèces de chiroptères chez lesquelles des traces de l'infection par le virus (ARN viral ou anticorps) ont été retrouvées (Tableau 8). Ils ont ainsi modélisé deux cartes : l'une montrant la répartition des chauves-souris susceptibles d'être porteuses de RESV, et l'une montrant la répartition géographique des chauves-souris susceptibles d'être porteuses d'EBOV. Il est intéressant de constater que ces chauves-souris sont largement répandues dans le monde. Les espèces de chauves-souris chez lesquelles une infection par RESV a été mise en évidence sont présentes essentiellement en Europe et en Asie et constituent donc un facteur de risque potentiel d'émergence du virus Ebola au sein de la population humaine dans ces pays. Cependant, ce risque est à nuancer puisque RESV n'a pas été à ce jour, à l'origine de cas humains. En revanche, EBOV est beaucoup plus pathogène pour l'Homme et ses potentiels hôtes réservoirs se distribuent largement en Afrique et en Asie et ne sont pas simplement cantonnés à l'Afrique centrale et de l'Ouest. La répartition géographique de ces chiroptères constitue donc un facteur de risque potentiel d'émergence du virus dans des nouveaux pays.

Figure 18 : Répartition géographique des espèces de chauves-souris susceptibles d'être des hôtes réservoirs pour (A) RESV, (B) EBOV (inspirée de Olival *et al.*, 2014)



2.2. Identification d'espèces de chauves-souris susceptibles d'être réceptives à l'infection par les *Filoviridae* et modélisation de leur répartition géographique

Han *et al.* (2016a) ont, grâce à des techniques de modélisation et à partir des connaissances biologiques et écologiques connues des chauves-souris déjà identifiées comme réceptives aux virus, établi une liste de nombreuses autres espèces de chauves-souris ayant de grandes chances d'être réceptives aux *Filoviridae* (avec une précision de 87%) ainsi qu'une carte de leur répartition géographique probable.

Comme il a été vu dans la partie 1, plusieurs espèces de chauves-souris ont été reconnues séropositives lors de la recherche d'Ac dirigés contre les *Filoviridae*. En particulier, trois espèces ont aussi montré leur capacité à répliquer le virus Ebola après inoculation expérimentale et de l'ARN viral a été découvert chez trois espèces naturellement infectées (Han *et al.*, 2016a).

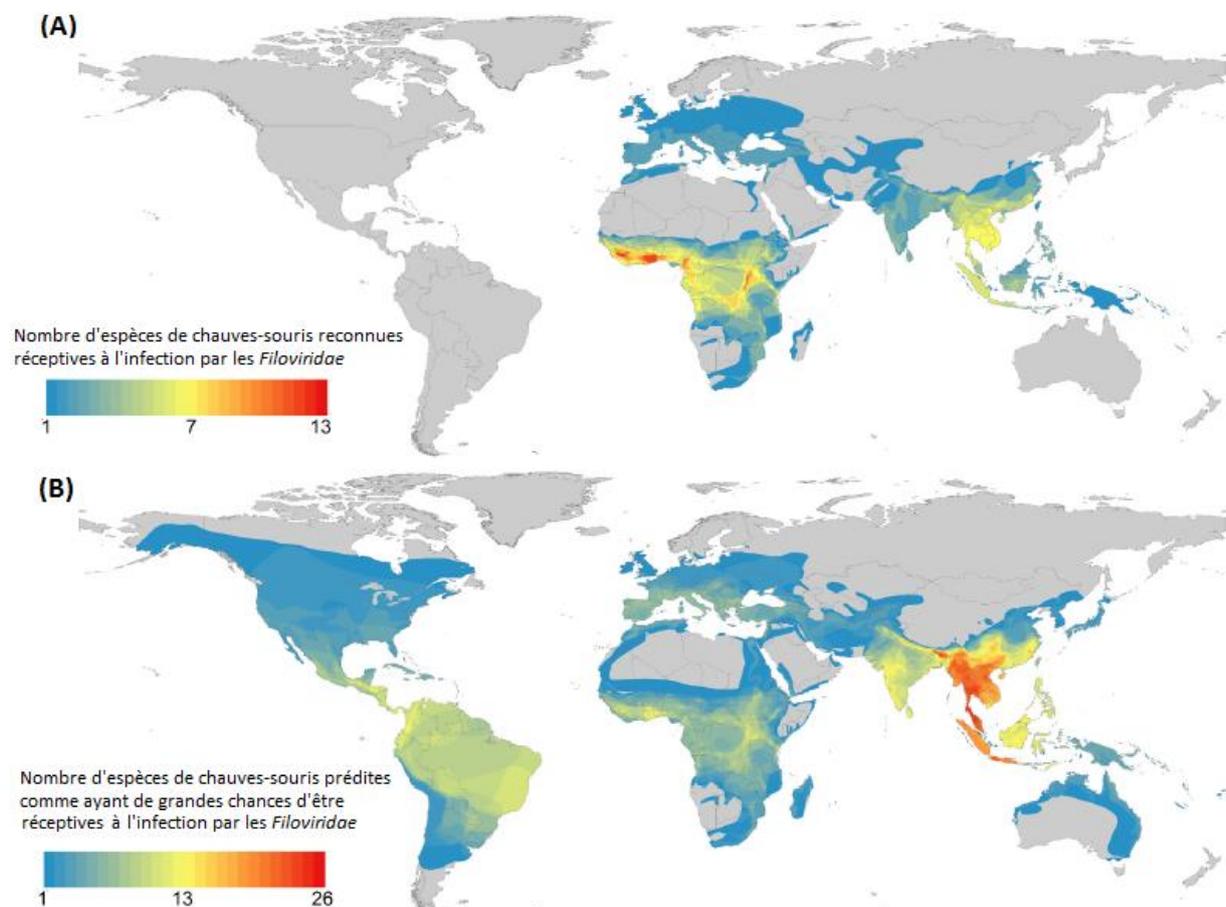
La modélisation de Han *et al.* (2016a) prend en compte plus de 57 variables décrivant la biologie, l'écologie, la taxonomie ou encore la biogéographie des espèces étudiées. Ces différents paramètres ont été étudiés pour identifier les caractéristiques des espèces réceptives au virus. Une comparaison entre les espèces de chauves-souris connues à ce jour a permis d'identifier celles les plus à même d'être réceptives au virus. Parmi ces paramètres pris en compte dans la modélisation, il est notamment possible de citer : Le taux de croissance post natal, l'âge relatif de la maturité sexuelle, l'âge relatif lors de la première mise bas, la densité de population dans les régions étudiées, le régime alimentaire, l'activité physique, l'activité de torpeur et l'activité migratoire, la masse produite corrigée (masse moyenne des rejetons produit par an normalisé par le poids de l'adulte) et enfin une éventuelle réceptivité au virus déjà connue ou non. 21 des 1116 espèces de chauves-souris ont fourni des résultats positifs lors de la recherche d'une infection par les *Filoviridae*, quel que soit le virus impliqué au sein de cette famille, et tous types de diagnostic confondus. Onze de ces espèces appartiennent à la famille des *Pteropodidae* et les autres à quatre familles de chauves-souris insectivores (Han *et al.*, 2016a).

D'après cette étude, certaines caractéristiques propres aux chauves-souris réceptives aux *Filoviridae* pourraient être distinguées. En particulier, les petits seraient plus gros à la naissance et au sevrage par rapport aux petits d'autres espèces. Elles produiraient plus de biomasse par rapport au poids. De plus, ces chauves-souris vivraient en plus grands groupes par rapport aux autres espèces. Vivre en groupe apporte de nombreux bénéfices mais aussi des désavantages. En particulier, une plus forte densité de population augmenterait les risques de transmission d'agents pathogènes et les colonies seraient également plus visibles pour les prédateurs et les chasseurs. Il est possible qu'en réponse à l'augmentation des risques de mortalité dus à ces handicaps, ces chauves-souris compensent par un taux de reproduction plus rapide. En effet, Han *et al.* (2016a) ont constaté que ces chauves-souris mettaient au monde plus de petits par an et que l'âge de maturité sexuelle était plus précoce comparé aux autres espèces non considérées comme ayant de grandes chances d'être réceptives aux *Filoviridae*.

La répartition géographique de ces chauves-souris prédites comme ayant de grandes chances d'être réceptives aux *Filoviridae* est plus large que la répartition effective des chauves-souris connues pour être réceptives (Figure 19). Cette dernière regroupe essentiellement l'Afrique Subsaharienne et l'Asie du Sud-Est alors que la modélisation prédit un répartition beaucoup plus large, et incluant d'autres pays d'Asie du Sud Est comme la Thaïlande, la Birmanie, la Malaisie, le Vietnam et l'Inde du Nord-Est ainsi que l'Amérique Centrale et du Sud (Han *et al.*, 2016a). Même si des traces d'infection virale chez des chauves-souris ont récemment été mises en évidence en Chine et au Bangladesh, une autre étude menée en Thaïlande et ayant porté sur 500 individus *Pteropus Lylei* a néanmoins donné des résultats négatifs pour la recherche d'anticorps anti EBOV (Wacharapluesadee *et al.*, 2015).

Figure 19 : Carte de répartition géographique mondiale des chauves-souris réceptives et supposées réceptives à l'infection par les *Filoviridae* (Han *et al.*, 2016a)

(A) Répartition géographique des espèces de chauves-souris reconnues réceptives à l'infection par les *Filoviridae*. (B) Répartition géographiques modélisée des espèces de chauves-souris prédites comme étant susceptibles d'être réceptives à l'infection par les *Filoviridae* avec une probabilité de 90 %.



Parmi les 112 espèces de chauves-souris susceptibles d'être réceptives au virus avec une probabilité de 90 %, 9 espèces appartiennent au genre *Myotis* dont *Myotis ricketti* testée séropositive et *Myotis fimbriatus* testée séronégative pour RESV en Chine. Pour les 7 autres espèces, aucun test diagnostique n'a été réalisé à ce jour (Han *et al.*, 2016a).

Cette modélisation tente de dresser une liste de chauves-souris susceptibles à 90 % d'être réceptives au *Filoviridae*. La connaissance de ces chauves-souris et de leurs caractéristiques pourrait permettre de focaliser les recherches de traces virales à des espèces en particulier et d'enrichir nos connaissances concernant le rôle joué par les chauves-souris, réservoir supposé du virus Ebola. Les travaux de Han *et al.* (2016a) présentent également la répartition géographique de ces espèces prédites comme potentiellement réceptives. En particulier, de nouveaux pays d'Asie du Sud-Est se démarquent dans cette modélisation. Malgré l'absence de cas humain ou animal recensés en Asie, des traces du virus ont été retrouvées chez des chauves-souris. Des investigations supplémentaires seraient nécessaires pour comprendre l'absence de cas dans cette région du monde par rapport à l'Afrique, alors même que le virus Ebola semble circuler, et pour mieux appréhender les caractéristiques du virus Ebola et des chauves-souris réceptives.

3. Modes et facteurs de risque de transmission du virus Ebola par les chiroptères à des espèces sensibles

De nombreuses situations sont à même de constituer des facteurs de risque pour la transmission du virus Ebola par les chiroptères à des espèces sensibles. Deux situations sont à envisager :

- Les facteurs favorisant la transmission du virus des chauves-souris à des hôtes relais qui vont par la suite le transmettre aux hommes ;
- Les facteurs favorisant la transmission directe du virus des chauves-souris à l'homme.

Les chiroptères sont susceptibles de transmettre le virus Ebola à des espèces sensibles au virus et servant d'intermédiaire dans la transmission zoonotique à l'homme. Plusieurs situations à risque sont à prendre en compte dans cette évaluation du risque lié au virus Ebola. Il s'agit d'évènements concourant à augmenter la fréquence de contact entre les chauves-souris potentiellement porteuses du virus Ebola et des espèces sensibles comme les primates non humains. En effet, il a été vu précédemment que le virus se transmet à partir des fluides biologiques.

En saison sèche, la raréfaction de la nourriture, notamment des fruits, met en compétition les chauves-souris frugivores et d'autres animaux pour la recherche de nourriture. Dans ce contexte, des conflits sont à envisager et la transmission du virus peut se faire à l'occasion de morsures (Leroy *et al.*, 2005 ; Pourrut *et al.*, 2007). Le fait que les chauves-souris frugivores et les PNH possèdent le même régime alimentaire constitue en soi un facteur de risque de transmission du virus. En effet, les PNH peuvent se contaminer à

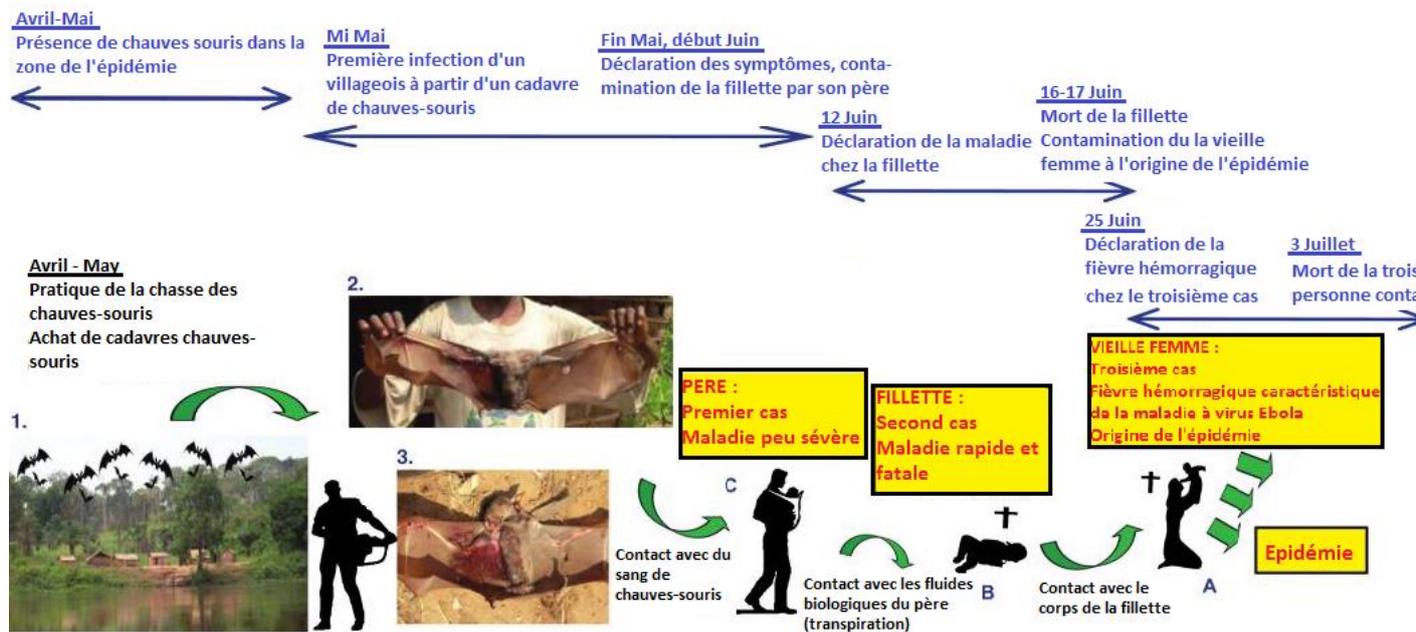
partir de fluides biologiques présents sur des fruits. La prédation est également un facteur de risque. Tout animal sensible ingérant une chauve-souris porteuse du virus Ebola est susceptible de se contaminer.

Enfin, l'hypothèse de contamination d'animaux à partir de tissus fœtaux ou de placenta de chiroptères n'est pas à exclure. En effet, des études ont retrouvé des traces du virus Hendra dans des tissus fœtaux de chiroptères. Il a été suggéré que le placenta et les fluides biologiques issus du part étaient des facteurs de risque de transmission du virus Hendra aux chevaux. Le virus Ebola se transmettant également à partir de fluides biologiques et ayant le même réservoir que le virus Hendra, une contamination à partir de fluides libérés lors du part est à envisager (Pourrut *et al.*, 2007). Elle l'est d'autant plus qu'il a été vu que la réplication virale était plus importante lors de la gestation et qu'une augmentation de l'agressivité des chauves-souris lors de cette période augmenterait les interactions avec d'autres animaux (Leroy *et al.*, 2005)

De la même façon, la transmission du virus Ebola à l'Homme se fait essentiellement par ingestion de chauves-souris porteuses du virus, ainsi que très probablement par morsure ou contact avec des fluides biologiques (Leroy *et al.*, 2005 ; Osterholm *et al.*, 2015). Leroy *et al.* ont, pour la première fois en 2009, mis en évidence un lien entre les êtres humains et les chauves-souris lors de l'épidémie de 2007 en RDC. A partir d'une étude rétrospective, et d'investigations épidémiologiques réalisées auprès des habitants, ils ont réussi à recréer la chaîne de transmission probable de l'épidémie (Figure 20). Chaque année, lors de leur flux migratoire, les chauves-souris font un arrêt transit de plusieurs semaines, entre avril et mai, dans la zone où a eu lieu l'épidémie. La concentration de chauves-souris augmente énormément au cours de cette période. L'activité de chasse de chauves-souris s'intensifie considérablement aussi. De nombreuses chauves-souris sont tuées et vendues à des proches ou sur des marchés. Le premier cas humain de maladie à virus Ebola dans le contexte de cette épidémie de 2007 était très probablement un habitant qui achetait régulièrement de la viande de chauves-souris. Ce dernier aurait été en contact direct avec une ou des carcasses de chauves-souris infectées par le virus et aurait développé des symptômes peu sévères. Cet individu aurait ensuite transmis le virus à sa fille de quatre ans, probablement à partir de fluides biologiques (Leroy *et al.*, 2009). Une étude récente a en effet montré la présence du virus Ebola dans la salive, les larmes et la peau notamment (Bausch *et al.*, 2007). La petite fille est décédée après avoir développé des symptômes pouvant être rapportés à la maladie à virus Ebola (vomissements, diarrhée, fièvre élevée) bien qu'aucun signe hémorragique n'ait été relevé. La troisième personne à s'être infectée, une vieille femme parente de la fillette, constitue le cas index ayant induit l'épidémie. Elle s'est contaminée après avoir lavé le corps de la fillette et a développé des symptômes de fièvre hémorragique. Onze personnes ayant été à son chevet ont par la suite développé cette même fièvre hémorragique (Leroy *et al.*, 2009).

Figure 20 : Diagramme schématique de la chaîne de transmission du virus Ebola à partir d'une chauve-souris lors de l'épidémie de 2007 en République Démocratique du Congo (Leroy et al., 2009)

La photographie 1 montre un village près des îles où les chauves-souris migratrices s'installent en avril et mai. La photographie 2 montre la principale espèce de chauves-souris migratoire (*Hypsignathus monstrosus*) chassée par les villageois en avril et mai. La troisième photographie montre comment les villageois manipulent les chauves-souris qu'ils tuent et consomment, mettant en évidence le contact direct avec le sang et d'autres fluides biologiques de ces chauves-souris potentiellement infectés.



L'étude menée par Leroy et ses collaborateurs a donc mis en évidence le rôle zoonotique très probable joué par les chauves-souris dans la transmission du virus Ebola. Une contamination directe de l'homme à partir des chauves-souris semble possible et tout facteur augmentant les interactions avec les chauves-souris est donc un facteur de risque potentiel de transmission zoonotique du virus.

Il a été vu que les chiroptères seraient le réservoir le plus probable du virus Ebola. La possibilité d'évolution du virus, au sein de son réservoir, rendant la transmission aux hommes et l'émergence de nouvelles épidémies plus probables, est envisagée dans le paragraphe suivant. A la lumière de cette hypothèse, il est intéressant de se pencher sur le positionnement du virus Ebola, par rapport aux différentes catégories d'agents zoonotiques, et sur son potentiel évolutif.

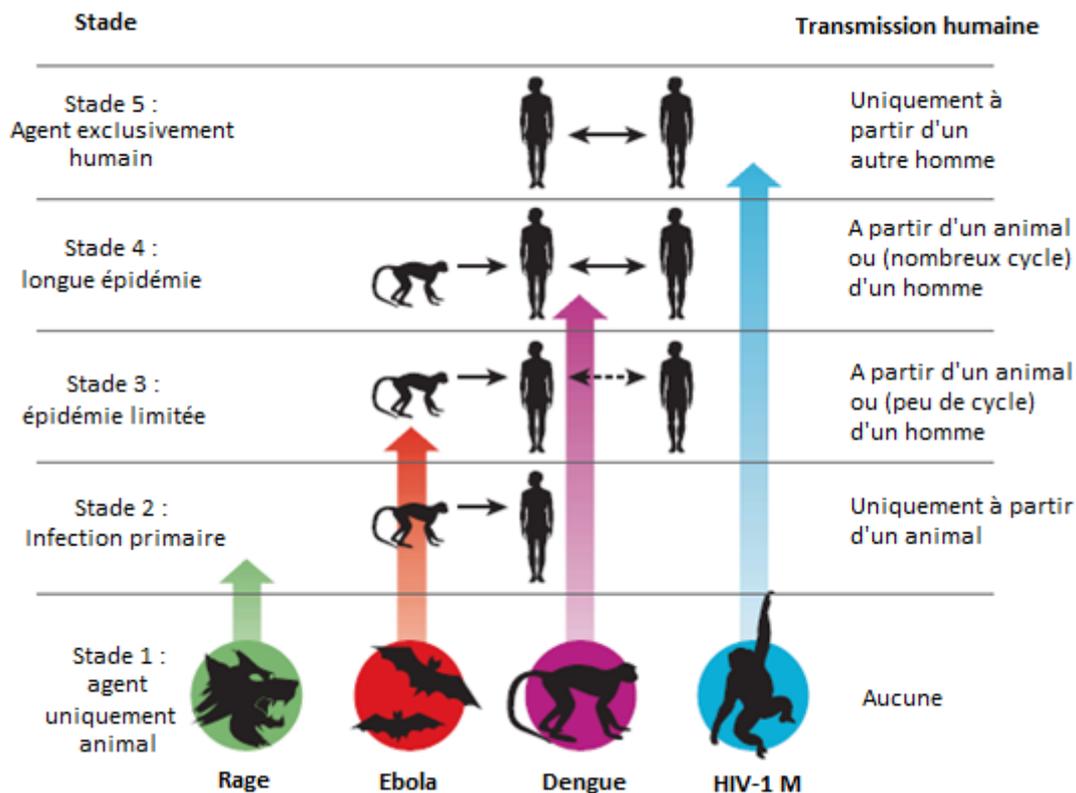
4. Evolution du virus Ebola au sein des chauves-souris et émergence de maladies

Wolfe *et al.* (2007) ont illustré les origines des maladies émergentes humaines en établissant cinq stades d'évolution d'un agent pathogène exclusivement animal (stade 1) en un agent pathogène infectant uniquement l'Homme (stade 5). Ils ont classé le virus Ebola comme étant un virus de stade 3 c'est-à-dire comme un agent pathogène animal capable de se transmettre d'un animal à l'Homme (transmission primaire) et entre humains (transmission secondaire) aboutissant à des épidémies occasionnelles. Ces épidémies trouvent leur origine dans un cas index décédé très rapidement. Cependant, selon Wolfe *et al.*, la combinaison de certains facteurs anthropogéniques (augmentation démographique, développement de techniques rendant plus efficace la transmission de maladies entre humains comme la transfusion sanguine ou la commercialisation de la viande de brousse, déplacements de populations) réunit les conditions nécessaires au passage du virus Ebola stade 3 à 4. A ce stade, le virus Ebola peut être à l'origine de nombreuses épidémies humaines. La transmission interhumaine est facilitée par de nombreux facteurs de risque exposant les Hommes au virus. Les stades développés par Wolfe *et al.* (2007) sont illustrés dans la figure 21. Alors que les virus de stade 5, qui se sont adaptés à l'Homme au cours de leur évolution, au point d'être devenus capables de se multiplier et de se propager uniquement au sein de l'espèce humaine, se sont affranchis de leur réservoir, ce n'est pas le cas du virus Ebola, dont la transmission nécessite toujours une source animale initiale à l'origine du cas index. EBOV, à l'origine de l'épidémie qui vient tout juste de s'achever, peut être considéré comme un virus de stade 4. Les virus de stade 4 ou 5 sont les plus à risque de donner lieu à des épidémies. La transmission interhumaine à un niveau élevé du virus Ebola fait craindre un passage au stade 5 même si cela n'est pas encore arrivé, et si les virus isolés en « queue » d'épidémie lors de la dernière flambée n'ont pas présenté de mutations indiquant la sélection de variants plus adaptés à l'Homme. Au bilan, la transmission interhumaine a été extrêmement importante, sans pour autant mener à un passage au stade 5. Cette éventualité, bien que peu probable, n'est cependant pas à exclure. Dans cette hypothèse, une épidémie de grande ampleur pourrait être associée à une adaptation du virus à l'homme. Pour le moment au moins, l'adaptation et la pérennité du virus Ebola au sein des populations de chauves-souris représente le principal facteur de risque d'émergence de la maladie au sein des collectivités humaines. L'épidémie sévissant depuis 2013 et jusqu'en 2016 en est la preuve. Il s'agit de la plus grave jamais rencontrée.

On peut conclure que cette dernière émergence de maladie à virus Ebola est moins liée à la capacité d'évolution du virus qu'à des facteurs anthropogéniques (cf. infra), lesquels seraient à l'origine d'un passage au stade 4 plutôt qu'une adaptation du virus. EBOV est susceptible d'être à l'origine de très nombreuses transmissions secondaires. On ne peut cependant exclure que l'évolution du virus Ebola au sein de son réservoir le plus probable, les chiroptères, ne puisse constituer un facteur de risque d'émergence d'épidémies associées à des souches de plus en plus virulentes et/ou à un potentiel accru de transmission interhumaine.

Figure 21 : Illustration des cinq stades d'évolution/catégories d'agents microbiens à réservoir animal et aboutissant à des maladies humaines (Wolfe *et al.*, 2007)

Les 4 agents choisis (Rage, Ebola, Dengue, HIV-1 M) ont atteint différents stades au cours de leur évolution.



II- Analyse du rôle de l'hôte relais dans la transmission zoonotique de la maladie à virus Ebola à l'homme

1. Evaluation des facteurs de risque liés à la faune sauvage

1.1. Les primates non humains

1.1.1. Apport des données expérimentales

Du fait de leur génétique très proche de l'homme, plusieurs travaux ont été menés sur des PNH (Singes verts, singes cynomolgus, macaques rhesus, babouin hamadryas) afin d'étudier l'infection par le virus Ebola. Les modèles qui en découlent ont permis, entre autres, d'étudier la pathogénie, les symptômes et lésions de l'infection chez les PNH, mettant en évidence leur haute sensibilité, mais également les modes de transmission du virus entre PNH et des PNH aux hommes (Jaax *et al.*, 1995 ; Johnson *et al.*, 1995 ; Jahrling *et*

al., 1996 ; Perry *et al.*, 2012 ; Nakayama et Saijo, 2013). Une attention plus particulière a été accordée à une transmission éventuelle par aérosol.

1.1.1.1. Etudes de la sensibilité des PNH en fonction de mode d'inoculation

Jaax et ses collaborateurs, ont, en 1995, étudiée la sensibilité des PNH suivant le mode d'inoculation et l'espèce virale. Ils ont constaté que les singes exposés oralement et par aérosols au virus Ebola (espèces RESV et EBOV) ainsi que l'inoculation intra musculaire ou conjonctivale étaient à l'origine d'une infection et d'une mort rapide (Osterholm *et al.*, 2015).

La même année, une autre étude s'est intéressée à la sensibilité de six singes rhésus. Ces derniers ont été infectés par EBOV par inhalation d'aérosols infectés. Tous les singes exposés ont développé les signes connus de la maladie à virus Ebola, similaires à ceux provoqués par une inoculation parentérale du virus. La maladie développée a rapidement été fatale (Johnson *et al.*, 1995).

Ces études confirment donc la sensibilité des singes au virus Ebola et ont poussé la communauté scientifique à s'intéresser aux modes de transmission du virus entre singes pour envisager les modes de transmission du virus aux hommes et prendre des précautions appropriées, en particulier dans les environnements à risques.

1.1.1.2. Etudes des modes de transmission entre PNH

Il a été vu que le virus Ebola se transmet par contact par les fluides biologiques d'un animal ou d'une personne contaminée. Plusieurs faits épidémiologiques et expérimentaux suggèrent qu'une transmission par aérosol entre singes, et du singe à l'homme, pourraient aussi avoir lieu, bien que les épidémies de maladie à virus Ebola ayant eu lieu en Afrique ne placent pas une telle transmission au premier plan, sauf dans quelques cas. En particulier, lors de l'épidémie de RESV ayant eu lieu aux USA parmi des singes importés de Philippines et mis en quarantaine, le virus s'est propagé entre les différentes salles alors que la distance entre les cages n'était pas en faveur d'une contamination par contact (Johnson *et al.*, 1995 ; Rollin *et al.*, 1999 ; Nakayama et Saijo, 2013). Lors de ce même épisode, des anticorps anti RESV ont été retrouvés chez des membres du personnel de laboratoire n'ayant pas développé de symptômes. Parmi ces six personnes, cinq n'avaient pas d'historique de transmission possible par contact avec des PNH, soulevant l'éventualité d'autres voie de contamination, en particulier la transmission par aérosols (Johnson *et al.*, 1995 ; Osterholm *et al.*, 2015).

Une étude a donc été menée par Jaax *et al.* (1995) pour étudier la transmission du virus entre singes n'ayant pas de contact direct. Des singes rhésus ont été inoculés par voie parentérale avec EBOV. Des singes naïfs ont été placés dans la même pièce. Les singes ont

été placés dans des cages disposées à une distance de 3m, ne pouvant pas permettre de contact entre eux. Deux des trois singes n'ayant pas été inoculés ont développé la maladie 10 à 11 jours après la mort des singes inoculés, eux même morts 13 jours après l'inoculation. L'hypothèse de transmission a été la suivante : la contamination a eu lieu par aérosols ou par exposition des conjonctives à des gouttelettes contenant des particules virales. L'autopsie réalisée sur les singes contaminés, mais non inoculés initialement, a permis de retrouver de fortes concentrations virales dans les poumons et les sécrétions nasales ainsi que des lésions de pneumonies interstitielles (Jaax *et al.*, 1995 ; Schou et Hansen, 2000 ; Osterholm *et al.*, 2015). Le mode de transmission n'a pu être déterminé avec exactitude mais il est intéressant de noter que les lésions retrouvées sur ces singes naïfs s'avèrent être les mêmes que celles retrouvées chez des singes inoculés par aérosols (Johnson *et al.*, 1995). Ceci est en faveur d'une infection par aérosol même si les comportements des singes favorisant une contamination par contact avec des fluides biologiques, comme le fait de cracher ou de recourir à la pulvérisation de fèces, ne sont pas à exclure (Jaax *et al.*, 1995 ; Osterholm *et al.*, 2015).

Dans une seconde étude, le mode d'inoculation du virus a été changé. Deux singes ont été infectés par injection intra musculaire (IM) d'EBOV, mis dans des cages et placés, sans contact possible, près de deux singes non inoculés. Six jours après l'inoculation, un titre élevé de virus a été détecté dans le sang des singes inoculés mais aucune trace virale n'a été retrouvée dans les échantillons oraux, nasaux et rectaux prélevés. Le virus n'a pas été transmis (Osterholm *et al.*, 2015).

En bilan, indépendamment de la voie d'inoculation (orale, conjonctivale, intramusculaire, sous cutanée, aérosol de particules virales) l'infection des PNH aboutit à un tableau clinique similaire et est rapidement fatale. Ils sont donc réceptifs et très sensibles (Johnson *et al.*, 1995 ; Nakayama et Saijo, 2013). De plus, alors que la contamination par contact direct avec des fluides biologiques est connue, la possibilité d'infection par aérosol n'est pas exclue d'autant plus que les lésions anatomopathologiques localisées dans les poumons sont en faveur d'une telle infection. Ceci pourrait suggérer, même si elle n'a pas été démontrée, une transmission possible à l'Homme sans contact direct (Jaax *et al.*, 1995 ; Nakayama et Saijo, 2013). De plus, selon Johnson et ses collaborateurs, la « sensibilité différente des hôtes à l'infection par les filovirus pourrait être un facteur significatif influençant le degré de transmission par aérosol », les PNH étant, rappelons-le, très sensible au virus Ebola (Johnson *et al.*, 1995).

1.1.2. Facteurs de risque de contact entre les PNH et d'autres animaux sauvages

1.1.2.1. Mise en évidence de comportement de prédation entre des singes cercopithèques et des chauves-souris

Il a été vu précédemment que la transmission du virus Ebola entre les PNH et les chauves-souris se faisait essentiellement à travers le partage de l'environnement et la compétition pour la recherche de nourriture. Les PNH s'exposeraient aux fluides biologiques des chauves-souris potentiellement contaminées déposés sur les fruits où présent dans leur environnement. Les travaux menés par Tapanes *et al.* (2016) ont, pour la première fois, mis en évidence, un lien de prédation entre des singes cercopithèques et des chauves-souris, laissant supposer un nouveau risque de contamination. Des singes ont été observés se nourrissant de chauves-souris, photos et vidéos à l'appui, à treize reprises, entre avril 2007 et octobre 2014, dans deux forêts du Kenya et de Tanzanie. C'est la première fois que de tels comportements sont documentés. Trois des chauves-souris impliquées ont été identifiées comme appartenant aux Pteroptidés et quatre aux Molossidés (Tapanes *et al.*, 2016).

1.1.2.2. Les implications pour l'Homme

En 2001, au Congo, quatre personnes se seraient infectées en ingérant de la viande de *Cercopithecus Nictitans*, une espèce proche de *C. mitis*. Or des Ac anti Ebola ont déjà été retrouvés chez un cercopithèque par Leroy et ses collaborateurs en 2004. De plus *C. mitis* est une espèce qui a été vu se nourrissant de chauves-souris (cf supra) mais connue pour être également une proie pour les hommes et les chimpanzés, eux même chassés par l'homme. Il en découle donc que, compte tenu de l'activité importante de chasse de l'homme, le risque de transmission zoonotique entre l'homme et les cercopithèques est accentué par le comportement de prédation découvert chez ces derniers (Tapanes *et al.*, 2016). Ce comportement accroît le risque de contamination des cercopithèques à partir des chauves-souris et par conséquent celui des prédateurs potentiels des cercopithèques, dont l'Homme.

De plus, ces événements ont eu lieu dans des habitats modifiés par l'homme mettant en évidence la proximité géographique entre ces espèces et la probabilité non négligeable de contact (Tapanes *et al.*, 2016).

1.1.3. Facteurs de risques d'exposition des hommes aux PNH

Les PNH sont connus pour transmettre de nombreux agents de maladies à l'Homme. En particulier, les interactions entre les PNH et l'Homme auraient été à l'origine de l'émergence de maladies comme le SIDA. Il a été démontré que certaines épidémies de

maladie à virus Ebola ont débuté à partir d'un contact avec un PNH. C'est le cas de plusieurs épidémies ayant sévi aux Congo et au Gabon (Osterholm *et al.*, 2015 ; Wolfe *et al.*, 2004). L'origine de l'épidémie de 1996 au Gabon, a été associée à l'abattage d'un chimpanzé. Une étude menée parmi les chimpanzés de la Forêt du Tai a également avancé que le premier facteur de risque de contamination à partir de chimpanzé était la chasse (Formenty *et al.*, 1999 ; Wolfe *et al.*, 2004). La connaissance et l'évaluation des facteurs de risques d'exposition des hommes aux PNH et en particulier à leurs fluides biologiques sont donc importantes pour évaluer le rôle zoonotique joué par les PNH. Il est à noter que ces risques d'exposition diffèrent dans les zones où le virus circule, en particulier sur le continent africain, par rapport aux zones où le virus ne circule pas.

1.1.3.1. Sur le continent africain

Deux études distinctes ont permis d'étudier l'exposition de l'homme aux PNH en Afrique. A partir de questionnaires distribués sur la base du volontariat, des scientifiques ont recensé et analysé les différents types de contact existant entre des populations du Cameroun et de Côte d'Ivoire et les fluides biologiques de PNH. Dans l'étude de Wolfe *et al.* (2004), les auteurs distinguent les gorilles et les chimpanzés des autres singes bien que le terme de Primate Non Humain regroupe à la fois les gorilles, les chimpanzés et ces autres singes. Il n'a pas été demandé aux volontaires participant à l'enquête de distinguer les différentes espèces de singes autres que gorille et chimpanzé. La diversité des activités rapportées par la population a poussé les auteurs à distinguer une exposition directe aux fluides biologiques de PNH (griffures et morsures d'un PNH ou blessures lors de la chasse ou de l'abattage), c'est-à-dire des contacts en lien avec une effraction cutanée, d'une exposition indirecte (garder un PNH comme animal de compagnie, chasser et abattre des PNH, préparation de la carcasse, consommer de la viande de brousse) pour laquelle une effraction cutanée et donc le risque de contact avec les fluides biologiques infectés est moins probable mais tout de même non négligeable (Wolfe *et al.*, 2004 ; Mossoun *et al.*, 2015).

1.1.3.1.1. Les risques d'exposition par contact indirect

Sur 3 971 personnes questionnées dans l'étude de Wolfe et de ses collaborateurs, 0,6 % ont affirmé avoir déjà gardé un gorille comme animal de compagnie, 1,5 % un chimpanzé et 9,9 % un autre singe autre qu'un gorille ou qu'un chimpanzé. De plus, cette pratique s'est avérée plus répandue dans les zones de forêt de basse altitude que dans les zones de forêt galerie¹⁰ et de savane (Figure 22) (Wolfe *et al.*, 2004). Dans une autre étude menée par Mossoun *et al.*, 17,2 % des habitants interrogés ont reportés avoir des contacts avec des PNH tenus en captivité, en particulier des singes cercopithèques et cercocèbes (Mossoun *et*

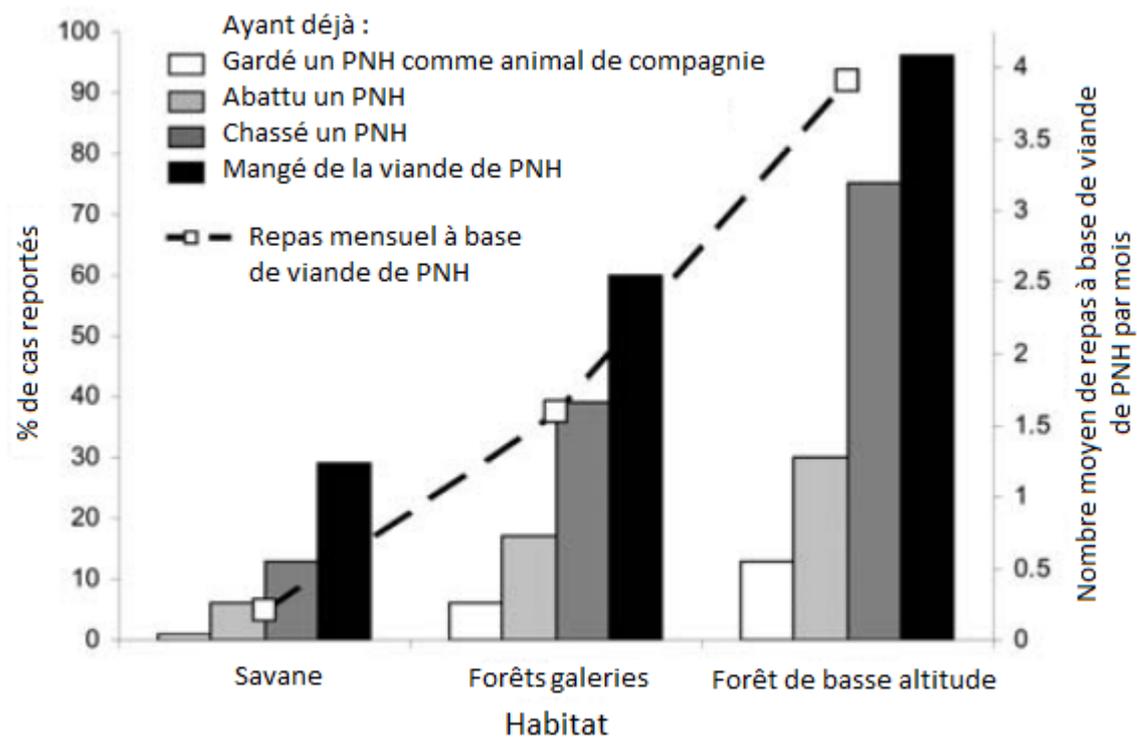
¹⁰ Forêt dense, fermée, accompagnant les cours d'eau en région tropicale

al., 2015). Le fait de garder un PNH comme animal de compagnie accentuerait donc les risques de contact indirect avec les fluides biologiques d'un PNH contaminé.

Concernant trois autres activités étudiées, la consommation de viande de PNH est prédominante par rapport à l'abattage et la chasse de PNH. Ces activités s'avèrent également plus répandues en zone de forêt de basse altitude qu'en zone de forêt galerie et qu'en zone de savane (Figure 22).

Figure 22 : Pourcentage de participants, échantillonnés dans des villages ruraux représentatifs de trois habitats du Cameroun (Savane, forêts galeries, forêts de basse altitude), ayant rapportés avoir déjà gardé un PNH comme animal de compagnie et/ou chassé un PNH et/ou abattu un PNH ainsi que la quantité moyenne mensuelle de viande de PNH consommée par habitant (Wolfe et al., 2004)

PNH : Primate non humain

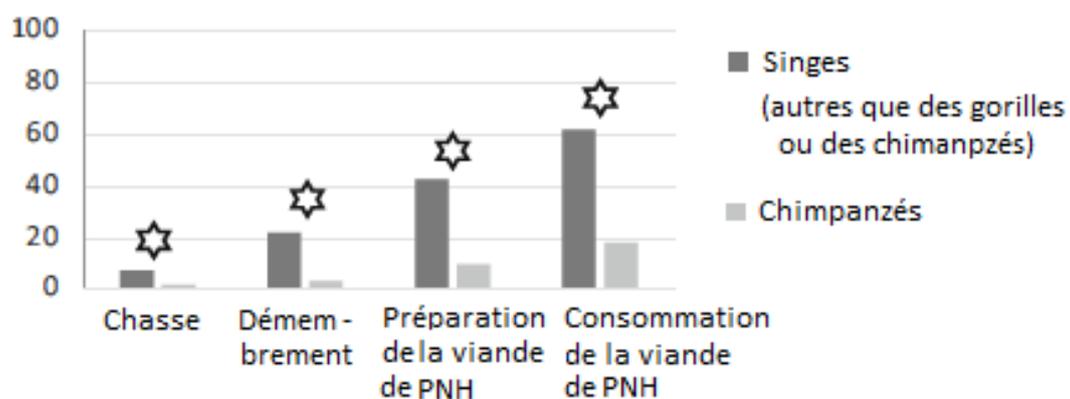


L'activité majoritaire dans cette région est la consommation de viande de brousse de PNH. 95 % des habitants ont révélé avoir déjà consommé de la viande de PNH, pour un nombre de repas mensuel de quatre, en zone de forêt de basse altitude, contre 60 % et 2,5 repas en zone de forêts galeries et 30 % et 1,5 repas en zone de savane (Wolfe et al., 2004). Dans l'étude menée en Côte d'Ivoire, 61,9 % des habitants questionnés ont rapporté manger de la viande de singe autre que gorille et chimpanzé, et 19,2 % de la viande de chimpanzé (Mossoun et al., 2015).

En zone de forêt de basse altitude, la chasse et l'abattage de PNH ont été rapportés respectivement par 75 % et 30 % des habitants contre 40 % et 15 % pour les zones de forêts galeries ainsi que 12 % et 5 % en zone dominée par la savane (Wolfe *et al.*, 2004).

Wolfe *et al.* ont également rapporté que les animaux chassés, abattus et mangés étaient plus fréquemment des singes (autres que des gorilles et des chimpanzés), puis des chimpanzés et enfin des gorilles. De la même manière, en Côte d'Ivoire, Mossoun et ses collaborateurs ont répertorié des contacts liés à la chasse, la préparation des carcasses, la préparation de la viande de PNH et sa consommation avec des autres singes qu'avec des chimpanzés (Figure 23). Parmi les participants à l'enquête, 7,7 % ont admis chasser ces autres singes, 21,3 % en démembrer les carcasses, 42,2 % en cuisiner la viande et 61,9 % en consommer. En revanche, concernant les chimpanzés, 1,7 % des participants ont révélés les chasser, 3,2 % avoir déjà démembré des carcasses, 10,2 % et 19,2 % avoir respectivement cuisiné et consommés leur viande (Mossoun *et al.*, 2015). Paige *et al.* (2014) ont, de leur côté, mis en évidence en Ouganda, que toucher une carcasse de primate non humain était le contact le plus fréquent (60,8 %) des hommes avec les primates, suivi par l'abattage (16 %), la chasse (10,4 %) et le contact avec des primates non humains vivants (9,6 %) (Paige *et al.*, 2014).

Figure 23 : Fréquence d'exposition d'habitants avec des carcasses et de la viande de primate non humain dans la région de la forêt du Taï en Côte d'Ivoire (Mossoun *et al.*, 2015)
 PNH : Primates non humains



1.1.3.1.2. Les risques d'exposition par contact direct

Wolfe et ses collaborateurs (2004) ont en outre étudié les contacts directs entre l'homme et les PNH (toutes espèces confondues), toujours dans les mêmes régions du Cameroun (Tableau 14). Sur les 3 971 personnes questionnées, 105 (2,64 %) ont, tous habitats confondus, rapporté avoir déjà été mordues ou griffées par un PNH et 66 (1,67 %) ont rapporté des blessures suites à la chasse ou l'abattage. Ces événements se sont avérés

ici encore beaucoup plus fréquents en zone de forêts de basse altitude qu'en zone de forêt galeries et encore moins en zone de savane (Wolfe *et al.*, 2004). Des résultats du même ordre de grandeur ont été mis en évidence dans une seconde étude menée en Ouganda en 2014, dans laquelle les primates étaient à l'origine de 1,7 % des cas de morsures rapportés (Paige *et al.*, 2014).

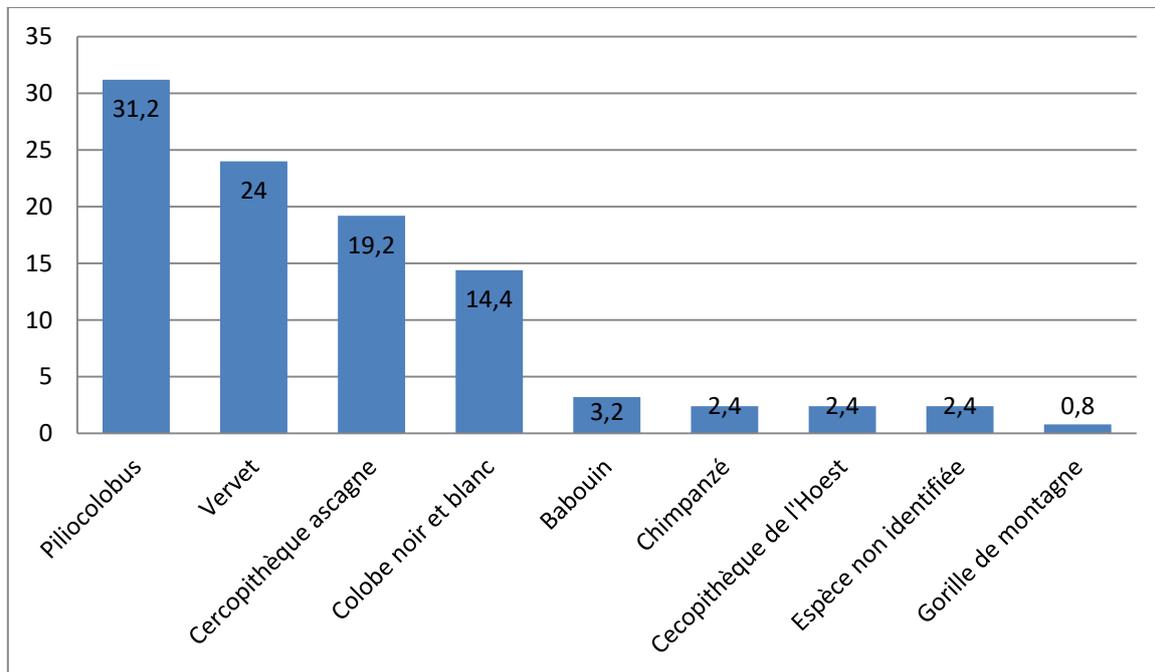
Tableau 14 : Nombre de personnes ayant rapporté des contacts directs avec des fluides biologiques de primates non humains dans 17 villages du Cameroun (Wolfe *et al.*, 2004)

N = nombre de personnes présentes dans l'habitat ; n = nombre de personnes ayant rapporté des contacts direct avec les fluides biologiques d'un PNH

Localisation du village	Personnes ayant reportés un contact direct avec des fluides biologiques de PNH	
	Morsures ou griffures, n (%)	Blessures lors de la chasse ou de l'abattage, n(%)
Zone de savane (N = 364)	0 (0)	2 (0.55)
Zone de forêts galeries (N = 564)	8 (1.42)	7 (1.24)
Zone de forêts de basse altitude (N = 3,043)	97 (3.19)	57 (1.87)
Toutes zones confondues (N = 3,971)	105 (2.64)	66 (1.67)

Parmi les habitants ayant rapporté ces contacts directs, Wolfe et son équipe ont constaté que 91,2 % ont également rapportés abattre des PNH, 73,0 % chasser des PNH et 43,1 % garder des PNH comme animal de compagnie. Enfin, la plupart de ces contacts directs étaient dus à des singes autres que des gorilles et des chimpanzés (73,7 %), mais également des gorilles (16,7 %) et des chimpanzés (9,6 %) (Wolfe *et al.*, 2004). Paige *et al.* (2014), dans leur étude menée en Ouganda, ont donné plus de précisions concernant la fréquence de contact selon l'espèce de primates concernée (Figure 24). Dans cette région, des contacts avec de nombreuses espèces de singes ont été répertoriés. Quatre espèces sont en particulier impliquées, à savoir le pilicolobus, le vervet, le cercopithèque ascagne et le colobe noir et blanc, pour lesquels la fréquence de contact est supérieure à 14 %.

Figure 24 : Fréquence de contact entre différentes espèce de primates et les hommes aux alentours du parc national de Kibale en Ouganda (Paige *et al.*, 2014)



1.1.3.1.3. Bilan sur les facteurs de risque d'exposition de l'Homme aux PNH en Afrique

Au bilan, le degré d'exposition des hommes aux PNH est élevé dans certains villages d'Afrique rurale.

Parmi les habitants questionnés, 11 % ont rapportés garder des PNH en captivité, essentiellement des jeunes animaux. La fréquence des contacts avec un animal de compagnie étant très importante, cette activité constitue un facteur de risque notable d'exposition au virus.

La probabilité d'exposition, directe et indirecte, aux fluides biologiques des singes autres que les gorilles et les chimpanzés est plus importante que la probabilité d'exposition aux fluides biologiques des gorilles et des chimpanzés (Mossoun *et al.*, 2015 ; Wolfe *et al.*, 2004).

Les activités rapportés dans ces études se révèlent plus nombreuses en zone de forêt de basse altitude en Côte d'Ivoire comme au Cameroun (Wolfe *et al.*, 2004 ; Mossoun *et al.*, 2015). Ceci est sans doute dû au fait que la densité et la diversité de la faune sauvage est plus importante dans ces zones (Wolfe *et al.*, 2004).

Le nombre de contacts indirects est par ailleurs plus important que le nombre de contacts directs. Cependant, les personnes reportant des contacts directs reportent généralement également des contacts indirects concomitants. Plusieurs facteurs de risque semblent donc se recouper.

Certains éléments venant nuancer ces résultats sont cependant à prendre en compte. En particulier, les blessures liées à l'abattage seraient moins marquantes et donc sous-déclarés par rapport aux blessures liées à la chasse. Ainsi les blessures liées à cette activité, et donc les contacts directs seraient sous représentés (Wolfe *et al.*, 2004). De plus, la chasse de PNH et la commercialisation de viande de brousse étant interdites, le nombre de personnes déclarant avoir déjà consommé de la viande de PNH serait inférieur au nombre réel ; certaines personnes ne répondant pas objectivement au questionnaire par peur de représailles (Mossoun *et al.*, 2015). Ces éléments seront évoqués plus en détails dans le chapitre IV.

L'exposition de l'Homme aux PNH a lieu par l'intermédiaire de différentes activités jouant le rôle de facteurs de risque de contact direct et indirect avec leurs fluides biologiques et donc de transmission du virus Ebola, et ce d'autant plus que deux études ont déjà montré l'existence de tels contacts dans deux pays d'Afrique, le Cameroun et la Côte d'Ivoire, pays ayant été auparavant le lieu d'épidémies de maladie à virus Ebola. De plus, certaines des activités étudiées (en particulier la chasse et l'abattage) ont déjà été reliées à des épidémies passées. Il semble donc légitime d'envisager que ces activités, facteurs de risque potentiels de transmission zoonotique du virus Ebola, pourraient un jour donner lieu à l'émergence d'une nouvelle épidémie. En outre, Switzer et ses collaborateurs, ont, en 2012 mené une étude en République Démocratique du Congo et suggéré qu'un simple contact avec des fluides biologiques de primates déposés dans la jungle pouvait mener à la transmission d'agents zoonotiques, en particulier les retrovirus simiens. En effet, une infection par de tels virus a été détectée chez 16 personnes (12,5 %). Or deux d'entre elles ont déclaré avoir seulement pénétré dans une zone de forêt où des primates vivaient, sans avoir eu aucun contact avec ces derniers (Switzer *et al.*, 2012).

1.1.3.2. Sur les continents où le virus ne circule pas

Dans les pays plus industrialisés où le virus ne circule pas, le risque de transmission du virus est considérablement plus faible et les modes de contacts diffèrent du continent africain. L'exposition à des PNH potentiellement infectés pourrait avoir lieu essentiellement dans les laboratoires expérimentaux utilisant des PNH (Wolfe *et al.*, 2004). Le personnel de laboratoire, ayant des contacts fréquents avec des PNH est considéré comme une population à risque ; d'autant plus que la transmission de certaines maladies à partir de PNH (*Herpesvirus B*, SIV) à du personnel de laboratoire a déjà été rapportée (Wolfe *et al.*, 2004). A titre d'exemple, il est possible de citer les épidémies de RESV ayant eu lieu entre 1989 et 1996 chez des singes importés de Philippines aux Etats-Unis. Quatre membres du personnel de laboratoire ont présenté une séroconversion sans manifester de symptômes. Parmi eux, une personne a été contaminée lors de l'autopsie d'un singe. Pour les trois autres, un contact direct est supposé mais une contamination par inhalation de particules virales ou *via* les conjonctives n'a pas été écartée et a été considéré comme pouvant correspondre à des

modes de contamination possibles (Schou et Hansen, 2000 ; Osterholm *et al.*, 2015). L'importation d'animaux sensibles comme les PNH d'une zone où le virus circule (continent africain, Asie du sud-est) constitue donc potentiellement un facteur de risque non négligeable d'introduction de la maladie à virus Ebola au sein de de pays où le virus ne circule pas. Cependant, il n'est désormais possible d'acquérir des PNH à des fins expérimentales que s'ils proviennent d'élevages agréés et donc très contrôlés. Le facteur de risque lié à l'importation de primates non-humains d'une zone où le virus circule n'est donc plus d'actualité, sauf en situation très théorique de fraude.

Des contacts avec des PNH sont également possibles dans les parcs zoologiques et les cirques mais les importations de ces animaux sont, de la même manière que celle des animaux destinés à des laboratoires expérimentaux, contrôlées et règlementées. Dans les années 80-90, les singes, en particulier les singes capucins, étaient utilisés comme aide aux personnes tétraplégiques, constituant, même si aucun cas d'infection naturelle n'a été signalé chez cette espèce, un facteur de risque possible de transmission de maladie. Dans sa saisine publiée en 2014, l'ANSES précise ainsi que « compte tenu de l'extrême sensibilité d'un certain nombre de primates non humains à une infection naturelle ou expérimentale par les *Filoviridae*, il conviendra de considérer tout primate non humain comme potentiellement très sensible ». En tout état de cause, cette pratique relative aux singes capucins a été interrompue dans les années 2000 (ANSES, 2014).

1.2. Les Rongeurs

1.2.1. Apport des données expérimentales

1.2.1.1. Sensibilité des rongeurs et adaptation de souches virales : l'utilisation des modèles murins

1.2.1.1.1. Infections expérimentales par EBOV

1.2.1.1.1.1. Chez la souris

Des études d'infections de souris par EBOV ont montré que les inoculations intra péritonéale et intracérébrale du virus sont létales pour les souriceaux nouveau-nés et les souriceaux de 4 jours. En revanche, les souris âgées de 8 jours et les souris adultes sont résistantes à l'inoculation du virus par voie sous-cutanée, intradermique ou intramusculaire (Bray *et al.*, 1998 ; Nakayama et Saijo, 2013). Les souris sont donc immunocompétentes et résistantes à l'infection par des souches sauvages d'EBOV (Nakayama et Saijo, 2013).

Pour obtenir des formes symptomatiques de l'infection, il a été nécessaire d'adapter les espèces virales. Cette adaptation virale passe par des infections en série de plusieurs souris augmentant la virulence du virus à partir d'un certain nombre de passage au sein de

l'espèce (Bray *et al.*, 1998 ; Connolly *et al.*, 1999 ; Nakayama et Saijo, 2013). Les souches virales modifiées ainsi obtenues sont dites « murinisées » et résultent d'une adaptation du virus par modification des interactions avec la cellule cible ou le système immunitaire de l'hôte (ANSES, 2014). Plusieurs séries d'études ont ensuite étudié la pathogénie de l'infection de souris par ces souches « murinisées ».

Ainsi, les souris BALB/c¹¹ infectées par une souche virale adaptée (MA-ZEBOV) développent une maladie caractérisée, à partir de 3-4 jours post inoculation, par une fatigabilité, des altérations du pelage, une perte de poids et menant à la mort de l'animal à 5-7 jours post inoculation (Bray *et al.*, 1998 ; Ebihara *et al.*, 2006 ; Nakayama et Saijo, 2013). Bien que les souris deviennent donc sensibles après adaptation des souches virales, celles-ci ne provoquent généralement pas de syndrome hémorragique même si elles sont à l'origine d'une maladie létale. Seules quelques rares lignées de souris présenteraient des symptômes hémorragiques similaires à l'infection des PNH et des hommes par EBOV (ANSES, 2014 ; Rasmussen *et al.*, 2014).

Des études plus poussées sur ces souches « murinisées » ont été réalisées afin de comprendre le développement de cette virulence chez les rongeurs. Elles ont ainsi permis de découvrir l'existence de mutations affectant certains gènes viraux. Des substitutions nucléotidiques au sein des protéines VP35, VP24, NP et de la polymérase L engendreraient un changement de huit acides-aminés (Ebihara *et al.*, 2006 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014). En particulier, les mutations au sein du gène vp24 joueraient un rôle prépondérant dans l'acquisition de cette virulence (Chepurnov *et al.*, 2003 ; Ebihara *et al.*, 2006). La protéine VP24, avec la protéine VP35, joue le rôle d'antagoniste de la réponse IFN I. L'altération de cette protéine entraînerait une perte d'inhibition de la signalisation et un échappement à cette réponse immunitaire (Ebihara *et al.*, 2006 ; Nakayama et Saijo, 2013). Selon certains auteurs, la modification d'acides aminés de la nucléoprotéine jouerait également un rôle dans l'échappement à la réponse IFN I (Ebihara *et al.*, 2006). De plus, l'étude de Pancha *et al.* (2009) a mis en évidence l'implication de CD45 dans la résistance des souris à l'infection. Les souris ayant une expression réduite de CD45 seraient protégées contre EBOV. La façon dont l'expression de la protéine CD45 intervient dans la réponse antivirale n'a cependant pas été totalement éclaircie (Panchal *et al.*, 2009).

Enfin, de nombreux travaux estiment que la résistance aux souches serait corrélée à la capacité des polynucléaires neutrophiles (PNN) à être activés et à phagocyter, ainsi à l'implication de nombreux lymphocytes (Chepurnov *et al.*, 2003 ; Panchal *et al.*, 2009 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014).

Le modèle d'infection de la souris par des souches adaptées ne reflète pas exactement le modèle d'infection des PNH et des hommes. Cependant, il démontre l'existence d'une sensibilité possible des souris à EBOV après adaptation de la souche virale.

¹¹ Les souris BALB/c sont une lignée de souris (*Mus musculus*) albinos et immunodéficiente, largement utilisée en laboratoire de recherche expérimentale et obtenue par croisement sanguin.

Ce modèle est en outre intéressant pour étudier les protéines et éléments viraux impliqués dans la virulence du virus et la compréhension de sa pathogénicité (Ebihara *et al.*, 2006).

1.2.1.1.1.2. Chez le cochon d'Inde

L'infection expérimentale de cochons d'Inde avec une souche sauvage EBOV est à l'origine d'une maladie fébrile non fatale (Connolly *et al.*, 1999 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014). En revanche, l'infection avec une souche modifiée, après plusieurs passages successifs au sein de l'espèce, provoque une maladie létale aux signes cliniques similaires à ceux observés lors de maladie à virus Ebola chez les PNH et les hommes (Connolly *et al.*, 1999 ; Morvan *et al.*, 1999 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014). Les mêmes lésions sont retrouvées et le virus se réplique à haut titre dans les mêmes organes même si le pic est moins élevé que celui observé chez les PNH (Connolly *et al.*, 1999 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014). Après infection avec une souche adaptée, le cochon d'Inde meurt généralement 7 à 9 jours après inoculation par voie sous cutanée (Connolly *et al.*, 1999 ; Nakayama et Saijo, 2013). L'inoculation par aérosol d'une souche adaptée d'EBOV est à l'origine d'une maladie létale caractérisée par une pneumonie interstitielle chez l'ensemble des cochons d'Inde inoculés (Twenhafel *et al.*, 2015). Ces lésions diffèrent des lésions pulmonaires observées lors d'inoculation sous cutanée. En revanche, il est possible de retrouver des lésions similaires dans le foie et la rate.

L'observation du génome met en évidence huit modifications nucléotidiques menant à cinq substitutions d'acides aminés : une mutation dans NP, une dans L et trois mutations dans VP24 (Nakayama et Saijo, 2013). Il a de plus été montré que ce sont les mutations dans VP24 qui sont responsables de la virulence de la souche adaptée, à l'origine d'un recouvrement de la capacité de réplication du virus (Mateo *et al.*, 2010 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014).

1.2.1.1.1.3. Chez le hamster doré syrien

Le troisième modèle de rongeur décrit est le hamster doré syrien (*Mesocricetus auratus*). Des études ont consisté à infecter des hamsters de six semaines par injection intra péritonéale d'une souche d'EBOV adaptée chez la souris. Ceux-ci ont montré, trois jours après l'inoculation, des signes cliniques associés, dans les derniers temps de l'infection, à une sévère coagulopathie et sont mort quatre à cinq jours après l'inoculation. L'injection sous-cutanée de cette même souche est à l'origine d'une infection non létale (Ebihara *et al.*, 2013 ; Nakayama et Saijo, 2013).

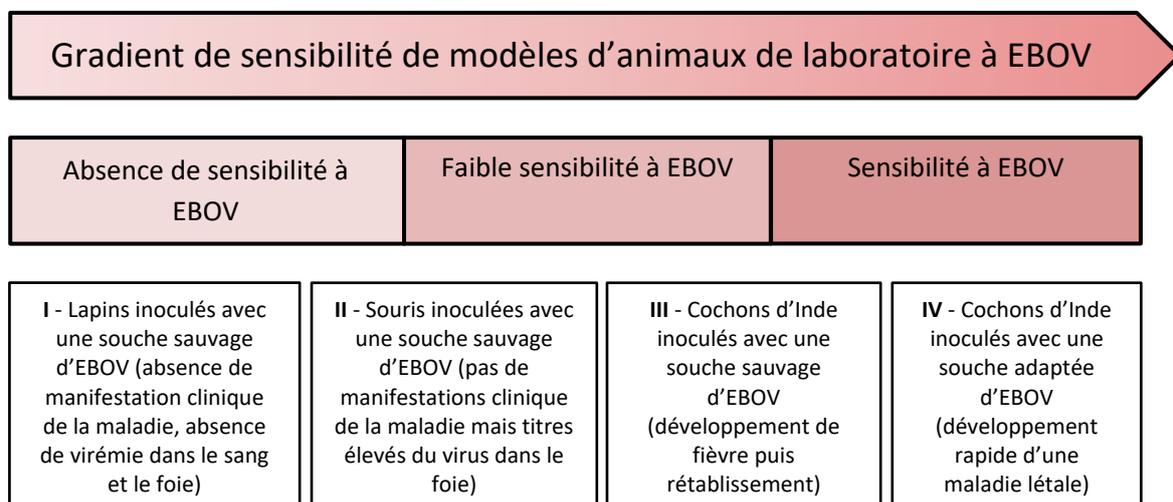
L'infection avec une souche EBOV adaptée entraîne donc une maladie létale dont l'évolution et les signes cliniques se rapprochent le plus de ceux présentés par l'Homme et les PNH lors de maladie naturelle à virus Ebola. Il s'agit donc sans doute du meilleur modèle

murin mis à jour jusqu'à aujourd'hui permettant de comprendre et d'étudier l'infection de l'Homme à EBOV (Morvan *et al.*, 1999 ; Ebihara *et al.*, 2013 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014).

1.2.1.1.1.4. Bilan sur la sensibilité des rongeurs à EBOV

Trois modèles d'espèces décrivant l'infection expérimentale d'EBOV chez les rongeurs existent à ce jour : la souris, le hamster doré syrien et le cochon d'Inde. Une figure illustrant par un gradient les différences de sensibilité selon les principales espèces de rongeurs et de lagomorphes à considérer a été présentée par Chepurnov *et al.* (2003) (Figure 25). Lors d'infection expérimentale avec une souche sauvage, seuls les cochons d'Inde développent un état fébrile non léthal (Chepurnov *et al.*, 2003 ; Nakayama et Saijo, 2013 ; ANSES, 2014). L'infection de souris et de lapins demeure asymptomatique (Chepurnov *et al.*, 2003). De plus, il a été constaté que les animaux sensibles à l'infection par EBOV sont sujets à une diminution voir une suppression de l'activité de leur système immunitaire et que « le degré de suppression du système immunitaire déterminerait le degré de sensibilité animale à l'infection par EBOV » (Chepurnov *et al.*, 2003).

Figure 25 : Gradient de sensibilité à EBOV des rongeurs et lagomorphes (Chepurnov *et al.*, 2003)



L'idée de mettre en place des études d'infection de ces mêmes espèces avec des souches adaptées a rapidement été concrétisée et a permis de mettre en évidence une sensibilité de ces espèces. En effet, une telle infection entraîne le développement d'une maladie rapidement fatale chez l'ensemble de ces espèces, le tableau clinique et les caractéristiques physiopathologiques se rapprochant le plus du modèle humain et du modèle PNH étant ceux présentés par le hamster doré syrien (Tableau 15) (Nakayama et

Saijo, 2013 ; ANSES, 2014). Le cochon d'Inde et le hamster présentent des signes de coagulopathie semblables à ceux des PNH et des Hommes, avec une augmentation des temps de coagulation. Pour les trois espèces de rongeurs, la virémie et la virulence du virus sont élevées comme dans les modèles humains et primates non humains. Enfin, le hamster présente également une diminution de l'activité de sa protéine C comme chez les PNH (Nakayama et Saijo, 2013).

Tableau 15 : Comparaison des caractéristiques pathologiques de différents modèles animaux d'infection par les *Filoviridae* (Nakayama et Saijo, 2013)

PT : Temps de prothrombine ; *PTT / aPTT* : Temps de céphaline activé thromboplastine ; *TT* : temps de thrombine ; *NE* : non évalué

	Souris	Cochon d'Inde	Hamster	PNH	Homme
Souche virale	Adaptée	Adaptée	Adaptée	Sauvage	Sauvage
Virémie	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée
Virulence	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée
Perte de poids	Sévère	Sévère	Non	Sévère	Sévère
Eruption cutanée	Non	Non	Non	Oui	Oui
Thrombocytopénie	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Apoptose lymphocytaire	Oui	Limité	Oui	Oui	Oui
Réponse cytokinique	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
PT	Inchangé	Augmenté	Augmenté	Augmenté	Augmenté
PTT/aPTT	Inchangé	Augmenté	Augmenté	Augmenté	Augmenté
TT	NE	NE	Augmenté	Augmenté	NE
Dépôt de fibrine dans les organes	Faible	Modéré	Faible	Abondant	Observé
Activité de la protéine C	NE	NE	Diminuée	Diminuée	NE

1.2.1.1.2. Infections expérimentales par RESV

De Wit et son équipe (2011) ont inoculé expérimentalement des rongeurs avec la souche RESV sauvage Pennsylvania, isolée chez des macaques *Cynomolgus* aux USA en 1998, et la souche Restion08-A, isolée chez des porcs aux Philippines en 2008. Le virus a été inoculé par voie intra péritonéale à des cochons d'Inde, des hamsters syriens et des souris BALB/c et STAT1^{-/-}¹². Une répllication virale a été observée chez le cochon d'Inde, le hamster et la souris STAT1^{-/-} mais une maladie s'est déclarée uniquement chez ces dernières qui sont par ailleurs déficientes pour un composant de la cascade de signalisation des INF alpha/beta et gamma. En outre, la souche Pennsylvania s'est avérée plus virulente que la souche Restion08-A. Certaines hypothèses sont avancées concernant l'origine de cette différence de virulence, et font état d'un passage chez le porc ou chez un autre réservoir, qui aurait conduit à une atténuation de la souche (De Wit *et al.*, 2011).

La répllication de RESV chez ces rongeurs soulève la possibilité d'une adaptation de ces souches RESV à ces espèces, de la même façon qu'une adaptation d'EBOV a été observée

¹² Les souris STAT1^{-/-} (*Mus musculus*) sont une lignée de souris déficientes en facteur de transcription de la protéine STAT1, empêchant l'activation de la voie interféron, et utilisées en laboratoire de recherche expérimentale.

chez la souris et le cochon d'Inde. Les souris constituent donc un modèle d'infection à RESV intéressant (De Wit *et al.*, 2011).

Il ne semble donc pas exister de sensibilité naturelle des rongeurs au virus Ebola mais des infections expérimentales sont possibles avec des souches adaptées. La symptomatologie est alors plus ou moins sévère selon l'espèce de rongeur étudiée. Des progrès significatifs ont été réalisés dans le développement de ces modèles murins, utiles à la compréhension de la pathogénie du virus et pour des études préliminaires en vue de développement de thérapeutiques. Ces modèles murins nécessitent une série d'infections expérimentales du virus sauvage au sein des rongeurs avant d'induire une maladie létale.

Des traces du virus ont été retrouvées chez des rongeurs sauvages (Morvan *et al.*, 1999). Même si la rencontre entre les rongeurs sauvages et le virus Ebola mène à infection asymptomatique, les modèles murins montrent qu'une adaptation expérimentale du virus est possible au sein de ces animaux. Une adaptation naturelle du virus au sein des rongeurs sauvages, même si elle n'a jamais été démontrée, n'est donc pas à exclure. Les rongeurs pourraient alors devenir une source potentielle de contamination pour l'homme.

1.2.1.2. Etude expérimentale de la transmission du virus Ebola entre rongeurs

La transmission du virus entre cochons d'Inde a été étudiée par Wong *et al.* (2015). Six cochons d'Inde ont été infectés par voie intranasale (IN) et six par voie intrapéritonéale (IP) avec une souche EBOV adaptée, appelée GA-EBOV, à une dose 1000 ou 10 000 fois supérieure à la dose létale médiane¹³ (LD₅₀). Un jour après l'inoculation, un cochon d'Inde naïf a été placé dans la même cage qu'un cochon d'Inde infecté afin d'étudier une possible transmission par contact direct. Parmi les six cochons d'Inde en contact avec les infectés par voie IN, cinq sont morts dans un laps de temps de $12,6 \pm 1,1$ jours après l'exposition, contre un décès au 14^e jour après exposition pour les cochons d'Inde en contact avec les infectés par voie IP (Figure 26A). Les animaux exposés par voie intrapéritonéale décèdent plus précocement que ceux infectés par voie intranasale. L'expérience a été reconduite dans les mêmes conditions hormis l'utilisation d'une dose 1000 fois supérieure à la DL₅₀ avec un effectif plus important pour une meilleure reproductibilité (Figure 26B). Les scientifiques ont alors pu confirmer que la transmission a été plus efficace lors d'inoculation par voie IN que par voie IP avec un taux de létalité respectivement de 83 % (12/15) et 17 % (2/12) (Wong *et al.*, 2015).

Il a, de plus, été constaté que l'excrétion avait lieu à partir de 3 jours suivant l'inoculation, quelle que soit la voie d'inoculation et que le pourcentage de survie dépendait du moment d'introduction du cobaye naïf par rapport à la date de l'inoculation. S'il était introduit 3 jours post inoculation (p.i) le taux de survie était de 33 % alors qu'il était de 50 %

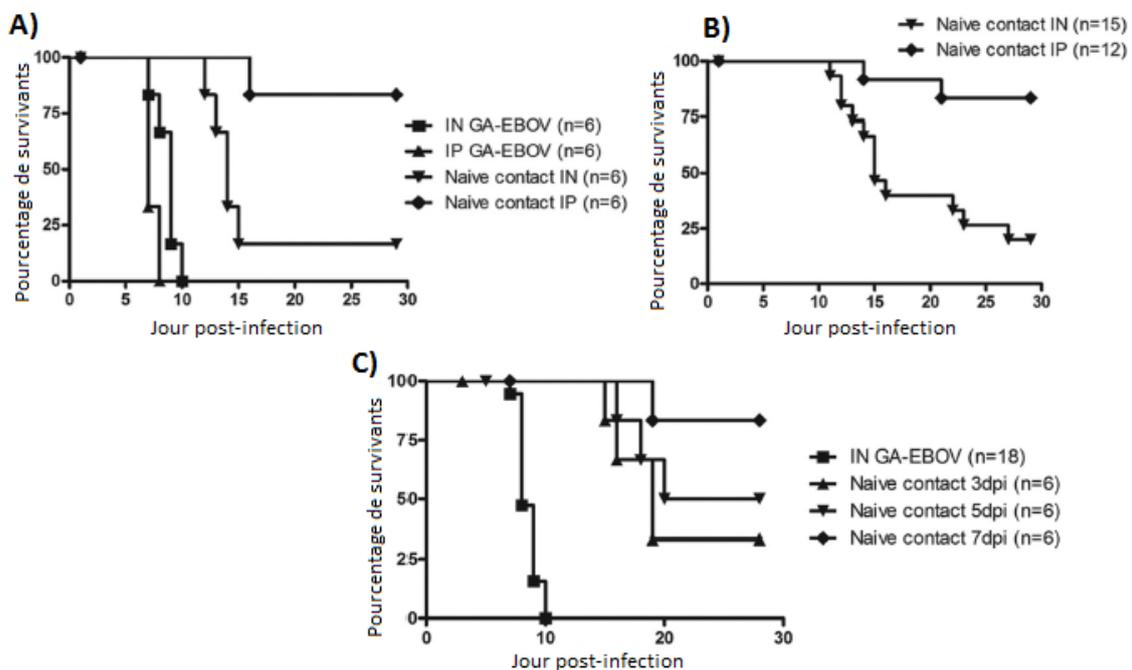
¹³ La dose létale médiane (DL₅₀) est la dose de virus entraînant la mort de la moitié des animaux inoculés en condition expérimentale

lors d'introduction 5 jours p.i et de 83 % lors d'introduction 7 jours p.i (Figure 26C). Plus le cochon d'inde est placé tôt dans la cage, plus la transmission semble efficace (Wong *et al.*, 2015).

Figure 26 : Pourcentage de survie de cochon d'Inde infectés par une souche adaptée d'EBOV et de cochons d'Inde naïfs mis dans la même cage en fonction du jour d'introduction après inoculation (Wong *et al.*, 2015)

(A) Six cochons d'Inde sont infectés par voie intra-nasale (IN GA-EBOV) et 6 par voie intra péritonéale (IP GA-EBOV) avec une souche adaptée d'EBOV (GA-EBOV) à une dose 10 000 fois supérieure à la dose létale médiane (LD₅₀). Un cochon d'Inde naïf a été introduit un jour après l'inoculation dans la cage de chaque cochon d'Inde inoculés. (B) Expérience répétée avec un effectif plus grand pour une meilleure reproductibilité mais avec une dose 1000 fois supérieur à la DL₅₀. (C) Taux de survie de cochons d'Inde IN GA-EBOV et de cochons d'Inde introduits 3, 5 et 7 jours après l'inoculation.

Naive contact IN : cochons d'Inde naïfs en contact avec les ports inoculés par voie intra nasale ; Naive contact IP : cochons d'Inde naïfs en contact avec les cochons d'Inde inoculés par voie intra péritonéale ; Naive contact 3dpi : cochon d'Inde Naïf introduit 5 jours après inoculation ; Naive contact 5dpi : cochon d'Inde Naïf introduit 5 jours après inoculation ; Naive contact 7 dpi : cochon d'Inde Naïf introduit 5 jours après inoculation ; n=effectif



Une dernière expérience a consisté à supprimer la possibilité de contact direct entre les cochons d'Inde. Les cochons d'Inde infectés ont été placés d'un côté d'une cage ventilée, séparée en deux par une cloison formée par deux parois perforées ; les cochons d'Inde naïfs ont été placés de l'autre côté, dans le courant d'air. Aucun contact n'était possible mais les

perforations de la paroi laissaient la possibilité à du matériel infectieux (litière) de passer (Wong *et al.*, 2015).

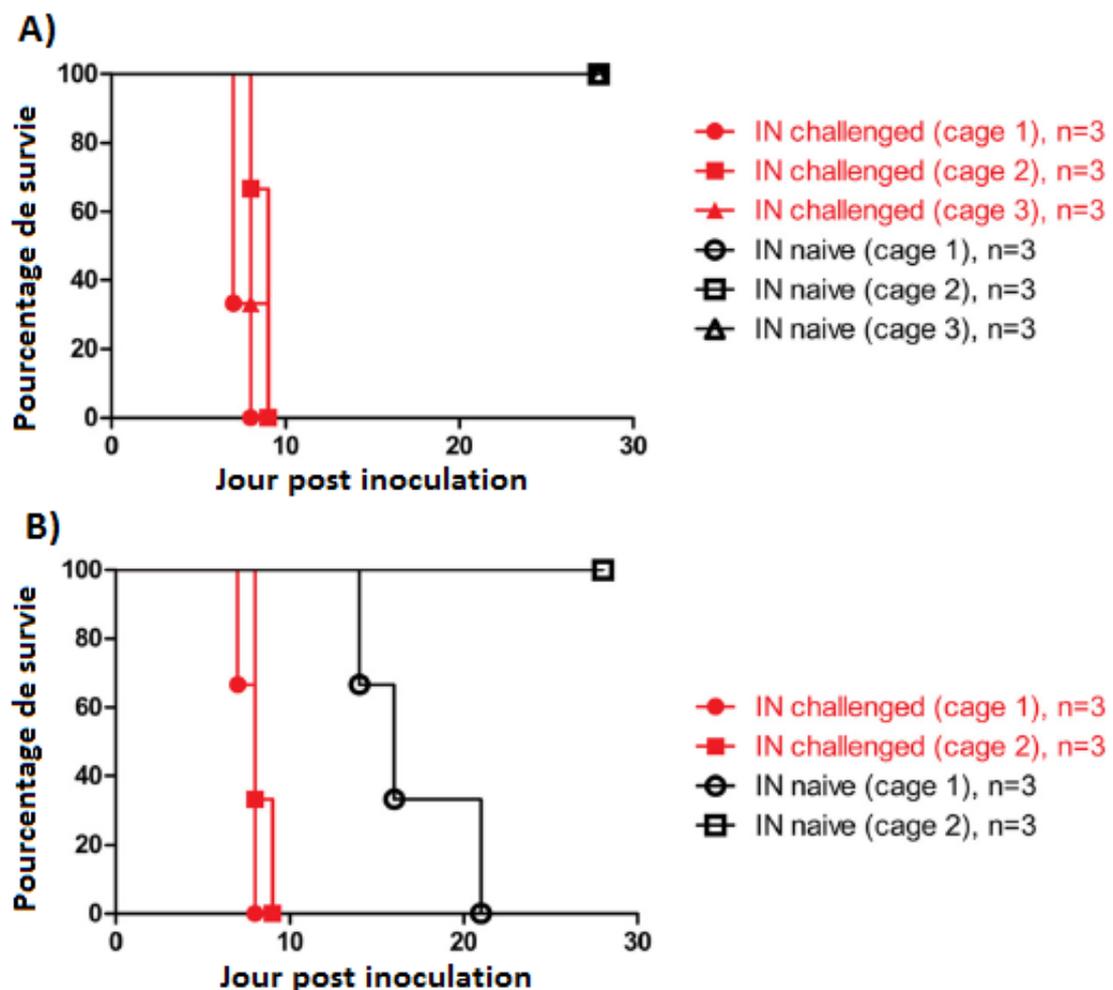
Dans un premier temps, trois cages ont été utilisées, contenant chacun trois cochons d'Inde inoculés d'un côté et trois cochons d'Inde naïfs de l'autre, sans ajout de litière (Figure 27A). Dans ce cas, tous les animaux inoculés sont décédés mais aucun des animaux naïfs n'est décédé, n'a présenté de signe clinique ni n'a été testé séropositif pour des Ac anti GA-EBOV. La transmission n'a donc pas eu lieu (Wong *et al.*, 2015).

L'expérience a été répétée en utilisant deux cages contenant chacune trois cochons d'Inde infectés et trois cochons d'Inde naïfs avec ajout, cette fois, de litière de chaque côté de la cage (Figure 27B). Les trois cochons d'Inde naïfs de la cage 1 sont décédés après avoir développé des signes cliniques tandis que l'ensemble des cochons d'Inde naïfs de la cage 2 n'ont pas développé de signes cliniques et ont été testés séronégatifs. La transmission a donc eu lieu dans une des cages (Wong *et al.*, 2015).

Figure 27 : Taux de survie de cochons d'Inde infectés et de cochons d'Inde naïfs placés sans possibilité de contact direct dans une cage ventilée (Wong *et al.*, 2015)

(A) Trois lots de trois cochons d'Inde inoculés (IN challenged) par voie intranasale avec une dose d'EBOV adapté ont été placés d'un côté de trois cages ventilées (cage 1, 2 et 3). Trois lots de trois cochons d'Inde naïf (IN naive) ont été placés de l'autre côté chaque cage ventilée. Aucun contact n'est possible entre les lots de cochons d'Inde, la cage étant séparée par deux parois perforées espacées l'une de l'autre. La ventilation va des cochons d'Inde infecté aux cochons d'Inde naïfs. Le taux de survie de chaque lot est étudié en fonction de temps écoulé après inoculation des cochons d'Inde infectés. (B) la même expérience a été menée avec deux lots de trois cochons d'Inde infectés et deux lots de trois cochons d'Inde naïfs en plaçant, cette fois, de la litière de chaque côté de chaque cage ; la litière étant assez petit pour passer à travers les perforations des parois.

n = effectif



Ces expériences ont mis en évidence qu'une transmission du virus EBOV adapté entre cochons d'Inde est possible lorsqu'ils sont mis dans la même cage. Cette transmission est plus efficace lors de mise en présence avec des cochons d'Inde inoculés par voie intranasale.

De plus, la transmission n'a pas lieu si des cobayes infectés et naïfs ne sont pas mis dans une même cage et lorsqu'aucun matériel infecté (litière) ne peut être transporté de la cage contenant des animaux infectés à celle contenant des animaux naïfs. En revanche, une transmission semble possible par transfert de litière sur de courtes distances et la maladie est alors semblable à celle touchant les cochons d'Inde inoculés (Wong *et al.*, 2015). Cette transmission probable entre rongeurs autorise à ne pas d'exclure une contamination entre un rongeur et une autre espèce animale sensible au virus Ebola, en particulier l'Homme.

1.2.2. Facteurs de risque d'exposition de l'Homme aux rongeurs

De façon similaire à l'étude du rôle des PNH dans la transmission zoonotique du virus, Wolfe *et al.* (2004) ont étudié les facteurs de risques d'exposition des hommes aux fluides biologiques des rongeurs au Cameroun. Les mêmes activités susceptibles de constituer des facteurs de risque ont été prises en compte et une distinction a été faite entre le risque d'exposition indirecte avec les fluides biologiques de rongeurs (chasse, abattage, garder un rongeur comme animal de compagnie, préparer et consommer de la viande de rongeur) et les risques d'exposition directe (être mordu ou griffé ou blessé lors d'activité comme la chasse ou l'abattage). Ils ont constaté que l'homme avait encore plus de contacts avec les rongeurs qu'avec les chimpanzés ou gorilles ou avec les autres singes. Parmi les personnes ayant répondu au questionnaire, 95 % des hommes et 95 % des femmes ont rapporté avoir déjà mangé de la viande de rongeur, 75 % des hommes et 85 % des femmes avoir abattu des rongeurs et 70 % des hommes contre 5 % des femmes avoir déjà chassé des rongeurs. Les rongeurs font partie des animaux les plus chassés dans les zones de forêts du Cameroun (Wolfe *et al.*, 2004).

En revanche, les singes sont plus facilement maintenus en captivité que les rongeurs. 1,8 % des participants au sondage ont déclarés avoir déjà gardé un rongeur comme animal de compagnie (Wolfe *et al.*, 2004).

En ce qui concerne les facteurs de risque d'exposition directe au virus, une étude menée en Ouganda a montré que les rongeurs étaient à l'origine de 0,6 % des blessures par morsures rapportées par les participants (Paige *et al.*, 2014).

Les facteurs de risque prépondérants semblent donc liés à la chasse et la consommation de viande de brousse plus qu'à ceux liés au fait de garder un rongeur comme animal de compagnie.

2. Evaluation des facteurs de risque de transmission zoonotique liés aux animaux domestiques

2.1. Les porcs domestiques

2.1.1. L'apport de l'inoculation expérimentale du virus Ebola chez des porcs domestiques

2.1.1.1. Inoculation expérimentale de RESV

Marsh *et al.* (2011) ont récemment montré que les porcs pouvaient être expérimentalement infectés par le virus RESV. Cette infection est subclinique et le virus est rapidement éliminé. Afin de mieux comprendre le mécanisme d'infection des porcs par le virus, ils ont réalisé deux études successives au cours desquelles ils ont inoculé expérimentalement le virus à des porcelets. Dans chaque étude, deux groupes de 4 porcelets sains de 5 semaines ont été formés et séparés, empêchant tout contact entre les deux groupes. Un groupe a été inoculé par voie oro-nasale et l'autre par voie sous cutanée.

Dans une première étude, des prélèvements trachéaux, nasaux, rectaux, urinaires et sanguins ont été réalisés entre le 2^e et le 13^e jour suivant l'exposition au virus. Des échantillons sanguins ont également été prélevés aux 15^e, 17^e, 20^e et 28^e jours pour rechercher des Ac anti RESV, puis les porcs ont été euthanasiés le 28^e jour afin de réaliser une PCR en temps réel et un isolement viral à partir des tissus collectés (Figure 28).

Le génome de RESV a été détecté dans les sécrétions naso-pharyngées entre le 2^e et le 8^e jour suivant l'exposition oro-nasale. Le virus n'a pas été trouvé dans les prélèvements rectaux, d'urine ou de sang de ces animaux. Les animaux ont été euthanasiés 28 jours après l'exposition. Une RT-PCR en temps réel, menée sur des échantillons de tissus a fourni des résultats négatifs. De plus, tous les animaux exposés par voie oronasale ou par voie sous cutanée ont présenté une séroconversion au 10^e jour post inoculation, avec des titres plus importants pour les animaux exposés par voie SC. Aucune anomalie histologique n'a été rapportée (Marsh *et al.*, 2011).

Une deuxième étude, se basant sur les résultats de la première, a consisté à exposer les porcs au virus par voie sous cutanée ou oro-nasale, et à euthanasier 2 animaux de chaque groupe le 6^e et le 8^e jour suivant cette exposition (Figure 28). A l'autopsie, des tissus, prélèvements divers, et du sang ont été collectés en vue de la réalisation d'une RT-PCR en temps réel, d'un isolement viral et d'une analyse histologique. Du génome viral a été retrouvé dans les sécrétions naso-pharyngées, le sang, les prélèvements rectaux ainsi que dans de nombreux tissus et organes chez des porcs euthanasiés le 6^e et le 8^e jour. Le virus a également été isolé dans les nœuds lymphatiques, les muscles, les sinus nasaux et les poumons indépendamment du moment de l'euthanasie. Des Ac ont été détectés chez tous les porcs avec des titres plus élevés au 8^e jour par rapport au 6^e. Des anomalies histologiques

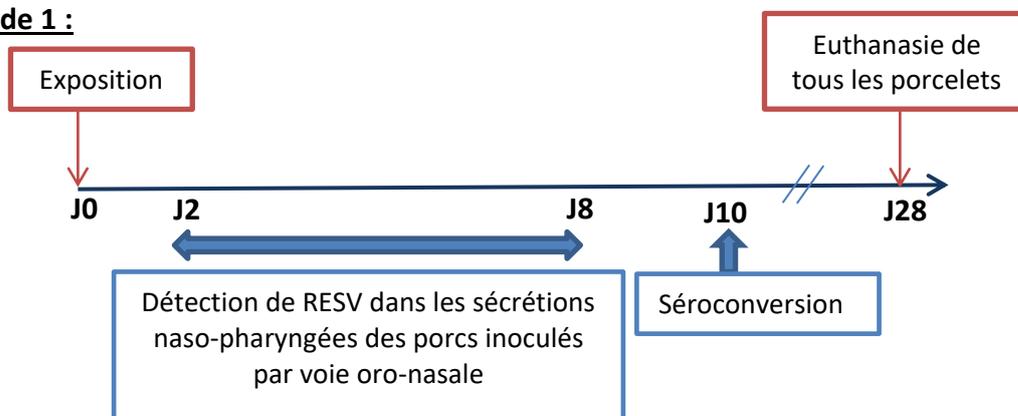
confinées aux tissus lymphoïdes et au système respiratoire ont également été mises en évidence. La nucléoprotéine virale a été mise en évidence dans les tissus lymphoïdes chez les porcs exposés par voie oro nasale et par voie sous cutanée. Enfin des Ag ont été détectés dans les poumons de 3 des animaux avec consolidation pulmonaire (Marsh *et al.*, 2011).

A noter qu'aucun signe clinique n'a été observé après exposition du virus dans les deux études.

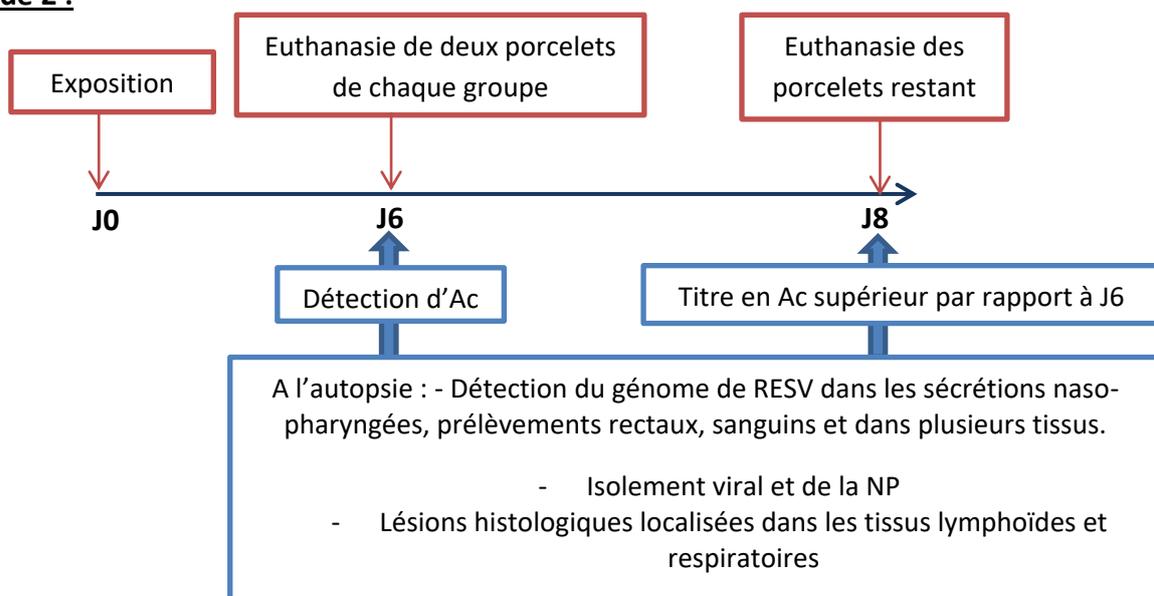
Figure 28 : Frise chronologique présentant les résultats des deux études successives, menées par Mars et ses collaborateurs en 2011 consistant en l'inoculation expérimentale de RESV à des porcelets de 5 semaines

RESV : Reston Ebola virus ; Ac : anticorps ; NP : nucléoprotéine virale

Etude 1 :



Etude 2 :



L'infection expérimentale des porcs domestiques par RESV démontre la capacité du virus à se répliquer silencieusement chez les porcs. La transmission du virus peut avoir lieu

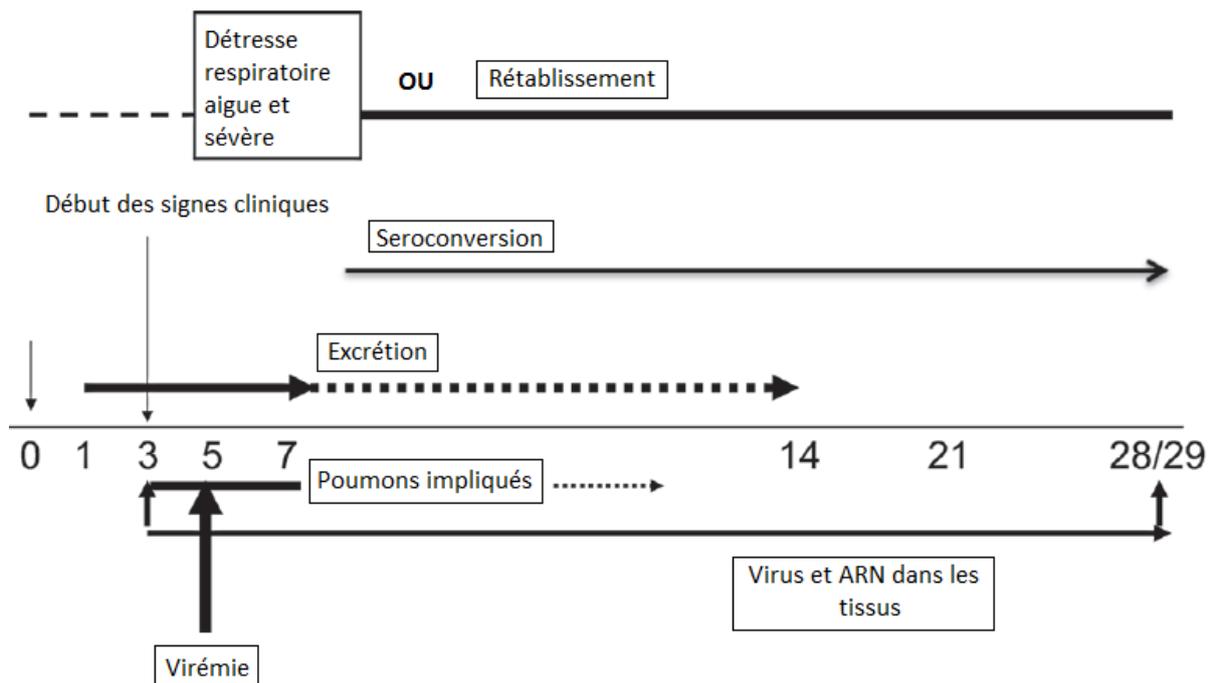
par voie parentérale ou non parentérale. Le plus haut taux de réplication virale a été observé dans les poumons et les tissus lymphoïdes, cependant une persistance du virus dans les tissus n'a pas été prouvée.

2.1.1.2. Inoculation expérimentale d'EBOV

Bien qu'aucun cas d'infection naturelle des porcs domestiques par EBOV n'ait été mis en évidence à ce jour, Kobinger *et al.* (2011) ont étudié la réceptivité et la sensibilité des porcs domestiques à EBOV. Des porcs domestiques de race Landrace de 4-5 semaines ont été exposés à EBOV *via* les muqueuses orale, nasale et conjonctivale. Tous les porcs exposés au virus ont développé une hyperthermie 4 jours après inoculation et jusqu'à 7 jours post inoculation. Ils ont également développé des signes respiratoires avec une augmentation importante de la fréquence respiratoire (supérieure à 80 mouvements par minutes), des difficultés expiratoires et une composante respiratoire abdominale. Les animaux infectés ont cessé de manger, ont arrêté de jouer avec les autres porcs, étaient réticents à se lever et marcher et ne montraient plus d'intérêt vis-à-vis de la présence humaine. Une réponse inflammatoire a été observée avec mise en évidence de cytokines pro inflammatoires (IL-6, IL-8, INF- γ , TNF), dès 3 jours après l'inoculation, et la présence de lésions inflammatoires dans le tractus respiratoire. Le virus a été isolé dans des prélèvements nasaux, oraux et rectaux ainsi que dans les tissus pulmonaires et les nœuds lymphatiques associés entre 3 et 7 jours suivant l'inoculation (Kobinger *et al.*, 2011). Le virus ou son ARN ont été détectés dès 5 jours post-inoculation dans le sang, et dès 4 jours dans les tissus, en particulier les poumons et les tissus lymphoïdes. Une séroconversion est apparue dès 7 jours après l'inoculation d'EBOV (Kobinger *et al.*, 2011). Les connaissances actuelles concernant l'évolution de l'infection expérimentale des porcs domestiques par EBOV ainsi que les stratégies d'échantillonnage sont présentées dans la figure 29 (Weingartl *et al.*, 2013).

Figure 29 : Présentation schématique des connaissances actuelles concernant le déroulement de l'infection expérimentale des porcs domestiques par EBOV et la stratégie d'échantillonnage pour la détection du virus (Weingartl *et al.*, 2013)

Les signes cliniques débutent 3 jours après l'exposition à EBOV. A 5 jours post infection, une détresse respiratoire sévère est observable et une virémie détectable se met en place. Le virus est en particulier retrouvé en quantité importante dans les poumons et les tissus lymphoïdes. L'excrétion virale débute 7 jours après l'infection. Concernant les méthodes d'échantillonnage, le virus lui-même ainsi que son ARN peuvent être mis en évidence dans les tissus à partir de 3 jours et jusqu'à 29 jours suivant l'infection. Des anticorps sont détectables dans le sérum à partir de 7 jours.



Kobinger *et al.* (2011) ont ainsi montré qu'EBOV est capable d'infecter les porcs et de se répliquer après inoculation expérimentale, provoquant une maladie respiratoire associée à des lésions pulmonaires sévères. Il est à noter que cette affection respiratoire peut être confondue avec des maladies respiratoires habituelles chez le porc (Kobinger *et al.*, 2011). La localisation de l'infection au système respiratoire et l'isolement du virus dans les sécrétions naso-pharyngées soulèvent la question d'une éventuelle excrétion par voie aérienne. Ces constats ne sont qu'expérimentaux, une infection naturelle des porcs à EBOV n'a en effet jamais été mise en évidence pour le moment. Compte tenu de la sensibilité expérimentale des porcs à EBOV, la possibilité d'une infection naturelle ne peut être exclue.

Dans les conditions expérimentales, les porcs sont donc réceptifs à l'infection par EBOV et RESV mais ne sont sensibles qu'à l'infection par EBOV. L'apparition de signes cliniques et leur sévérité semblent donc dépendre de l'espèce de virus Ebola impliquée.

2.1.2. Etudes expérimentales des modes de transmission du virus Ebola entre le porc et d'autres animaux

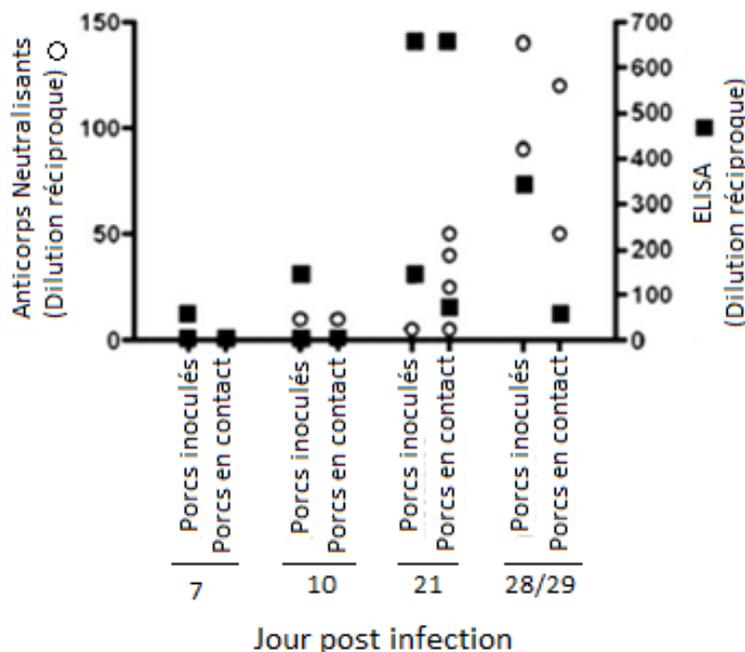
2.1.2.1. Transmission du virus entre porcs

Afin d'étudier les possibilités d'excrétion du virus EBOV et de sa retransmission par les porcs, Kobinger *et al.* (2011) ont mis en contact des porcs naïfs avec des porcs infectés par EBOV, 24h après l'inoculation du virus à ces derniers. Celle-ci a été réalisée par voies intranasale, intraoculaire et orale combinées. Les porcs étaient tous âgés de 3 à 4 semaines.

De l'ARN viral a été détecté par RT-PCR chez les porcs initialement sains, 21 jours après leur mise en contact avec les porcs infectés. Le virus a également été retrouvé dans des prélèvements de la muqueuse nasale de deux de ces porcs 10 jours après leur mise en contact. Des IgG dirigées contre EBOV ont été retrouvées dès 7 jours post inoculation chez les porcs infectés et 21 jours post inoculation chez les porcs initialement sains (Figure 30).

Figure 30 : Détection d'anticorps, dans le sérum de porcs inoculés expérimentalement par EBOV, au cours du temps (Kobinger *et al.*, 2011)

Des anticorps neutralisants ou les IgG totales ont été détectés respectivement par test de neutralisation ou par test ELISA, dans le sérum de porcs préalablement inoculés par EBOV et de porcs initialement sains mis en contact avec les porcs inoculés. Le nombre de jours s'étant écoulés depuis l'infection expérimentale est représentée en abscisse. Les tests ont été répétés deux fois et chaque point représente le titre en anticorps d'un animal.



Ces observations, et le fait qu'une importante charge virale ait été retrouvée dans les voies aériennes supérieures des porcs infectés, suggèrent que les porcs sont capables d'excréter une quantité élevée de virus dans l'environnement. Le virus peut être transmis à des porcs cohabitant avec des porcs infectés et une séroconversion est observable après 3 semaines de mise en contact (Kobinger *et al.*, 2011).

2.1.2.2. Transmission d'EBOV de porcs à des macaques

En 2012, Weingartl *et al.* ont mis en évidence l'existence d'une transmission sans contact direct entre des porcs infectés par EBOV et des macaques (*Macaca fascicularis*). Le virus a préalablement été inoculé à des porcelets de 6 semaines par voie oronasale. Ils ont ensuite été placés dans la même salle mais sans contact direct possible avec quatre macaques. Les porcelets ont déclaré des symptômes entre le 5^e et le 7^e jour post inoculation et ont été euthanasiés le 12^e jour. L'autopsie a révélé des lésions de pneumonie broncho-interstitielle et l'infection par EBOV a été confirmée par isolement d'ARN viral dans les tissus, les prélèvements rectaux, nasaux et oraux. Les porcelets présentaient une faible virémie. Quant aux macaques, ils ont présenté des signes classiques d'infection à virus Ebola à partir du 7^e jour après avoir été mis dans la même salle que les porcelets. Des lésions classiques de la maladie à virus Ebola ont également été retrouvées, notamment des pétéchies sur la poitrine et la face interne des membres. Deux d'entre eux ont été euthanasiés 13 jours après l'exposition, lorsque les signes sont devenus évocateurs de maladie à virus Ebola. Les lésions observées lors de l'autopsie étaient évocatrices des lésions de maladie à virus Ebola. L'infection des macaques par le virus Ebola a été confirmée *via* la détection d'ARN viral et l'isolement du virus. Une des particularités mise en évidence dans cette étude concerne le type de leucocytes infiltrant les poumons de chaque espèce. Pour les macaques, il s'agissait de monocytes et de macrophages tandis que pour les porcelets, il s'agissait uniquement de lymphocytes non-infectés. Ceci témoigne d'une détresse respiratoire chez les porcelets et d'une maladie systémique sans signes respiratoires majeurs chez les primates non humains. Aucune transmission entre macaques n'a été observée lorsque des macaques expérimentalement infectés ont été placés dans la même pièce, mais sans contact direct avec des macaques non infectés (Weingartl *et al.*, 2012).

Cette étude montre que les porcs infectés par EBOV sont capables de transmettre indirectement le virus à des macaques. Une transmission par voie aérienne pourrait constituer une voie de diffusion efficace pour le virus entre les porcs et les primates. Un tel mode de transmission des porcs à l'Homme ne doit donc pas être exclu, même s'il n'a pas encore été démontré ; le porc n'étant, par ailleurs, pas un hôte naturel d'EBOV, pour ce que l'on en connaît (Weingartl *et al.*, 2012). Cette hypothèse expliquerait la séropositivité d'éleveurs vis-à-vis du RESV, en Asie, sans contact prouvé avec les porcs (Barrette *et al.*, 2009). Cette étude montre également que les porcs sont susceptibles de jouer le rôle d'hôte relai dans la transmission d'EBOV en Afrique.

2.1.3. Quels risques pour l'homme ?

2.1.3.1. Promiscuité entre les porcs et l'Homme

En 2008, des foyers de maladie à virus Ebola ont été diagnostiqués, chez des porcs de tout âge, dans plusieurs fermes aux Philippines. Des études menées en 2011 ont montré que les porcs sont une espèce réceptive (RESV, EBOV) et sensible (EBOV) au virus. La question de savoir s'ils peuvent transmettre le virus, notamment aux hommes, se pose alors.

Au cours de l'épisode de 2008 chez le porc, 141 personnes ont été testées pour rechercher la présence d'anticorps anti-RESV. De tels Ac ont été découverts chez six personnes (4 %, 6/137), sans présence de signes cliniques, travaillant dans des élevages de porcs et ayant été en contact avec des porcs infectés ou des produits issus des porcs, suggérant une infection passée et donc une possible transmission du virus des porcs aux hommes (Barrette *et al.*, 2009). L'existence hypothétique d'une telle transmission, incite à se questionner sur les facteurs de risques d'exposition de l'homme à des porcs potentiellement infectés. La promiscuité de l'homme avec les porcs peut être à l'origine de contacts répétés avec ces animaux et leurs fluides biologiques. Les blessures engendrées par les porcs comme les morsures ou les griffures pourraient également être des facteurs de risque de contamination. En particulier, Paige *et al.* (2014) ont signalé que 5,6 % des morsures rapportées dans leur étude en Ouganda étaient dues à des porcs.

Dans le but de mieux comprendre l'infection des porcs par RESV et donc le risque de transmission aux hommes, Marshal *et al.* (2011) ont expérimentalement infecté des porcs avec une souche de RESV des Philippines, par voie oro-nasale et par voie sous-cutanée, dans un laboratoire de biosécurité de niveau 4. Les RT-PCR en temps réel effectuées sur des tissus 28 jours après l'infection ont donné des résultats négatifs. Le virus a été isolé dans le sang, les matières fécales et dans le nasopharynx des porcs, ce qui suggère fortement qu'une contamination est possible par voie aérienne (aérosol, gouttelettes) (Osterholm *et al.*, 2015).

Une contamination est également possible *via* du matériel souillé par du sang et par pénétration du virus *via* des lésions cutanées entre porcs. Chez les animaux infectés par voie oro-nasale, l'excrétion du virus s'est avérée plus importante que chez les animaux infectés par voie sous-cutanée. La voie d'inoculation de RESV pourrait influencer sur l'excrétion du virus (Marshal *et al.*, 2011 ; ANSES, 2014). Le RESV a été observé uniquement chez des porcs co-infectés par le PRRSV. L'existence d'infections respiratoires sous-jacentes pourrait favoriser la réplication et la transmission du virus à d'autres porcs sensibles, d'autres animaux ou aux hommes.

2.1.3.2. Répartition géographique des porcs domestiques en Afrique

Il a été vu précédemment que les porcs sont capables de transmettre EBOV aux PNH et sont donc susceptibles de constituer une source de transmission d'EBOV pour l'homme (Weingartl *et al.*, 2012). La comparaison des cartes de répartition des porcs domestiques en Afrique (Annexe 7) et de la carte de distribution des flambées de maladie à virus Ebola ayant eu lieu en Afrique de 1976 à 2014, par espèce et par taille (Figure 10), constitue un autre argument en faveur du rôle zoonotique potentiel joué par les porcs. En effet, la répartition des porcs en Afrique recouvre la zone de répartition des foyers de maladie à virus Ebola. En particulier, quatre des cinq épidémies ayant eu lieu en Ouganda ont eu lieu dans des régions où la densité de porcs domestiques dépasse 19 porcs/km² (Atherstone *et al.*, 2015). La présence de porcs domestiques ou sauvages dans les zones d'épidémie à virus Ebola et leur réceptivité ainsi que leur sensibilité incitent à les inclure parmi les facteurs de risque de contamination pour l'homme (ANSES, 2014).

2.1.3.3. Facteurs de risque de transmission du virus Ebola de la faune sauvage aux porcs domestiques

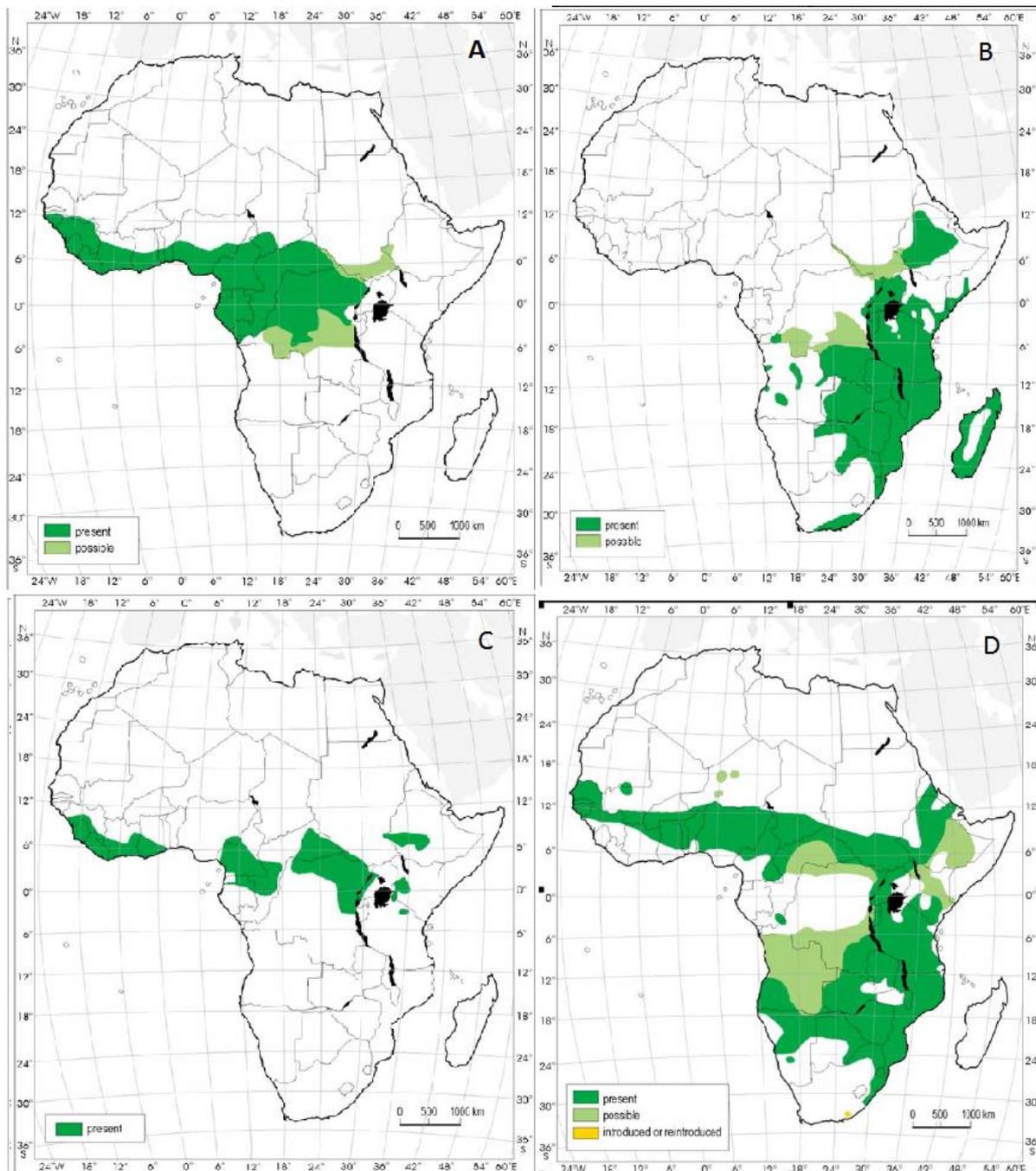
2.1.3.3.1. Facteurs de risque liés aux porcs sauvages

Parmi les espèces de porcs sauvages présentes en Afrique, quatre possèdent une aire de répartition géographique (Figure 31) superposant en partie ou en totalité la distribution géographique des porcs domestiques (Annexe 7) ainsi qu'avec des zones où des épidémies à virus Ebola ont eu lieu (Figure 10). Il s'agit du potamochère roux (*Potamochoerus porcus*), du potamochère du Cap (*Potamochoerus larvatus*), du phacochère commun (*Phacochoerus africanus*) et de l'Hylochère (*Hylochoerus meinertzhageni*).

Figure 31 : Répartition géographique de quatre espèces de porcs sauvages en Afrique (Jori et Bastos, 2009)

A : *Potamochoerus porcus*, B : *Potamochoerus larvatus*, C : *Hylochoerus meinertzhageni*, D : *Phacochoerus africanus*.

Les zones en vert foncé correspondent aux zones où l'espèce considérée est présente, les zones en vert clair aux zones où sa présence est possible et les zones en jaune aux zones où elle a été introduite ou réintroduite.



L'aire de distribution du potamochère roux recoupe en quasi-totalité l'aire de distribution des flambées en Afrique de l'Ouest et Centrale (Figure 31A). Cette espèce est

présente uniquement dans ces régions. De plus, elle est présente dans les zones où la concentration de porcs domestiques est la plus importante. Le potamochère du Cap quant à lui, bien que majoritairement situé dans le sud et l'est de l'Afrique (Figure 31B), est retrouvé dans des régions où des épidémies ont eu lieu et où l'élevage de porc est présent, en particulier en Ouganda (Atherstone *et al.*, 2015).

L'Hylochère est présent uniquement en Afrique de l'Ouest et Centrale. Son aire de répartition géographique s'étend dans les régions touchées par des épidémies (Figure 31C). Elle recouvre également certaines zones de répartition des porcs domestiques. Cependant il s'agit d'une espèce occupant préférentiellement les espaces de forêt dense où la production de porcs domestiques n'est pas très présente. Les probabilités de transmission sont donc moindres comparé aux autres espèces de porcs sauvages (Jori et Bastos, 2009).

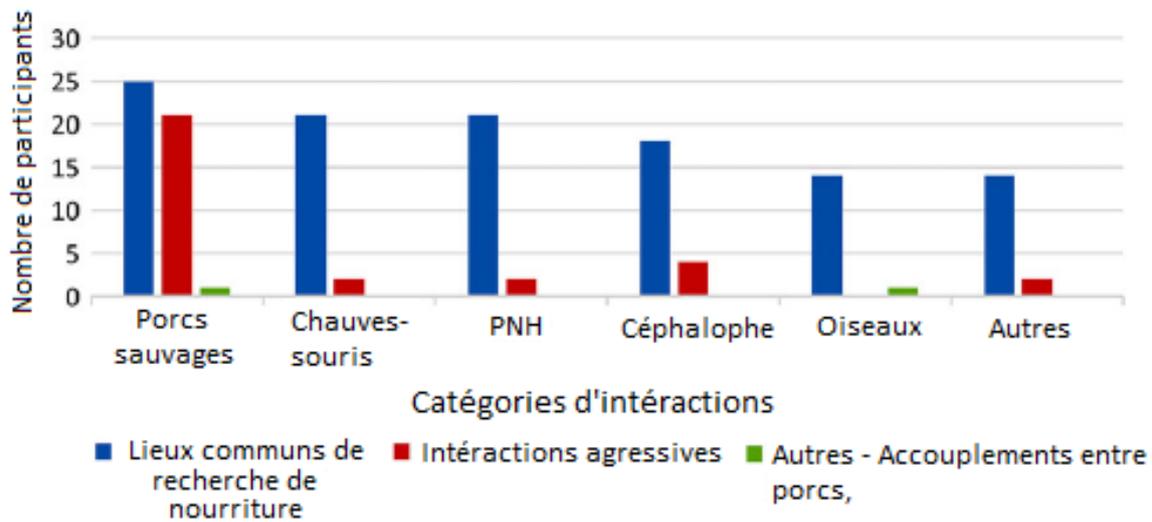
L'aire de distribution du phacochère commun (Figure 31D) s'étend de l'Afrique de l'Ouest à l'Afrique de l'Est en passant par l'Afrique Centrale ainsi que l'Afrique du Sud. Son aire de distribution se superpose donc avec les zones où des flambées de maladie à virus Ebola ont eu lieu (Jori et Bastos, 2009).

Parmi les espèces de porcs sauvages étudiées, les phacochères et les potamochères représentent donc potentiellement un facteur de risque non négligeable de transmission du virus Ebola aux porcs domestiques de fait de leur répartition géographique. Un risque de contamination des porcs sauvages suivi par une transmission du virus aux porcs domestiques est à prendre en compte et à étudier.

2.1.3.3.2. Les modalités potentielles de transmission du virus de la faune sauvage aux porcs domestiques

Atherstone et ses collaborateurs (2015) ont étudié les risques et modalités de transmission probables entre la faune sauvage africaine et les porcs domestiques en Ouganda. Un questionnaire distribué à la population, leur a permis de répertorier les types de contacts observés entre les porcs et certains animaux sauvages, susceptibles d'aboutir à une transmission du virus (Figure 32).

Figure 32 : Interactions entre les porcs domestiques et la faune sauvage (Atherstone *et al.*, 2015)



Des témoins ont rapporté des contacts entre les porcs domestiques et des porcs sauvages, des chauves-souris, des PNH, des céphalopodes, des oiseaux etc... Dans la majorité des cas, le contact a eu lieu par partage des lieux de recherche de nourriture. Certains contacts ont, en particulier été remarqués dans les zones des plantations de bananes près des maisons. Des interactions agressives engendrées par la compétition liée à la recherche de nourriture ont également été rapportées notamment avec des porcs sauvages (Atherstone *et al.*, 2015). De plus, des accouplements entre porcs sauvages (en particulier les potamochères) et des porcs domestiques ont été rapportés (Jori et Bastos, 2009 ; Atherstone *et al.*, 2014). L'étude d'Atherstone *et al.* (2015) en Ouganda, a mis en évidence le fait que les porcs domestiques sont souvent laissés en liberté, favorisant la probabilité de rencontre et de contact avec des animaux sauvages ou leurs fluides biologiques. Les porcs, omnivores, seraient également connus pour fouiller dans les poubelles des villages pouvant notamment contenir des déchets de viande de brousse issus de la chasse. En outre, les porcs seraient capables de parcourir de grandes distances, jusqu'à 4 340 mètres en une demi-journée et passeraient 47 % de leur temps en dehors de leur ferme (Atherstone *et al.*, 2014). Concernant les PNH, les chimpanzés sont connus pour chasser les porcs sauvages, en particulier les potamochères du Cap, rendant possible une éventuelle transmission du virus Ebola des porcs sauvages aux chimpanzés (Atherstone *et al.*, 2015).

Les porcs seraient donc susceptibles de se contaminer à partir de la faune sauvage directement, ou indirectement, par la consommation de fruits contaminés et de contaminer par la suite d'autres animaux, notamment des PNH, et éventuellement l'Homme.

2.1.3.4. Place des porcs dans la chaîne alimentaire de l'homme

Comme cela a été montré, les porcs sont réceptifs au virus Ebola et pourraient transmettre le virus à l'Homme du fait de leur promiscuité. En outre, le porc est surtout domestiqué à des fins alimentaires et une possibilité de contamination *via* la viande de porc est envisageable (Marsh *et al.*, 2011 ; Osterholm *et al.*, 2015).

Bien que RESV n'ait entraîné, jusqu'à aujourd'hui, aucun cas clinique (tout au moins détecté) chez les Hommes, EBOV est une espèce qui induit une très forte létalité dans l'espèce humaine. L'émergence du RESV au sein d'espèces de production constitue donc une source d'inquiétude d'autant plus qu'une transmission entre le porc et d'autres animaux de la même espèce ou d'espèce différente (macaque) a été mise en évidence. Une transmission *via* la chaîne alimentaire n'est pas à exclure et la persistance du virus au sein de l'espèce porcine pourrait accroître le risque d'infection à partir de la consommation de viande de porc (Barrette *et al.*, 2009). Atherstone *et al.* (2014) ont analysé le risque potentiel de transmission du virus Ebola lié à la consommation de la viande de porc en Afrique. Selon cette étude, en Ouganda, la demande croissante de viande de porc ces dernières décennies a été à l'origine d'une expansion de la production de porc, préférée à celle d'autres animaux, notamment du fait de son taux de croissance rapide et donc de retours financiers importants envisageables en peu de temps. L'intensification de la production de porc est à l'origine d'une augmentation de la densité des élevages de porcs, observée plus spécifiquement dans les zones où des épidémies ont été rapportées. L'augmentation du nombre de porcs rend la probabilité de contact entre l'Homme et les porcs plus élevée et par conséquent augmente le risque de transmission directe du virus. En outre, les porcs malades pourraient être les premiers mis en vente par les fermiers, augmentant le risque de dissémination potentiel du virus *via* des contacts avec l'Homme ou avec d'autres porcs sains, durant le transport. La commercialisation de la viande de porc impliquerait un stockage à basse température assurant la survie du virus si la viande est infectée (Atherstone *et al.*, 2014). Un fait intéressant observé au cours de cette étude est la consommation saisonnière de viande de porc en particulier lors de la période de Pâques et de Noël. En Ouganda, le porc serait un produit de luxe consommé traditionnellement lors d'occasions spéciales, notamment les jours fériés. Les pics d'épidémies d'EBOV seraient très proches des périodes de pic de consommation de porc, durant lesquelles la manipulation de carcasses, l'abattage et le transport de porcs sont plus importants. Cependant ces observations sont à considérer avec beaucoup de prudence car elles pourraient ne correspondre qu'à une simple coïncidence (Atherstone *et al.*, 2014).

Le risque de contamination lié à la consommation de viande de porc est donc loin d'être encore appréhendé mais serait théoriquement possible *via* la manipulation des animaux ou de leur carcasse. Le risque lié à la consommation et la commercialisation de viande en Afrique, et en particulier la viande de brousse est plus détaillée dans le chapitre IV.

En outre, un développement de la production porcine a lieu en Afrique, en particulier près de zones surplombant les zones d'habitat de chauves-souris, réservoir potentiel du

virus (Mann *et al.*, 2015). Ceci augmenterait les facteurs de risque de transmission du virus des chauves-souris aux porcs.

2.2. Les carnivores domestiques

Lors de l'épidémie de 2014, de nombreuses questions se sont posées concernant l'implication des animaux domestiques dans la transmission et la propagation du virus, en tant que réservoir ou vecteur. Seul un nombre limité d'études s'est penché sur la capacité du virus à infecter les cellules canines et félines (Han *et al.*, 2016b). Par ailleurs, les carnivores domestiques sont connus pour être porteurs de nombreux agents pathogènes transmissibles à l'Homme. De ce fait, et de par leur promiscuité particulière avec l'Homme, il est justifié de se questionner sur l'éventualité d'une transmission zoonotique du virus Ebola des carnivores domestiques à l'Homme. Etant donné le peu (voire l'absence) de données concernant le chat et le furet, seul le rôle du chien a commencé à être évalué, de façon encore très limitée. Cependant, une éventuelle transmission du virus *via* le chat et le furet n'est pas à exclure (ANSES, 2014 ; EFSA, 2014). L'European Food Safety Authority (EFSA) a publié en 2014 un rapport d'évaluation de ce risque en combinant plusieurs probabilités d'évènements :

- La probabilité que le chien rentre en contact avec un cas humain EBOV;
- La probabilité que ce chien devienne infecté ou contaminé par EBOV ;
- La probabilité qu'un chien infecté ou contaminé transmette le virus à un humain non infecté.

L'enjeu de cette étude était d'identifier les facteurs de risque associés à ces évènements, à savoir les facteurs de risque de contamination du chien et de transmission zoonotique du virus. Il est important de constater que ces facteurs peuvent différer selon si l'on se situe en zone d'épidémie ou non.

2.2.1. Infection expérimentale de cellules de carnivores domestiques

Han *et al.* (2016b) se sont intéressés à la capacité du virus Ebola à infecter des cellules canines et félines. Pour cela, ils ont utilisé une forme atténuée du virus de la stomatite vésiculeuse exprimant la glycoprotéine GP d'EBOV à sa surface (VSV-EboGP) et étudié la possibilité d'infection de fibroblastes canins (CFB) et félins normaux (FFB-WT) ou délétés pour NPC1 (FFB-NCP1-/-). En guise de témoins positifs, ils ont également infecté des cellules de PNH et des cellules humaines avec ce même virus recombinant. Leurs résultats ont montré qu'une infection des CFB et FFB est possible mais restreinte par rapport aux cellules témoins. La production de virion est en effet entre deux à trois fois plus réduite. Une infection d'autres cellules canines, notamment des cellules rénales et des cellules souches mésenchymateuses est également possible (Han *et al.*, 2016b).

Une fois la mise en évidence de l'infection de ces cellules établie, Han *et al.* (2016b) se sont penchés sur le rôle de la protéine NPC1, indispensable pour l'infection virale chez les PNH et l'Homme. La capacité d'infection des cellules félines délétées en NPC1 (FFB NPC1-/-) a été étudiée et comparée à celle de cellules félines normales (FFB-WT). Il a été constaté que 5% des FFB NPC1-/- était infectées contre 61 % des FFB-WT et que les titres en VSV-EboGP étaient encore plus réduits pour les cellules délétées en NPC1 par rapport aux cellules félines normales, eux-mêmes réduits par rapport aux cellules de PNH et aux cellules humaines. La technique de Western Blot a par ailleurs mis en évidence une répartition cytoplasmique du virus beaucoup moins abondante chez les cellules FFB-NPC1-/-. La NPC1 joueraient donc bien un rôle dans l'infection virale et le relargage du virus dans le cytoplasme (Han *et al.*, 2016b), et ce, chez les cellules de carnivores comme chez les cellules de primates.

Cette étude a enfin mis en évidence qu'en présence d'U18666A, inhibiteur intracellulaire du transport de cholestérol par fixation sur un domaine de NPC1¹⁴ via NPC2, et inhibiteur de l'infection par le virus Ebola à plus forte concentration (Côté *et al.*, 2011 ; Lu *et al.*, 2015), les titres en VSV-EboGP étaient réduits dans les cellules félines et canines. Aucune réduction n'a en revanche été observée en l'utilisant avec une forme recombinante du virus de la stomatite vésiculeuse ne présentant pas la GP d'EBOV à sa surface (VSV-WT). La présence d'U18666A dans les cellules canines et félines rend la NPC1 non fonctionnelle chez ces espèces. Le mécanisme d'entrée du virus dépendant de NPC1 semble donc être conservé chez les cellules félines et canines (Han *et al.*, 2016b).

L'étude de Han *et al.* (2016b) a donc présenté les premières preuves qu'une infection médiée par la GP d'EBOV est possible chez les cellules félines et canines. Les cellules félines seraient plus réceptives que les cellules canines. Ces deux types cellulaires seraient en outre plus réfractaires à l'entrée virale par comparaison aux cellules humaines et aux cellules de PNH. Les mécanismes à l'origine de cette baisse de perméabilité ne sont pas encore compris à l'heure actuelle. Par ailleurs, les mécanismes d'entrée virale chez les carnivores domestiques seraient également dépendants de NPC1, comme chez les Hommes et les PNH, ce qui ouvre la porte à des perspectives thérapeutiques ciblant cette protéine bien que la capacité de réplication du génome viral au sein de ces cellules n'ait pas été étudié (Han *et al.*, 2016b).

Les animaux domestiques ne pourraient donc pas servir de réservoir ou d'hôte relais majeur dans la transmission du virus à d'autres animaux ou à l'Homme, leurs cellules étant moins perméables. Cependant, le fait qu'elles puissent effectivement être infectées ne nous permet pas d'exclure la possibilité de leur infection par ingestion de viande contaminée. Des expériences supplémentaires seraient nécessaires pour prouver avec certitude que les carnivores domestiques peuvent être « efficacement » infectés par le virus et jouer un rôle dans la transmission virale aux hommes ou à d'autres animaux (Han *et al.*, 2016b).

¹⁴ La protéine Niemann-Pick C1 (NPC1) est une protéine de membrane lysosomale impliquée dans le transport intracellulaire du cholestérol au sein des lysosomes et des endosomes des cellules. Des mutations au sein des gènes codant pour cette protéine sont à l'origine d'une accumulation de cholestérol dans les lysosomes pouvant créer des dommages dans de nombreux organes notamment le cerveau et le foie (Lu *et al.*, 2015).

2.2.2. Les facteurs de risque de contamination du chien et de transmission zoonotique en zone de circulation virale (Continent africain)

2.2.2.1. Contamination du chien à partir de la faune sauvage

En zone de circulation virale, le risque de contamination du chien à partir de la faune sauvage est non négligeable. Le chien est susceptible de se contaminer de façon active ou passive à partir d'animaux sauvages infectés ou à partir de leurs fluides biologiques et devient alors une source potentielle de contamination pour l'Homme et/ou pour ses congénères.

2.2.2.1.1. Transmission active du virus

Les chiens sont, dans ces régions, des animaux d'utilité plutôt que des animaux de compagnie. La pratique de la chasse est largement répandue et constitue un facteur de contamination pour le chien. La probabilité de rentrer en contact avec des animaux sauvages infectés ou avec leurs fluides biologiques est élevée. L'utilisation des chiens au cours de la chasse augmente ainsi le risque d'exposition du chien au virus. Ceci d'autant plus que le chien est un carnivore à l'odorat très développé en faisant un compagnon de chasse idéal. La probabilité qu'il s'infecte en ingérant de la viande contaminée est relativement élevée (Allela *et al.*, 2005 ; ANSES 2014). En outre, certains auteurs affirment que les primates non humains sont chassés par l'homme en premier lieu pour nourrir les chiens domestiques, augmentant le risque de contamination à partir de la consommation de viande de PNH (Paige *et al.*, 2014).

De plus, dans certaines régions d'Afrique, la plupart des chiens ne sont pas nourris et sont laissés libres. Ils sont ainsi contraints de se nourrir par eux même et peuvent être amenés à consommer des animaux morts trouvés dans les alentours, ou des organes provenant de la chasse humaine. Ils peuvent aussi être amenés à chercher leur nourriture dans les forêts environnantes, augmentant leur probabilité de rencontre avec une faune sauvage potentiellement infectée (Allela *et al.*, 2005). En outre, un PNH atteint de maladie à virus Ebola est une proie particulièrement facile car très affaiblie.

2.2.2.1.2. Transmission passive du virus

Il existe également un risque non négligeable que les chiens ramènent une carcasse, des organes ou des fluides contaminés au village. Ils joueraient alors un rôle passif en transportant le virus et augmenteraient le risque de contamination d'autres chiens à partir d'animaux sauvages ou de leurs fluides biologiques (Allela *et al.*, 2005 ; ANSES 2014).

2.2.2.2. Risque de contamination entre le chien et l'Homme

La promiscuité entre l'Homme et le chien pourrait favoriser une contamination du chien à partir d'un homme infecté mais également une contamination de l'Homme à partir d'un chien infecté. Comme il a été vu en première partie, des IgG dirigés contre le virus Ebola ont été trouvés chez des chiens dans plusieurs villages du Gabon (Tableau 6). La séroprévalence a atteint 25,2 % dans des villages situés dans la zone où des épidémies ont eu lieu entre 2001 et 2002. Cette séroprévalence a atteint 22,4 % (15/67) dans les villages où aucun cas humain n'a été recensé et 27,2 % (25/92) dans les villages où des cas humains ont été recensés. Parmi ces derniers, la séroprévalence des chiens a atteint 31,8 % (21/66) dans les villages où une source animale a été décelée et 15,4 % (4/26) dans les villages sans source animale. Les courbes de séroprévalence en fonction des différentes zones du Gabon présentées dans la première partie (Figure 14), montrent une augmentation linéaire de la séroprévalence en fonction des lieux d'échantillonnage. La séroprévalence est d'autant plus importante que l'on se rapproche de la zone d'épidémie et si des cas humains ont été recensés. Il semblerait donc y avoir une corrélation entre la séroconversion des chiens et la prévalence de cas humains. Ceci suggère une éventuelle transmission zoonotique du virus entre les hommes et les chiens (Allela *et al.*, 2005).

2.2.2.2.1. Risque de transmission du virus de l'Homme au chien

L'Homme est très sensible au virus Ebola et excrète fortement le virus, notamment par le biais de ses fluides biologiques. Or le chien possédant une attirance certaine pour les odeurs fortes notamment le sang, les carcasses ou d'autres fluides biologiques, la probabilité de contamination est importante (ANSES, 2014). En particulier, il a été rapporté, dans l'étude d'Allela *et al.* de 2005, que certains chiens venaient lécher les vomissements de personnes infectées par le virus Ebola. La promiscuité de l'Homme et du chien fait que la probabilité qu'un chien entre en contact avec des fluides biologiques d'humain infecté est relativement importante. Par ailleurs, une transmission par ingestion de viande de chien contaminé n'est pas à exclure, même si elle n'a jamais été démontrée, étant donné que le chien est consommé dans des pays d'Afrique, dont certains ayant déjà expérimenté une épidémie de maladie à virus Ebola (Mann *et al.*, 2015).

2.2.2.2.2. Risque de transmission du virus du chien à l'Homme

La transmission du virus Ebola du chien à l'Homme reste hypothétique dans la mesure où aucune excrétion virale n'a été prouvée chez le chien. Cependant, compte tenu du haut risque que représente une telle transmission pour l'homme, elle mérite d'être prise en compte et étudiée.

Comme il a été dit, sur le continent africain, le chien est utilisé à des fins utilitaires comme pour la chasse et est souvent laissé libre, tout en restant proche de l'homme (ANSES, 2014). Ces chiens « errants » sont en fait des chiens de propriétaires. Leur circulation n'étant pas contrôlée, ils constituent un facteur de risque de transmission zoonotique. En effet, un chien infecté est à priori susceptible de contaminer d'autres animaux ou des hommes des villages aux alentours, jouant ainsi un rôle dans l'expansion de la maladie (Allela *et al.*, 2005 ; ANSES, 2014). L'Homme serait susceptible de se contaminer par contact avec les fluides biologiques d'un chien infecté (ANSES, 2014). Les contacts réguliers et proches entre les hommes et les chiens sont à prendre en compte comme facteurs de risque de transmission zoonotique. Celle-ci pourrait en particulier avoir lieu via léchage ou morsure (Allela *et al.*, 2005). En particulier, une étude menée par Paige *et al.* (2014), en Ouganda, a consisté à questionner 1240 personnes volontaires au sujet de contacts avec des animaux sauvages. Parmi les 20 % de personnes questionnées révélant avoir déjà été en contact avec un primate ou avoir été blessée par un animal sauvage, 51,7 % ont rapporté s'être déjà fait mordre par un chien. Les morsures de chien représentaient par ailleurs 62,9 % des morsures rapportées dans l'étude. En outre, 51,8 % des personnes participant à l'étude n'étaient pas propriétaires d'un chien (Paige *et al.*, 2014).

2.2.2.3. Risque de contamination entre chiens

Une transmission de chien à chien pourrait avoir lieu par contact éventuel entre un chien sain et un chien infecté ou entre un chien sain et les fluides corporels d'un chien infecté, sous l'hypothèse que les chiens puissent être infectés et excréter le virus (ANSES, 2014). La probabilité de contact avec un chien infecté et de transmission du virus à l'Homme pourrait alors être accrue du fait d'une augmentation du nombre de chien infectés (Allela *et al.*, 2005 ; ANSES, 2014).

2.2.3. Les facteurs de risque de contamination du chien et de transmission du zoonotique dans les zones où le virus ne circule pas

Dans les pays où le virus ne circule pas naturellement, en particulier l'Europe et l'Amérique, la contamination des carnivores domestiques et la transmission zoonotique du virus est à envisager sous un angle différent. Les facteurs de risque impliqués ne sont pas les mêmes. En effet, les chiens domestiques pourraient être susceptibles de se contaminer principalement à partir de personnes infectées ayant séjourné dans une zone d'épidémie ou s'étant contaminées à partir d'une personne ayant séjourné dans une telle zone (ANSES, 2014 ; EFSA, 2014). Le principal mode de contamination à prendre en compte est celui résultant de la promiscuité entre un chien et son maître infecté, ceci, d'autant plus que les

chiens sont, ici, des animaux de compagnie entretenant des contacts privilégiés et étroits avec l'Homme, contrairement à précédemment.

Lors de la récente épidémie en Afrique de l'Ouest, les autorités américaines et européennes se sont inquiétées au sujet de deux chiens ayant été en contact avec des personnes infectées. Deux infirmières se sont contaminées à partir de personnes rapatriées et infectées par EBOV. La première, une infirmière espagnole, s'est contaminée, fin septembre 2014, auprès d'un patient ayant effectué un volontariat en Sierra Leone. La seconde, américaine, s'est contaminée en octobre 2014 auprès d'une personne ayant voyagé au Libéria. Ces deux agents hospitaliers possédaient chacune un chien, susceptible de constituer un facteur de risque de contamination et de dissémination du virus. L'infirmière espagnole a rapporté avoir été en contact proche avec son chien Excalibur durant les 5 jours précédents la confirmation de son infection (Spengler *et al.*, 2015). Afin de ne prendre aucun risque, et en l'absence d'infrastructures suffisamment sécurisées (quarantaine de niveau P4) permettant d'étudier l'éventuelle séroconversion et excrétion virale par Excalibur, celui-ci a été euthanasié par principe de précaution. Le chien américain, Bentley, a quant à lui été exposé à sa maîtresse lors des deux premiers jours de sa maladie. Il a été testé et aucune séroconversion n'a été trouvée. Cependant, il est à noter que l'excrétion du virus est faible lors des premiers jours de la maladie et qu'il est admis que la transmission par les personnes malades ne débute que 48h après l'apparition des symptômes. L'absence de séroconversion pourrait donc être expliquée par une absence d'infection liée à une soustraction suffisamment précoce du chien à un risque de contamination plutôt que par une absence de réceptivité du chien. Bentley a été mis en quarantaine, surveillé, testé et rendu à sa propriétaire (ANSES, 2014 ; EFSA, 2014 ; Spengler *et al.*, 2015).

Pour des raisons différentes, les deux cas précédents n'ont donc pas permis d'explorer la problématique du risque d'infection des chiens.

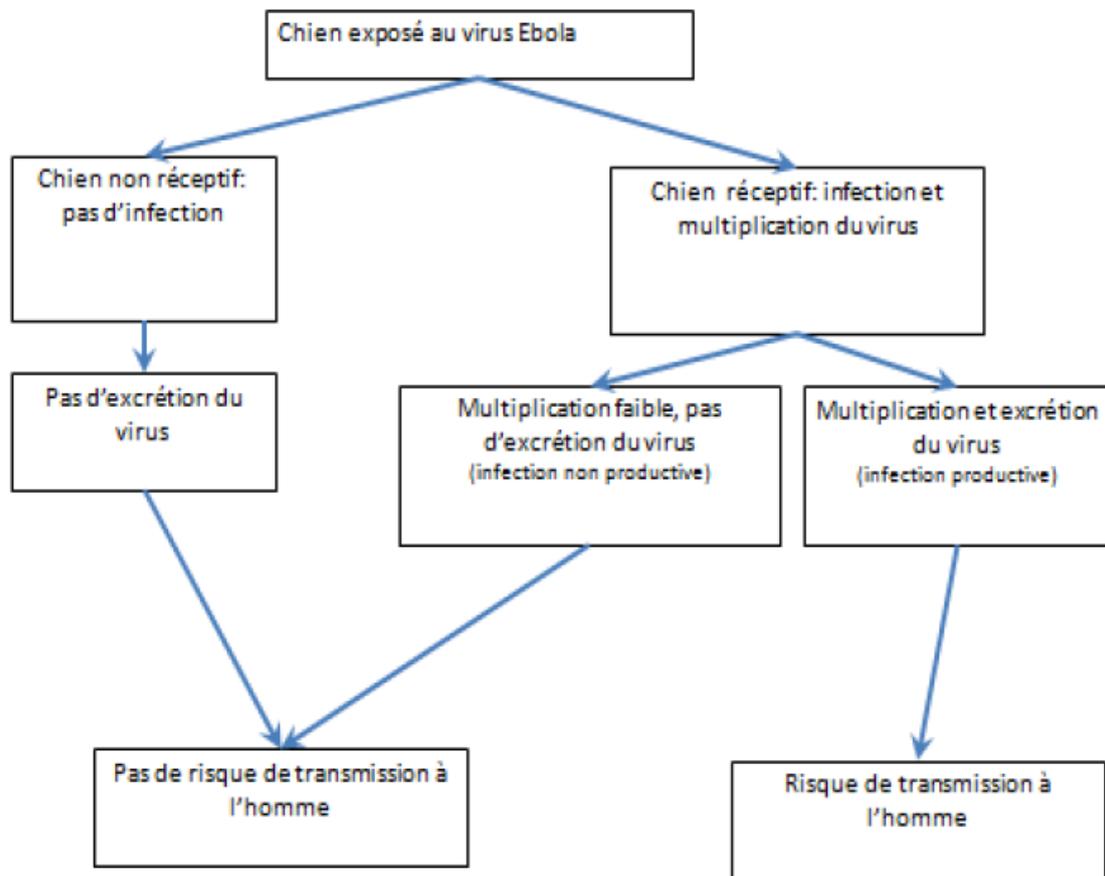
Dans l'hypothèse où un chien pourrait se contaminer à partir d'un humain infecté et dans l'hypothèse où ce chien pourrait excréter le virus, une contamination entre chiens n'est pas exclue dans le cas d'animaux de compagnie se côtoyant régulièrement dans un même foyer (ANSES, 2014).

2.2.4. Bilan sur l'évaluation du risque zoonotique que représentent les carnivores domestiques

Les carnivores domestiques, tout au moins les chiens, sont des espèces possiblement réceptives au virus Ebola, comme en témoigne l'étude d'Allela *et al.* (2005), et pourraient être susceptibles dans ce contexte d'être à l'origine d'une transmission zoonotique.

Différents facteurs de risque ont été énoncés précédemment. L'Homme pourrait ainsi se contaminer à partir de carnivores domestiques selon un schéma événementiel représenté dans la figure 33.

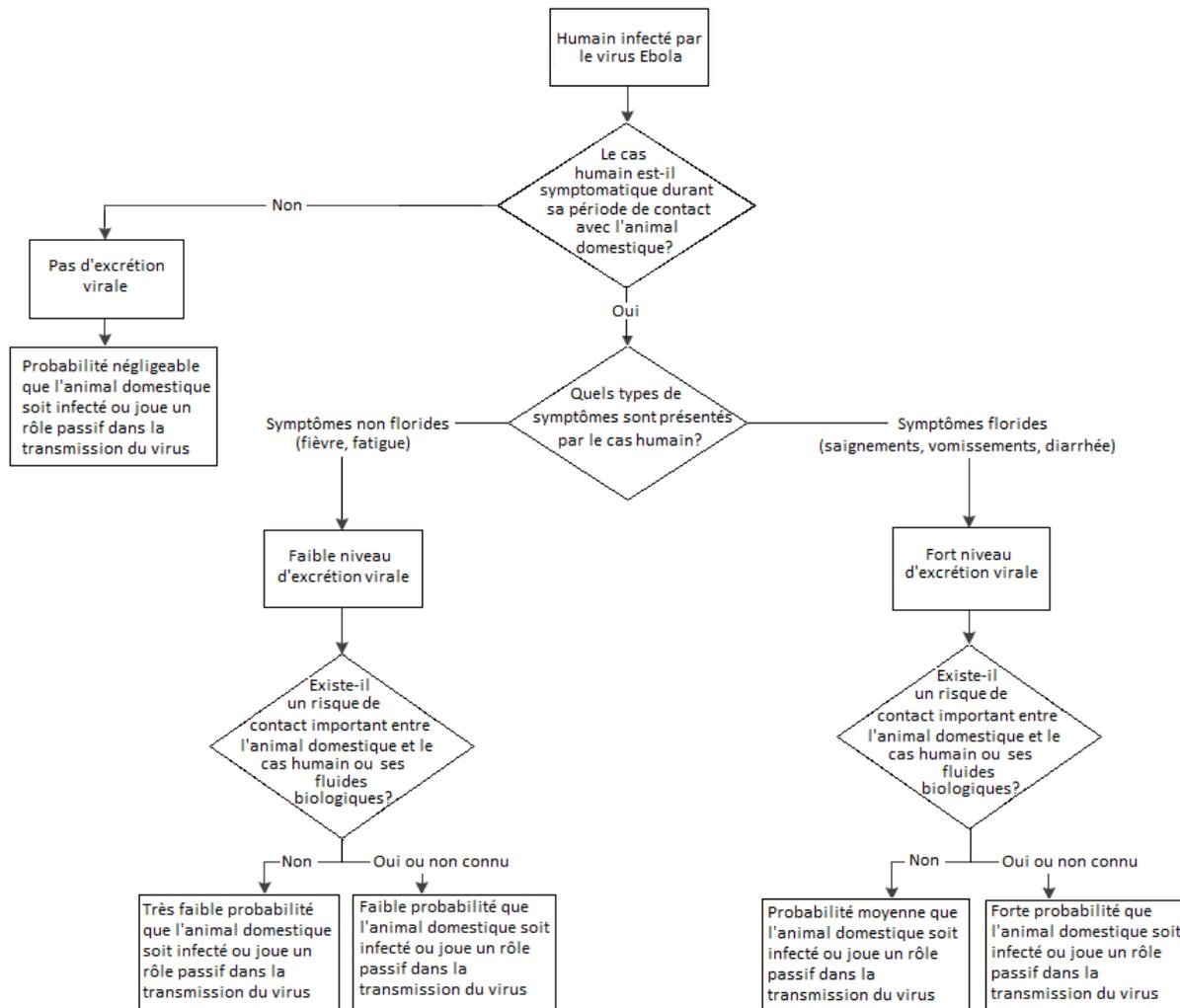
Figure 33 : Schéma événementiel d'une éventuelle transmission induite par un chien exposé au virus de la maladie Ebola (ANSES, 2014)



Une contamination des carnivores domestiques à partir de l'Homme pourrait aboutir à l'émergence d'une épidémie ou faciliter la propagation du virus au sein d'une population humaine. Le rôle du chien pourrait être particulièrement significatif dans les zones où le virus ne circule pas. L'entrée du virus dans un pays se fait par rapatriement d'une personne infectée ou en période d'incubation et le chien, s'il s'infecte, pourrait jouer le rôle d'amplificateur et transmettre le virus. L'EFSA a essayé de quantifier la probabilité d'infection d'un carnivore domestique à partir d'un humain infecté (Figure 34).

Figure 34 : Algorithme de probabilité pour qu'un carnivore domestique en contact avec un humain infecté par EBOV se contamine ou s'infecte à son tour (EFSA, 2014)

Un risque élevé de contact est défini par un animal ayant eu des contacts avec des fluides biologiques d'un humain infecté par EBOV. La probabilité d'infection peut être élevée, moyenne, faible ou très faible.



Néanmoins, à l'heure actuelle, la sensibilité des carnivores domestiques n'a pas été prouvée. A ce jour, aucun cas de chien malade n'a été rapporté (ANSES, 2014 ; EFSA, 2014 ; Spengler *et al.*, 2015). Le pourcentage non négligeable de cas de séropositivité (22,4 %) trouvé au sein des carnivores domestiques, dans des villages sans cas humains, lors des épidémies de 2001 et 2002 au Gabon, est un des facteurs en faveur d'une absence de transmission zoonotique (Allela *et al.*, 2005 ; ANSES, 2014). L'absence de données expérimentales menées sur les carnivores domestiques ne nous permet pas non plus d'évaluer le risque zoonotique que constituent les carnivores domestiques. De telles expériences seraient intéressantes afin d'étudier la réceptivité et la sensibilité du chien et sa

capacité d'excrétion du virus (EFSA, 2014). Les données actuelles ne nous permettent donc pas de conclure sur le rôle joué par les carnivores domestiques dans la transmission zoonotique du virus Ebola. Certains auteurs affirment que le rôle des carnivores domestiques dans la transmission zoonotique est à estimer comme « très faible à faible » (Roger *et al.*, 2016). Considérant le danger sanitaire que représente le virus Ebola pour la population humaine, et bien qu'il soit peu probable que le chien soit sensible, il n'est pas possible d'exclure qu'une telle infection existe et puisse mener à une transmission à l'Homme.

III- Analyse des facteurs de risque liés à l'Homme dans la transmission zoonotique de la maladie à virus Ebola des animaux à l'Homme

L'activité humaine intervient aussi dans la transmission zoonotique en augmentant la probabilité de contact avec la faune sauvage jugée à risque d'héberger le virus. Il est possible de citer les activités liées au trafic de viande de brousse¹⁵, comme la chasse et la consommation de viande de brousse, considérée comme le facteur de risque principal (Paige *et al.*, 2014), la déforestation et les habitudes culturelles de certains pays d'Afrique. La consommation de viande de brousse concerne 172 espèces en Afrique, dont un grand pourcentage de mammifères mais aussi des ongulés et des rongeurs (Abernethy *et al.*, 2013). La consommation de viande d'espèces réceptives et/ou sensibles au virus comme les primates non humains, les chauves-souris, les rongeurs, le céphalophe ou encore les carnivores domestiques, dans les zones où le virus circule, représenterait un risque non négligeable de transmission zoonotique. Les chauves-souris sont par exemple fréquemment consommées séchées, fumées ou cuisinées (OIE, 2015). Au Congo, jusqu'à 282,3g de viande de brousse peuvent être consommés par personne par jour avec 4,5 millions de tonnes de viande de brousse consommées par an (Wolfe *et al.*, 2005). Concernant le taux de production, « six millions de tonnes de viande de brousse sont extraites du bassin de Congo chaque année » (Roger *et al.*, 2016). La déforestation croissante actuelle a pour conséquences un chevauchement des aires de distribution d'espèces animales de la faune sauvage et de l'Homme. Enfin les pratiques et l'évolution culturelle de certaines régions d'Afrique seraient à l'origine de contacts croissants avec la faune sauvage.

1. Les risques imputables aux activités associées au trafic de viande de brousse

Il existe différentes activités associées au trafic de viande de brousse et jugées « à risque » d'exposition aux fluides biologiques d'animaux sauvages (Wolfe *et al.*, 2005). Le virus Ebola a en effet été détecté chez plusieurs espèces animales chassées par l'homme

¹⁵ Viande crue, fumée ou cuisinée partiellement provenant d'animaux sauvage africains

pour leur viande, comme les primates non humains, les chauves-souris, les rongeurs ou encore les céphalopodes (Mann *et al.*, 2015). Ces activités à risque sont les suivantes :

- La chasse, impliquant des contacts proches avec des animaux, ou leurs fluides biologiques, potentiellement contaminés ;
- La préparation et la consommation de la viande ;
- La commercialisation de la viande de brousse, le transport et l'exportation de cette viande dans d'autres pays.

Il apparaît donc légitime de se questionner sur la probabilité (FAO, 2015):

- Pour l'Homme de s'exposer au virus Ebola à partir de contacts proches avec des espèces d'animaux sauvages de région d'Afrique où le virus circule ;
- Pour l'Homme de s'exposer à travers les différentes activités liées à la commercialisation de la viande de brousse ;
- Pour le virus Ebola de se propager dans d'autres pays à travers la commercialisation de viande de brousse des Pays Africains.

1.1. La chasse d'animaux sauvages et le transport de leur carcasse

La chasse de viande de brousse est une pratique ancienne. Même si cette pratique est interdite, elle est très répandue en Afrique et augmenterait les risques de transmission zoonotique notamment en augmentant les risques de contact avec la faune sauvage potentiellement infectée et/ou leurs fluides biologiques (Wolfe *et al.*, 2004). La chasse regroupe le fait de chercher sa proie, la capturer, la manipuler, l'abattre et transporter sa carcasse. Le risque de transmission serait différent selon les espèces concernées et plus important pour les espèces sensibles à l'infection par le virus Ebola, en particulier les primates non humains (Wolfe *et al.*, 2005). L'utilisation des armes à feu a facilité la chasse de grandes espèces et notamment des primates non humains, augmentant les risques de transmission à partir de la manipulation de leur carcasse (Abernethy *et al.*, 2013).

Une étude menée sur des macaques a estimé qu'EBOV serait viable jusqu'à 7 jours après la mort de l'animal, rendant possible et probable une contamination même après un transport de plusieurs jours. Des particules viables du virus ont, en effet, été isolées à partir de carcasses conservées à 27°C et à 80 % d'humidité relative, représentatives des conditions environnementales d'Afrique de l'Ouest, jusqu'à 7 jours après l'euthanasie de l'animal infecté expérimentalement (Prescott *et al.*, 2015). La contamination de l'homme à partir de la consommation de viande de brousse serait plus probable lorsque la viande est transportée durant un laps de temps réduit, en supposant que cette viande est contaminée (EFSA, 2014).

1.2. La consommation de viande de brousse

La préparation de la viande, c'est-à-dire le fait de dépecer, ouvrir, couper la carcasse et la cuisiner, est un facteur de risque non négligeable de contact avec les fluides biologiques d'animaux potentiellement infectés (Wolfe *et al.*, 2005). En ce qui concerne la consommation de la viande, un rapport publié par l'EFSA n'a pas réussi à conclure au sujet du risque de persistance du virus dans la viande (Prescott *et al.*, 2015). Le risque lié à la consommation de viande de brousse n'a pas pu être déterminé du fait du manque de données et de connaissances. Le virus ayant néanmoins déjà été isolé dans des muscles de PNH, sa présence dans la viande d'animaux fraîchement tués ne peut donc pas être exclue. La FAO considère que la probabilité de transmission du virus Ebola à partir de la consommation de viande de brousse serait très faible (FAO, 2015). L'EFSA a de plus mis en évidence une destruction du virus lors de la cuisson de la viande à 75°C pendant 30 minutes et la destruction « rapide et efficace » lors de la cuisson à 100°C (EFSA, 2014). A l'inverse, la réfrigération semble préserver la capacité d'infection du virus et EBOV pourrait survivre à plusieurs congélations successives. La contamination de l'Homme à partir de la consommation de viande de brousse serait donc plus probable par consommation de viande fraîche réfrigérée qu'à partir de viande séchée ou fumée exposée à haute température (EFSA, 2014).

1.3. La commercialisation de viande de brousse

La viande de brousse chassée en Afrique n'est que rarement destinée à la consommation personnelle des chasseurs mais plutôt à être vendue et commercialisée à d'autres villages ou pays d'Afrique ainsi qu'à l'international, dans des pays n'ayant pas connu d'épidémie de maladie à virus Ebola. Il s'agit de plus d'une source de revenus non négligeable pour la population, en particulier en cas de crises économiques ou de guerres civiles, récurrentes sur le continent africain (Mann *et al.*, 2015). Le trafic d'animaux sauvages et de leurs dérivés, notamment de viande de brousse, est devenu non négligeable. On peut dès lors se questionner sur les risques de transmission zoonotique associés à cette commercialisation.

1.3.1. Sur le continent africain

Sur le continent africain, et plus spécifiquement au Cameroun, la demande de viande de brousse des zones urbaines est croissante. Le marché de viande de brousse à Yaoundé est estimé à 4 millions de dollars par an (Wolfe *et al.*, 2005). Une étude de Covey et McGraw (2014) s'est intéressée au marché de viande de brousse de Côte d'Ivoire dont la viande commercialisée provient d'animaux chassés au Liberia. D'après leurs observations, la viande est transportée depuis le Liberia tous les jours et vendue à des consommateurs ou des restaurateurs. Ils ont eu l'occasion d'observer et visiter ces marchés. La viande y est vendue fraîche ou fumée pour une meilleure et plus longue conservation, avec des arrivages quotidiens. Plusieurs types d'espèces y sont vendues avec en tête la viande de céphalophe et d'antilopes des forêts qui représente, en unité de carcasse, 57 % de la viande (412 carcasses parmi 723) proposée sur le marché, suivie par la viande d'espèces variées de primates non humains qui représente 36,5 % de la viande (264/723), dont 68 % est fumée et 32 % crue. Ils ont ainsi estimé qu'environ 9 464 carcasses de primates non humains transitent sur ces marchés chaque année, représentant 2,76 % du marché. Ce chiffre est sans doute sous-estimé car certaines carcasses, non vues, n'ont probablement pas été comptabilisées, les ventes et échanges en dehors des heures d'ouvertures n'ayant pas été pris en compte. En outre, cette estimation n'a pas pris en compte la viande de brousse vendue sur d'autres marchés ou la viande consommée directement par les chasseurs ou leur famille (Covey et McGraw, 2014). Les principales espèces rencontrées sur les marchés de viande de brousse du Cameroun sont des espèces connues pour être réceptives et/ou sensible au virus Ebola, chez lesquelles la présence du virus a été retrouvée et qui jouent ou sont susceptibles de jouer le rôle d'hôtes relais.

Une seconde étude menée par Kamins *et al.* (2011) s'est intéressée à la place des chauves-souris dans le commerce de viande de brousse au Ghana, en Afrique de l'Ouest, en particulier à la façon dont elles sont chassées et dont leur viande est vendue, afin de comprendre les mécanismes aboutissant à leur arrivée dans l'assiette du consommateur. Dans un premier temps, ils ont mené des interviews auprès de la population, en particulier auprès des chasseurs et des vendeurs de viande de brousse, pour recueillir de leur bouche des informations concernant les modalités de chasse et de commercialisation de la viande de chauves-souris. Dans un second temps, ils ont questionné des villageois toutes les 5 minutes en se plaçant à l'entrée des marchés et/ou des villages. Dans le sud du Ghana, les chauves-souris frugivores peuvent être chassées en toute légalité, les personnes questionnées n'avaient donc pas à se soucier de la censure de leurs propos. Ces interviews ont eu lieu sur une période de 4 mois de novembre 2009 à février 2010 (Kamins *et al.*, 2011).

Ils ont ainsi mis en évidence l'existence de nombreux marchés de viande de brousse au Ghana. Dans les grandes villes comme Kumasi¹⁶, la viande de brousse peut être vendue dans des grands marchés vendant toutes sortes de produits ou dans des petits marchés

¹⁶ Kumasi est la deuxième plus grande ville du Ghana avec 1,4 millions d'habitants

spécialisés uniquement en viande de brousse. Dans les petites villes ou villages situés en zone rurale, les marchés sont petits et approvisionnent généralement uniquement la population du dit village. Quatre acteurs semblent se démarquer dans la commercialisation de viande de chauves-souris (Kamins *et al.*, 2011) (Figure 35) :

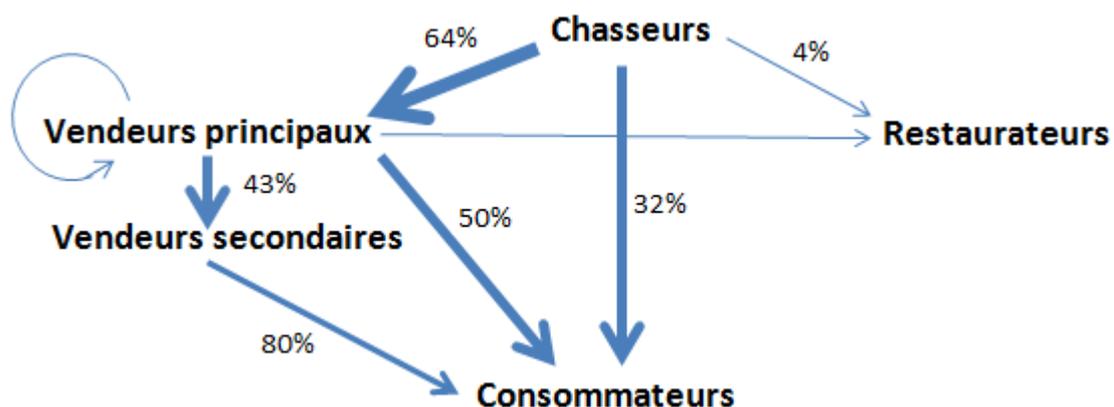
- Les chasseurs, pouvant chasser pour leur consommation personnelle ou celle de leur famille et ceux chassant dans le but de commercialiser la viande et percevoir un revenu.
- Les vendeurs, c'est-à-dire les personnes vendant au détail les chauves-souris chassées par une autre personne. Celles-ci sont surtout vendues sur les marchés, bien qu'il existe aussi des vendeurs de rue. Il est possible de distinguer le vendeur principal, qui achète la viande de chauves-souris au chasseur, du vendeur secondaire qui achète la viande à d'autres vendeurs uniquement

Les chasseurs et les vendeurs sont considérés comme actifs lorsqu'ils ont pratiqué une activité dans les 12 derniers mois.

- Les propriétaires de restaurants locaux (« chop bars »),
- Les consommateurs individuels.

Figure 35 : Schématisation simplifiée du processus de commercialisation de viande de brousse de chauves-souris au sud du Ghana (Kamins *et al.*, 2011).

L'épaisseur des flèches est proportionnelle aux proportions relatives des connexions entre les acteurs tout au long de la chaîne. Les chasseurs vendent environ 64 % de leurs marchandises à des vendeurs principaux, 32 % à des consommateurs et les 4 derniers pour cents à des restaurateurs. Parmi ces 64 %, 43 % sont revendues à des vendeurs secondaires et 50 % au consommateur, le reste étant réparti entre les restaurateurs et d'autres vendeurs principaux. Enfin, 80 % de la viande vendue par les vendeurs principaux aux vendeurs secondaires sera vendue au consommateur.



Kamins *et al.* (2011) ont ainsi estimé le nombre de chauves-souris chassées et vendues annuellement au Ghana. Ils ont pu observer la vente d'au moins 100 carcasses, le

plus souvent fumées, de chauves-souris sur les marchés. Seuls deux chasseurs vendaient leur viande fraîche. Au total, un minimum de 128 000 chauves-souris (*Eidolon helvum*) seraient vendues par an au Ghana, ce chiffre étant sous-estimé car cette étude ne porte que sur 9 des 163 villes répertoriées dans le pays. Les carcasses sont de plus vendues très vite et dans des paniers, rendant plus difficile leur dénombrement. Une modélisation estimerait un nombre maximum de 1,5 millions de chauves-souris vendues. De la même façon, un minimum de 44 000 chauves-souris seraient chassées par an au Ghana. Il est cependant possible que certaines chauves-souris aient été comptabilisées deux fois, une fois par le vendeur principal et une deuxième fois par les vendeurs secondaires (Kamins *et al.*, 2011). A noter que, bien que les consommateurs soient généralement des populations locales, un risque existe pour les touristes. En effet, l'Uganda Wildlife Authority (UWA) s'est inquiétée quant au risque que des voyageurs aient pu consommer de la viande de brousse à leur insu, après que des vendeurs de bords de route aient été arrêtés pour avoir vendu de la viande de bonobo annoncée comme étant de la viande de bœuf de Kobe (« Uganda: Travellers Eating Baboon Meat On the Gulu Highway - allAfrica.com », s. d.).

Néanmoins, afin de mieux comprendre le rôle joué par la commercialisation de viande de brousse dans la transmission du virus Ebola et les facteurs de risque associés, davantage de données seraient nécessaires afin de mieux quantifier ce trafic, en particulier sur les méthodes de transport et de conservation de la viande ainsi que sur les espèces animales impliquées (Mann *et al.*, 2015).

Outre le fait que la viande de brousse transite en quantité importante en Afrique, un marché existe également à l'international, notamment en Europe et aux Etats-Unis, ce qui pourrait constituer un facteur de risque d'importation du virus Ebola dans des pays n'ayant jamais connu d'épidémies.

1.3.2. Sur les continents américain et européen

Une demande en viande de brousse existe aux Etats-Unis et dans l'Union Européenne, rendue visible par l'existence d'un marché illicite de viande de brousse. Une étude a estimé que 80% de la viande de brousse confisquée à l'entrée des EU proviendrait d'Afrique de l'Ouest (Prescott *et al.*, 2015). Le rapport réalisé par l'EFSA en 2014 a visé à évaluer le risque de transmission du virus Ebola en Europe *via* la viande de brousse, c'est-à-dire la probabilité d'apparition, en Europe, d'au moins un cas humain de maladie à virus Ebola à partir de viande de brousse contaminée. La conjonction de plusieurs événements est nécessaire pour mener à une telle transmission. La viande doit être contaminée par un virus viable, être importée illégalement et une personne capable de s'infecter doit être exposée par la suite (EFSA, 2014).

1.3.2.1. Risque d'entrée dans le pays

L'existence d'un marché international de viande de brousse pose des problèmes de santé publique *via* un risque d'importation d'agents pathogènes notamment, du virus Ebola pour ce qui nous concerne (Prescott *et al.*, 2015). Le risque d'entrée du virus en Europe dépend de plusieurs probabilités : la probabilité que la viande soit contaminée, la probabilité qu'elle soit importée illégalement et que le virus soit viable à l'arrivée (EFSA, 2014).

1.3.2.1.1. Probabilité de contamination de la viande avant importation

Pour que la viande soit contaminée, l'espèce animale concernée doit être réceptive ou sensible et chassée dans une zone où le virus circule, c'est à dire une zone où le virus a été mis en évidence dans des carcasses, des animaux vivants ou même chez l'Homme. En plus de contenir le virus, ce dernier doit survivre aux processus appliqués à la viande (fumage, salage, cuisine). Du fait du manque de données et de connaissances, cette probabilité ne peut pas être estimée avec précision. La plus grande probabilité serait liée à l'importation de viande d'animaux sensibles provenant d'une zone où le virus circule (EFSA, 2014).

1.3.2.1.2. Probabilité d'importation illégale

En ce qui concerne l'Europe, l'étude menée par Prescott *et al.* a estimé que 273 tonnes de viande de brousse entreraient chaque année en France *via* l'aéroport Charles de Gaulle, dans des bagages personnels, et 8,6 tonnes en Suisse. La quantité importée dans ces pays d'Europe est donc non négligeable (FAO, 2015 ; Prescott *et al.*, 2015). Une autre étude met en évidence que 7 % des passagers dont les bagages sont contrôlés transporteraient de la viande de brousse. En décembre 2013, de la viande de brousse de vingt chauve-souris, quinze gazelles et cinq porcs-épics provenant d'Afrique a été saisie en France (Picard-Meyer *et al.*, 2015). En particulier, la fréquence de découverte de viande de brousse en Autriche s'élèverait à un bagage sur 5000 pour les vols non européens arrivant dans le pays (EFSA, 2014). Aux Etats-Unis, 25 000 tonnes de viande de brousse entreraient sur le territoire chaque année (Smith *et al.*, 2012 ; FAO, 2015) et 69 000 dérivés de viande de brousse (viande de chauves-souris séchée et viande de singe fumée par exemple) auraient été saisis entre 2009 et 2013 par le service des douanes et de la protection des frontières des Etats-Unis (« Smuggled Bushmeat Is Ebola's Back Door to America », s. d.). Un article publié dans Newsweek¹⁷ affirme l'existence de marchés illégaux de viande de brousse aux Etats-Unis, en particulier dans la ville de New-York. L'interview d'un américain aux racines africaines leur a

¹⁷ Journal d'actualité américain

permis d'attester d'une consommation de viande de brousse sur le continent. Sans pouvoir l'estimer, cette consommation semblerait diminuer suite à la dernière épidémie de maladie à virus Ebola (« Smuggled Bushmeat Is Ebola's Back Door to America », s. d.).

1.3.2.1.3. Probabilité que la viande arrivant contienne le virus viable

La probabilité que la viande arrivant dans un pays non infecté contienne le virus viable dépend des conditions auxquelles la viande a été soumise, de la durée et des conditions de transport. Cette probabilité demeure inconnue. Elle serait plus élevée pour la viande fraîche que pour celle soumise à des procédés de conservation à haute température (EFSA, 2014). Une étude a testé une petite quantité de viande de brousse saisie à l'aéroport de New York et mis en évidence la présence de micro-organismes mais aucune trace du virus Ebola n'a été trouvée (Smith *et al.*, 2012).

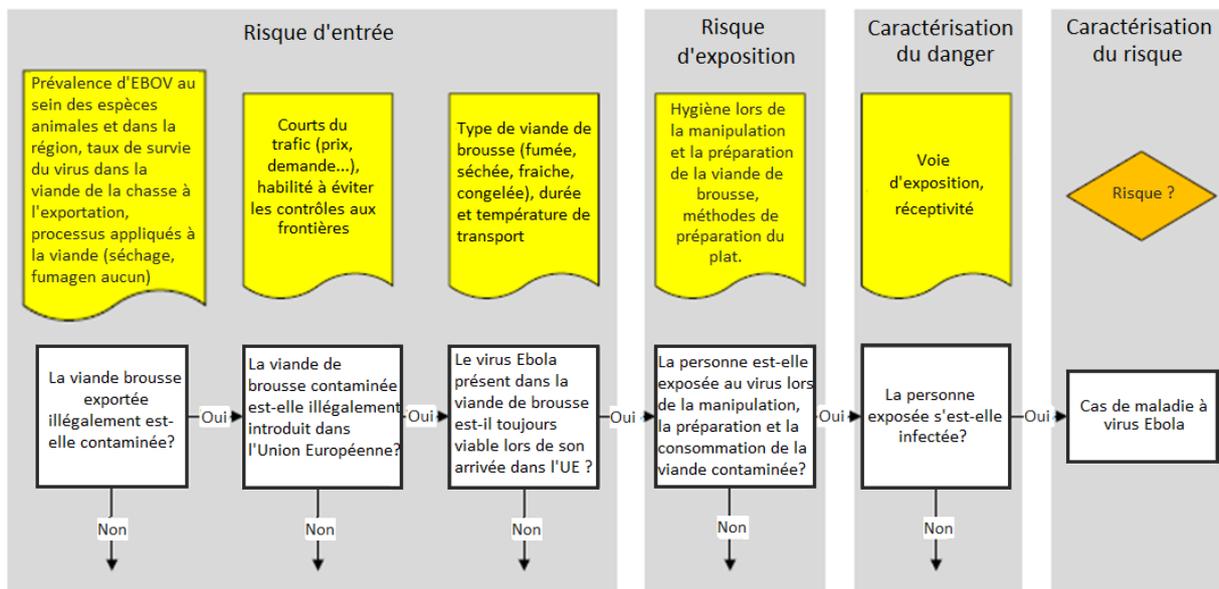
1.3.2.2. Risque d'exposition au virus Ebola

L'exposition au virus Ebola dépend de la survie du virus lors du stockage, des conditions de manipulation, de préparation et de consommation de la viande. Aucune information n'est disponible sur les méthodes de préparations et de consommation de ces produits en Europe. Cependant la chasse et l'abattage, activités supposées les plus à risque, ne sont pas impliquées, ce qui diminue grandement le risque d'exposition en Europe par rapport à l'Afrique. Une autre supposition est que la viande est cuite avant d'être consommée, inactivant le virus. De plus, même si la quantité de viande de brousse consommée en Europe n'est pas connue elle reste nettement plus faible qu'en Afrique où 4,5 millions de tonnes de viande de brousse sont consommées par an (EFSA, 2014).

1.3.2.3. Caractérisation du danger et du risque

Le but de l'EFSA était d'estimer la probabilité pour qu'au moins un cas humain de maladie à virus Ebola émerge en Europe *via* de la viande de brousse contaminée. Compte tenu de la très faible quantité de données accessibles, ce risque s'est avéré être, à l'heure actuelle, impossible à estimer. Cependant, un risque d'introduction et de transmission d'EBOV *via* la viande de brousse en Europe semble exister et est à prendre en compte même si la manipulation de la viande de brousse quand elle est importée ne présente pas autant de risques que la chasse ou l'abattage, et si la consommation en Europe est par ailleurs très faible (EFSA, 2014). Finalement, l'analyse de risque menée par l'EFSA peut être résumée dans la figure 36.

Figure 36 : Schématisation de l'analyse de risque de transmission d'EBOV a une personne en Europe via la manipulation, la préparation et la consommation de viande de brousse importée d'Afrique (EFSA, 2014)



Une étude menée par la FAO a estimé que la probabilité que le virus soit présent dans la viande fraîche, soit moins de 4 jours après la mort, de chauves-souris ou d'autres animaux morts ou malades des régions d'Afrique où le virus circule serait faible, tout comme la probabilité d'exposition au virus par manipulation de cette même viande (FAO, 2015). Cette estimation est en contradiction avec celle faite par Prescott *et al.* qui l'estiment à 7 jours (Prescott *et al.*, 2015). Par ailleurs, la probabilité que le virus Ebola soit présent dans de la viande de brousse cuite serait très faible et la probabilité que de la viande de brousse soit importée de pays infectés serait faible à modérée. Enfin, la probabilité d'une transmission *via* la commercialisation, la manipulation ou la consommation de viande de brousse dans les pays où le virus ne circule pas serait très faible, même si neuf épidémies à ce jour sont imputables à la manipulation, à la préparation ou à la consommation de viande de brousse (FAO, 2015 ; Roger *et al.*, 2016).

1.3.3. Sur le continent asiatique

Le commerce de viande de brousse est également très implanté dans de nombreux pays d'Asie notamment en Indonésie, Thaïlande, Malaisie, Birmanie, Nouvelle Guinée, Inde, Chine ainsi qu'au Cambodge, aux Philippines, au Bangladesh, au Népal et au Laos (Mickleburgh *et al.*, 2009).

Des marchés de viande de brousse ont été découverts en Indonésie, en particulier à Sulawesi dans les années 90. Le trafic de nombreux animaux sauvages et de produits dérivés

est un problème récurrent dans ce pays à la faune très diversifiée. La commercialisation de viande de brousse de chauves-souris a pu en particulier être observée. Alors que dans les années 1990, 25 à 50 chauves-souris étaient vendues par semaine sur les marchés de Sulawesi, ce chiffre est passé à 300 en 1997. Environ, 100 à 200 roussettes seraient chaque jour transportées jusqu'à des supermarchés de la ville de Manado¹⁸. Au total, 30 000 chauves-souris seraient tuées par an sur l'île de Sulawesi. De nombreux marchés et des restaurants vendant de la viande de chauves-souris, en particulier *Pteropus vampyrus*, sont également présents dans la capitale, Jakarta. Outre la commercialisation de la viande de chauves-souris, ces dernières sont régulièrement consommées par des trappeurs. La consommation et la commercialisation des roussettes a abouti à une réduction des populations, poussant les chasseurs à se rabattre sur d'autres espèces de chauves-souris (Mickleburgh *et al.*, 2009).

Des marchés de viande de brousse sont également présents dans d'autres pays d'Asie, notamment au Laos, où des milliers de chauves-souris sont vendues chaque année et même exportées en Thaïlande. De nombreux restaurants proposent de la viande de brousse dans leur menu, notamment dans la région du Mékong en Thaïlande. En Malaisie, la viande de chauves-souris est un produit de luxe surtout consommé dans les villes. En Inde, la viande de brousse est très consommée mais ne provient pas forcément de chauves-souris. La viande de chauves-souris est également consommée occasionnellement par des tribus indigènes, comme *Pteropus giganteus* au Bangladesh. De la même façon qu'en Afrique, la viande de brousse constitue une source de revenus secondaire non négligeable (Mickleburgh *et al.*, 2009).

La viande de brousse de diverses espèces est consommée dans certaines régions de Chine, vendue sur des marchés ou dans des restaurants (Mickleburgh *et al.*, 2009). L'épidémie de syndrome respiratoire aigu sévère (SARS) survenue en 2003 a été reliée à la consommation de civettes palmistes masquées vendues en même temps que des chauves-souris, réservoir du virus, sur les marchés chinois. L'émergence de cette maladie chez l'Homme a montré qu'une transmission zoonotique virale à partir de la commercialisation de viande de brousse est possible et a fait naître une inquiétude concernant les risques de transmission d'autres virus, en particulier le virus Ebola (« Smuggled Bushmeat Is Ebola's Back Door to America », s. d.). La Chine est également un pays connu pour consommer de la viande de carnivores domestiques. Dans l'hypothèse d'une éventuelle réceptivité des carnivores domestiques à l'infection par le virus Ebola, une transmission par consommation de viande peut être envisagée.

Dans les pays asiatiques, de nombreux produits issus de la faune sauvage sont utilisés pour leurs vertus thérapeutiques, comme par exemple le pangolin en Chine. La commercialisation d'animaux sauvages vivants ou de leurs dérivés destinés à la pratique de

¹⁸ Ville située sur l'île de Sulawesi en Indonésie

la médecine traditionnelle pourrait également être un facteur de risque de transmission zoonotique (Lee *et al.*, 2014).

2. L'impact de la déforestation et de l'appropriation du territoire par l'Homme

L'Afrique possède la deuxième plus grande zone de forêt tropicale après l'Amazonie. Celle-ci représente presque 30 % du territoire et se concentre à 89 % en Afrique Centrale (Malhi *et al.*, 2013). Des pertes importantes de densité de cette forêt tropicale ont été observées en Guinée, dans la région aux alentours de Guéckédou, la ville où le premier cas de l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013 a été identifié (Mann *et al.*, 2015). Au Cameroun, le taux de déforestation pourrait atteindre 800 à 1000km² de perte par an selon certains auteurs (Wolfe *et al.*, 2005). Au Ghana, les zones de forêt à canopée fermée en dehors des réserves auraient été réduites de 47 % entre 1986 et 2002 (McNamara *et al.*, 2015). Cette diminution est notamment la conséquence d'une augmentation d'activité de l'industrie forestière, minière, de l'agriculture ainsi que de la production d'huile de palme et de cacao (Wolfe *et al.*, 2005 ; Mann *et al.*, 2015). Le système alimentaire actuel créerait des conditions environnementales favorisant les interactions entre l'homme et la faune sauvage potentiellement porteuse du virus (Mann *et al.*, 2015).

Selon certains auteurs, la déforestation serait le principal facteur de risque de contact entre les hommes et la faune sauvage (Wolfe *et al.*, 2005). L'expansion de l'industrie forestière et l'industrialisation ont mené à la construction d'un réseau routier dense ayant eu pour conséquence de fractionner l'habitat naturel de la faune sauvage et d'entraîner une réduction de mouvements faunistiques entre ces espaces désormais délimités par des routes (Wolfe *et al.*, 2005 ; Abernethy *et al.*, 2013). Ce fractionnement rendrait également cet habitat plus accessible aux hommes, augmentant ainsi la probabilité de rencontres entre l'homme et la faune sauvage (Wolfe *et al.*, 2005). En particulier, la quasi-totalité des forêts d'Afrique Centrale sont aujourd'hui accessibles aux chasseurs (Abernethy *et al.*, 2013). Déforestation et chasse de viande de brousse seraient donc liées, la déforestation et la construction de routes et d'exploitations forestières favorisant l'accès à des zones de forêt denses autrefois inaccessibles et en faisant de nouvelles zones de chasse (Wolfe *et al.*, 2005). L'augmentation des activités humaines au sein des forêts africaines est donc à l'origine d'un empiètement de l'Homme sur le territoire d'espèces potentiellement porteuses du virus et d'une augmentation de la probabilité de contact (Mann *et al.*, 2015). La hausse d'activité humaine pousse certaines espèces à chercher un nouvel habitat et/ou à s'adapter à la présence de l'Homme, à l'origine d'une superposition des habitats et d'une cohabitation des espèces. Il est possible de citer comme exemple le développement de l'activité minière au cœur de l'habitat de certaines chauves-souris. Cet empiètement de l'Homme sur le territoire des chauves-souris pousserait ces dernières à se réfugier dans d'autres lieux, à l'orée des villages ou dans les mines (« We Are Making Ebola Outbreaks Worse by Cutting Down Forests | Mother Jones », s. d.). C'est le cas du village de Méliandou

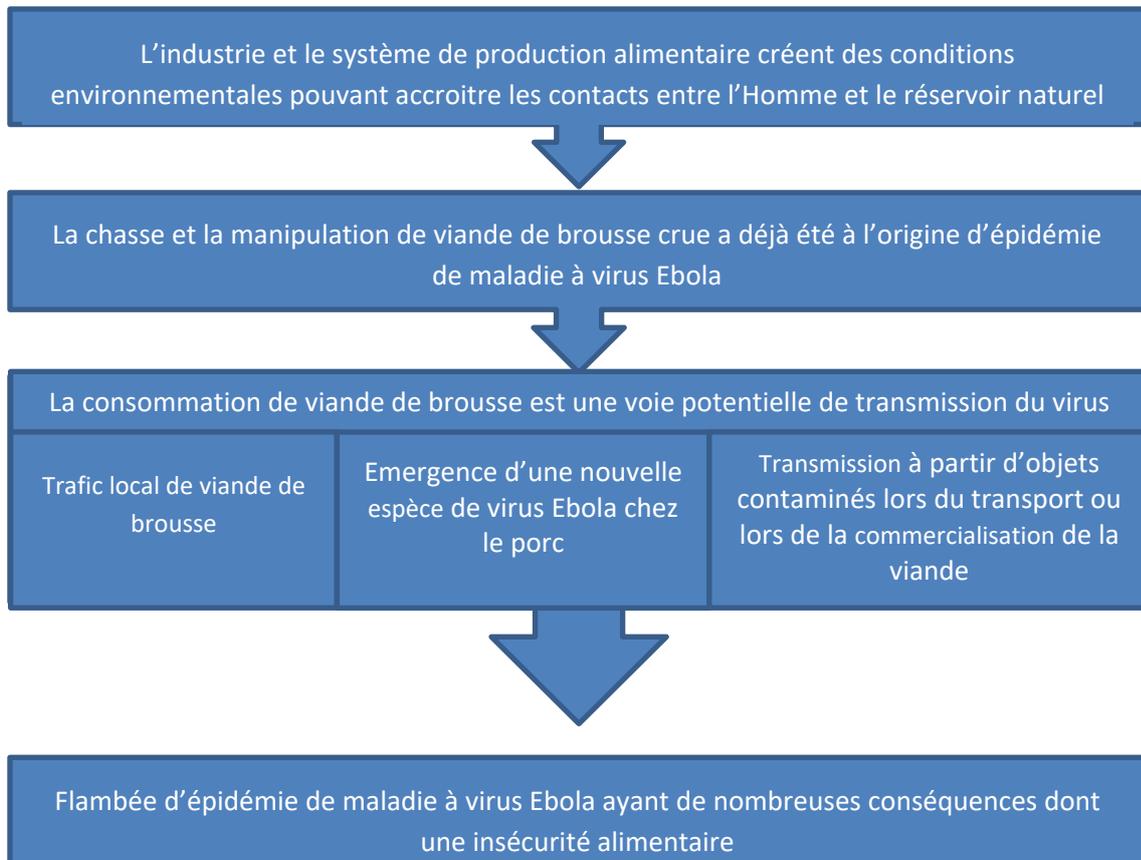
dans lequel une colonie de chauves-souris aurait séjourné, dans un arbre proche du village, et aurait été à l'origine du cas index de la récente épidémie de maladie à virus Ebola en Afrique de l'Ouest (Marí Saéz *et al.*, 2015). L'introduction de nouvelles espèces est également possible avec le développement de populations de rongeurs usuellement retrouvés dans les savanes et susceptibles de jouer le rôle d'hôte relai (Morvan *et al.*, 1999).

De façon plus surprenante, ces activités humaines auraient également eu un impact positif sur la densité animale. Par exemple, certaines chauves-souris seraient attirées par les plantations d'huile de palme. L'implantation et le développement de cette activité aurait eu pour conséquence d'augmenter fortement la concentration humaine et animale dans des zones réduites et de favoriser la probabilité de contact entre ces espèces (Akani *et al.*, 2015; Mann *et al.*, 2015).

3. Bilan sur l'impact des activités humaines liées à l'industrie alimentaire sur l'apparition d'une épidémie de maladie à virus Ebola

Au bilan, l'industrie et le système de production alimentaire pourraient jouer un rôle important dans l'apparition d'une épidémie de maladie à virus Ebola, elle-même pouvant mener à une insécurité alimentaire (FAO, 2016) (Figure 37). L'intensification de cette industrie et en particulier de la production d'huile de palme et du développement de l'agriculture participent à la déforestation et à l'empiètement de l'Homme sur le territoire de la faune sauvage locale. Ceci aboutirait à l'amplification des contacts entre l'Homme et des espèces animales potentiellement porteuses du virus, accroissant ainsi le risque de transmission zoonotique. De plus, la chasse de viande de brousse est une pratique largement répandue en Afrique à l'origine d'un risque de transmission par manipulation et/ou consommation de carcasses. Même si cette pratique est suspectée avoir été à l'origine de plusieurs épisodes connus de maladie à virus Ebola, dont le premier connu, cette probabilité est jugée très faible par certains auteurs (FAO, 2015). Cette viande fait l'objet d'un trafic local et international faisant peser des risques non négligeables pour la sécurité alimentaire par la transmission zoonotique possible de nombreux agents pathogènes. La nourriture en elle-même constitue donc un facteur de risque potentiel de transmission zoonotique *via* sa consommation, sa manipulation, ou de manière indirecte par contamination d'objets lors de son transport ou sa commercialisation (Mann *et al.*, 2015).

Figure 37 : Bilan sur les différentes activités liées à l'industrie alimentaire pouvant aboutir à une épidémie de maladie à virus Ebola (inspiré de Mann et *al.*, 2015)



4. Contexte socio-économique et culturel

Le contexte socio-économique et culturel serait un facteur de risque intervenant dans la transmission zoonotique du virus Ebola. La fréquence d'activités liées à la chasse de viande de brousse semblerait différer selon certains paramètres dont le sexe, l'âge et les ethnies (Wolfe *et al.*, 2005). Par exemple, Wolfe *et al.* (2004) ont observé que 98,7 % des hommes au Cameroun chasseraient de la viande de brousse de PNH contre 1,8 % des femmes (valeurs observées). Toujours dans cette même étude, plus de femmes (50,9 %) auraient rapporté abattre des PNH par rapport aux hommes (49,1 %). Dans une autre étude, 100 % des chasseurs interrogés au Ghana concernant la chasse de chauves-souris étaient des hommes et un seul vendeur sur les 48 interrogés s'est avéré être une femme (Kamins *et al.*, 2011). Parmi les participants de l'étude de Wolfe *et al.* rapportant des contacts directs avec des PNH, 82,5 % serait des hommes et 17,5 % des femmes. En outre, la consommation de viande de PNH au Cameroun serait plus réduite pour les femmes par rapport aux hommes (Wolfe *et al.*, 2004). La chasse et la vente seraient donc des activités plutôt masculines alors que la gent féminine semble plus affectée aux activités d'abattage. Finalement, les hommes seraient plus nombreux à rentrer en contact avec des PNH et à consommer leur viande.

La viande de brousse représente par ailleurs une grande part du régime alimentaire des foyers pauvres. Les plus pauvres dépenseraient 16-17 % de leur budget à de la viande de brousse contre 7 % pour les plus riches (Wolfe *et al.*, 2005). La pauvreté et les guerres civiles seraient selon certains auteurs un paramètre influençant le risque d'exposition au virus Ebola. La pauvreté pousserait les populations à explorer les forêts à la recherche de nourriture et de bois, à chasser des animaux sauvages pour se nourrir ou à tirer profit de la vente de leur viande, augmentant le risque d'exposition au virus. Les guerres civiles ayant affecté certains pays d'Afrique comme le Liberia et la Sierra Leone auraient été à l'origine d'une hausse de la pauvreté et de mouvements de populations allant se réfugier dans les pays voisins et notamment dans les forêts, augmentant le risque de contact avec des animaux sauvages potentiellement infectés. En 2004, 59 000 réfugiés ont été dénombrés (Bausch et Schwarz, 2014). A noter que la chasse et la commercialisation de viande de brousse constituent une activité secondaire permettant d'assurer un deuxième revenu. Les chasseurs et les vendeurs exercent très souvent une autre profession (Kamins *et al.*, 2011).

Dans une autre étude, réalisée dans le parc national Kibale en Ouganda, Paige *et al.* (2014) ont étudié différents paramètres liés à l'Homme pouvant être des facteurs de risque d'exposition de l'Homme au virus Ebola, en particulier des facteurs de risque de contact entre l'Homme et les animaux sauvages. Ces paramètres étant l'âge, le sexe, la profession, la tribu d'appartenance (Kiga¹⁹ ou Mutooro²⁰) et le lieu de vie (proche ou éloigné des bordures de forêt). Ils ont été étudiés et comparés dans le but d'appréhender leur impact sur la fréquence de contact de l'Homme avec des animaux sauvages, la fréquence de blessure par des animaux sauvages ou encore la fréquence de contact avec des primates. Le lieu de vie pris comme zone contrôle est situé à 2-3km des bordures du parc, à une distance éloignée des zones de forêts.

L'Odd Ratio (OR) et l'intervalle de confiance à 95 % (IC₉₅ %) associant chaque variable avec le facteur de risque étudié ont été déterminés et les résultats ont été regroupés dans le tableau 16.

¹⁹ Groupe ethnique récemment immigré en Ouganda

²⁰ Groupe ethnique le plus ancien et le plus développé résident en Ouganda

Tableau 16 : Association entre la fréquence de contact avec un animal sauvage, de blessure engendrée par un animal sauvage et de contact avec un primate avec différentes variables (âge, sexe, lieu de vie, tribu d'appartenance, profession) en Ouganda (Paige *et al.*, 2014)

Paramètre étudié Variables	Fréquence de contact avec un animal sauvage			Fréquence de blessure engendrée par des animaux sauvage			Fréquence de contact avec un primate		
	OR (IC95%)	p	Interprétation	OR (IC95%)	p	Interprétation	OR (IC95%)	p	Interprétation
Age	1,02 (1,02-1,04)	<0.0001	Augmentation de l'OR de 2% par année supplémentaire	1,02 (1,02-1,04)	<0.0001	Augmentation de l'OR de 2% par année supplémentaire	1,01 (1,0-1,02)	0,12184	Non significatif
Sexe									
Femme	Référence			Référence			Référence		
Homme	2,53 (1,82-3,53)	<0.0001	Significativement plus élevée pour un homme que pour une femme	1,95 (1,34-2,86)	0.000517	Significativement plus élevée pour un homme que pour une femme	3,57 (2,22-5,96)	<0.0001	Trois fois plus élevée pour un homme que pour une femme
Lieu de vie									
Contrôle	Référence			Référence			Référence		
Eloigné des bordures de forêt	3,08 (1,67-6,12)	0.00062	Significativement plus élevée pour une personne vivant en bordure de forêt	1,71 (0,99-3,50)	0.120771	Non significatif	6,53 (2,28-27,73)	0.00235	Six fois plus élevée pour une personne vivant en bordure de forêts
Tribu									
Mutooro	Référence			Référence			Référence		
Kiga	1,01 (0,69-1,46)	0,97134	Non significatif	1,67 (1,05-2,07)		Significativement plus élevée pour un Mutooro que pour un Mukiga	1,93 (1,18-3,13)	0.00781	Significativement plus élevée pour un Mukiga que pour un Mutooro
Profession									
Fermier	Référence			Référence			Référence		
Sans profession	4,54 (2,50-9,09)	<0.0001	Significativement plus élevée pour un fermier que pour une personne sans profession	5,46 (2,7-12,38)		Significativement plus élevée pour un fermier que pour une personne sans profession	3,33 (1,45-0,69)		Significativement plus élevée pour un fermier que pour une personne sans profession

OR : Odd Ratio, p : , IC95% : intervalle de confiance à 95%

Au bilan, selon l'âge, l'Homme n'a pas la même probabilité de rentrer en contact avec un animal sauvage. Cette probabilité augmenterait avec l'âge, l'Odd ratio augmentant de 2 % par année supplémentaire. Les hommes auraient significativement plus de risques de rentrer en contact avec un animal sauvage, la fréquence de contact avec un primate serait trois fois plus élevée que pour une femme, du fait des activités qui leurs sont assignées (chasse par exemple), et plus de risque de se blesser. Le risque qu'un fermier entre en contact avec un animal sauvage et se blesse serait également significativement plus élevé que pour une personne sans profession. Aucune hypothèse n'a cependant été émise pour expliquer cela. Paige *et al.* (2014) estiment que des contacts à risque peuvent avoir lieu alors même que la chasse de viande de brousse n'est pas l'activité majeure en cause. L'appartenance culturelle serait également une variable à prendre en compte. D'après cette étude, certaines tribus, notamment les Kiga, auraient plus de probabilités que d'autres de rentrer en contact avec des primates que les Mutooro, alors même qu'il semblerait que ces derniers se blesseraient significativement plus fréquemment. D'après Paige *et al.* ces résultats reflètent les différences culturelles et de mode de vie de ces groupes sans en préciser la nature. La pauvreté et les guerres civiles augmenteraient également le risque de contact avec des animaux sauvages (Bausch et Schwarz, 2014). Enfin, le lieu de vie, en lisière de forêt ou non, interviendrait aussi en réduisant la distance avec la faune sauvage. A titre d'exemple, un homme vivant près des forêts serait plus à risque d'entrer en contact avec un primate, en particulier s'il est de la tribu Kiga. Le contexte culturel mais aussi socio-économique sont donc à prendre en compte dans le risque de contact homme-animal et de transmission zoonotique (Paige *et al.*, 2014).

5. Impact de l'évolution démographique et des mouvements de populations

Depuis les quarante dernières années, la population africaine vivant dans les pays prédicts comme à risque de transmission zoonotique a triplé, passant de 230 à 639 millions. De plus, alors que 25,5 % de la population vivait dans les zones urbaines il y a quelques décennies, elle est désormais de 59,2 %. Bien qu'aucune information concernant les degrés et moyens de communication et de circulation des populations à l'époque ne soit disponible, il est légitime de penser que ces derniers ont fortement augmenté à l'image de la densité des populations (Pigott *et al.*, 2014). La circulation des personnes favoriserait la diffusion transfrontalière et internationale de maladies (Desenclos et Calavas, 2015).

En outre, les moyens de déplacement aériens se sont énormément développés. Au total, le nombre de passagers a triplé, passant de 9,5 à 14 millions de 2005 à 2012. En 2012, la moitié des voyages provenant de pays « à risques » avaient comme destination d'autre pays d'Afrique (Pigott *et al.*, 2014).

La population africaine est donc désormais plus mobile et plus connectée et sa densité a explosé. Cette connectivité et ce développement démographique auraient pu

faciliter la propagation d'épidémies, en particulier dans les zones avec peu d'infrastructures médicales (Pigott *et al.*, 2014). C'est ce qui s'est sans doute produit lors de l'épidémie de 2013 en Afrique de l'Ouest où la propagation du virus a été rapide et s'est étendue à plusieurs pays du fait des mouvements de populations. Le virus Ebola est pour la première fois devenu un problème international avec l'entrée de personnes infectées dans des pays plus développés et le risque potentiel d'expansion de l'épidémie dans ces pays par transmission interhumaine secondaire.

Partie 3 : Gestion du risque zoonotique lié aux virus de la maladie d’Ebola

I- Gestion du risque sur le continent africain

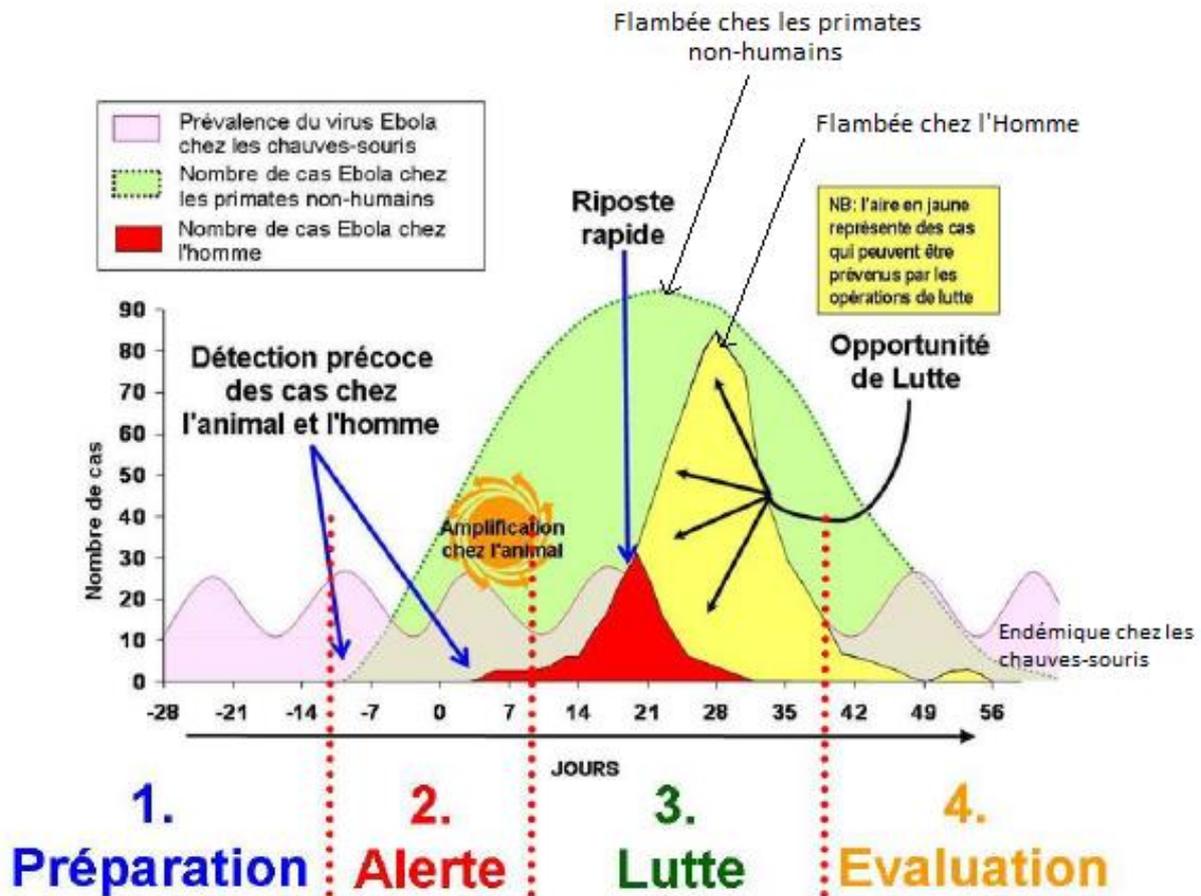
Comme indiqué dans l’introduction, la maladie à virus Ebola peut être qualifiée de maladie émergente. Son émergence résulte des interactions entre l’agent, l’hôte et l’environnement, dans un contexte de changement climatique modifiant les écosystèmes. Dans le cas d’une maladie qui est ensuite aisément transmissible d’Homme à Homme, cette émergence est considérablement amplifiée par l’augmentation démographique, l’urbanisation, et l’accroissement de la circulation des biens et des personnes. L’émergence d’une maladie se déroule selon trois phases : l’introduction de l’agent infectieux dans une population, sa diffusion et sa pérennisation au sein de celle-ci. Ainsi, il serait plus facile de contrôler une infection au stade de son introduction qu’au stade de sa diffusion ou de sa pérennisation. La lutte contre les maladies émergentes devrait donc se baser essentiellement sur le développement de dispositifs de veille et de réponse au stade d’introduction. Il s’agit d’essayer d’enrayer la maladie avant que celle-ci ne diffuse (Desenclos et Calavas, 2015).

Le plan général de lutte lors d’épidémie à virus Ebola sur le continent africain est présenté ci-dessous. N’étant pas le sujet de cette thèse, la prise en charge médicale des patients et des populations ainsi que les aspects logistiques et économiques de la gestion de cette crise ne seront pas détaillés. Les aspects zoonotiques sont en revanche traités, notamment la gestion des rapports entre l’homme et la faune sauvage au cours des épidémies connues.

1. Plan général de lutte

L’infection par le virus Ebola chez les animaux précède obligatoirement toute épidémie chez l’Homme, qu’il s’agisse en particulier de l’infection des chauves-souris chez lesquelles l’infection est supposée enzootique et asymptomatique, ou de l’infection des primates non humains avec un accroissement brutal de la mortalité. La stratégie générale actuelle, consiste à agir sur quatre périodes : la période pré épidémique de préparation, la période d’alerte, la période épidémique et la période d’évaluation post épidémique (Figure 38) (OIE, 2014).

Figure 38 : Les quatre périodes de la stratégie de prévention et de lutte concernant les épidémies de maladie à virus Ebola ou de Marburg (OIE, 2014)



1.1. Actions menées en amont de l'épidémie

Les actions concernent plus précisément les mesures de préparation et de prévention *via* des systèmes de surveillance²¹ et de veille²² efficaces. En particulier, la surveillance des mortalités animales, notamment des PNH (et éventuellement d'autres mammifères non volants), permet une détection précoce de ces cas animaux et la mise en place d'une réponse anticipée adéquate. Cependant, La surveillance de l'infection des populations de chiroptères qui n'est que peu, voire pas réalisée actuellement, serait à préconiser. En effet, la détection virale chez les colonies de chiroptère pourrait permettre d'identifier les colonies porteuses du virus ainsi que les zones à risque de transmission de façon encore plus précoce.

²¹ La surveillance est le « processus de collecte systématique, organisé et continu de données de santé ainsi que leur analyse, interprétation et dissémination dans une perspective d'aide à la décision et d'évaluation » (Dabis et Desenclos, 2012).

²² La veille est la « collecte, l'analyse et l'interprétation en continu par les structures de santé publique des signaux pouvant représenter un risque pour la santé publique dans une perspective d'anticipation, d'alerte et d'action précoce » (Dabis et Desenclos, 2012).

En identifiant les autres colonies animales vivant dans la même zone, en particulier les PNH, des mesures pour limiter leur infection *via* les chiroptères pourraient même être potentiellement initiées. Au bilan, la surveillance de l'infection des populations animales n'est pas suffisante pour permettre à la fois d'anticiper l'émergence du virus au sein des populations humaines, ce qui reste l'objectif final, mais aussi pour protéger des populations animales, les PNH, dont la survie est déjà fortement menacée ailleurs, ce dernier objectif étant sans doute pour une grande part idéaliste (OIE, 2014 ; Desenclos et Calavas, 2015).

Il convient également, lors de cette phase, d'établir et de renforcer les liens de collaboration entre les différents acteurs, à savoir les services de santé humaine, les services sanitaires de la faune sauvage et l'état (ministère santé, ministère de l'élevage et ministère de l'environnement) (OIE, 2014).

1.2. Alerte et lutte en phase d'épidémie

Si un cas suspect est détecté, une enquête épidémiologique et des prélèvements sont réalisés pour évaluer les risques et confirmer ou infirmer la suspicion (OIE, 2014).

En cas de confirmation de l'infection par le virus Ebola, l'OMS et les services de santé publique sont informés et un ensemble d'actions de lutte sont mises en place le plus rapidement possible afin de limiter l'épidémie (OIE, 2014), avec :

- Une enquête épidémiologique et des prélèvements afin d'identifier l'origine de l'infection, le cas index et retracer l'ensemble des contacts ayant eu lieu entre des personnes infectées, entre des personnes saines et infectées ou entre des personnes et des animaux sauvages ou domestiques ;
- Un programme de prise en charge des patients et de la population sur le plan clinique que psychosocial et éthique ;
- Un programme de sensibilisation et de communication de la population ;
- Des mesures pour limiter la transmission inter humaine ;
- Des mesures de gestion de l'environnement et des contacts avec la faune sauvage ou domestique.

1.3. Evaluation et réflexion post épidémique

Lorsque l'épidémie est contrôlée voire terminée, les systèmes de surveillance pré épidémique sont remis en place et une évaluation de la gestion de l'épidémie est rédigée et archivée afin d'identifier les erreurs commises et d'améliorer le processus de lutte (OIE, 2014). La gestion du risque lié à la faune sauvage et domestique est explicitée plus en détail dans les parties suivantes.

2. Gestion du risque lié à la faune sauvage

La gestion de l'épidémie de 2013-2016 a comporté la gestion des cas humains, non détaillée car n'étant pas le sujet de cette thèse, mais également un dialogue entre les différents acteurs et la gestion des contacts et des activités en lien de près ou de loin avec la faune sauvage africaine. Il s'est notamment agi de la limitation des activités pouvant mener à des contacts avec la faune sauvage, du monitoring des populations de faune sauvage, de la régulation du trafic de viande de brousse, de la sensibilisation de la population et de la protection des écosystèmes forestiers africains.

2.1. Prévenir et limiter les contacts avec la faune sauvage

L'OIE conseille d'éviter au maximum les contacts avec les animaux sauvages comme les chauves-souris, les rongeurs et les primates non humains. En particulier, il faut éviter de toucher les animaux trouvés morts ou malades en forêt. En cas de contact, des mesures d'hygiène de base doivent être appliquées (lavage et désinfection des mains) (Gumusova *et al.*, 2015 ; OIE, 2015).

Si l'Homme est amené *via* son travail ou ses activités (recherche, tourisme), à être au contact de chauves-souris comme par exemple dans les mines ou les grottes, il doit porter des équipements de protection adéquats (gants, masques...). De la même façon, le port de gants et de vêtements de protection est nécessaire en cas de manipulation d'animaux sauvages ou de leurs fluides biologiques lors d'abattage (Gumusova *et al.*, 2015 ; OIE, 2015).

La chasse et la consommation d'espèces réceptives et/ou sensibles dans les pays affectés par Ebola devraient être évitées. Malgré tout, en cas de consommation de viande de brousse, celle-ci doit être bien cuite pour inactiver le virus (Gumusova *et al.*, 2015 ; OIE, 2015).

2.2. Surveiller la mortalité de la faune sauvage

L'OIE et la FAO soulignent l'importance de surveiller la mortalité de la faune sauvage. Il a en effet été observé que les flambées animales affectant des PNH précèdent souvent les flambées humaines, d'où l'intérêt d'une collaboration entre les systèmes de surveillance de la faune sauvage des parcs nationaux. Ceci pourrait permettre une alerte rapide et efficace des autorités de santé publique lors de toute mort animale non attendue, ainsi que la mise en place de programmes de prévention et d'actions visant à diminuer les risques d'émergence au sein de la population humaine (OIE, 2014 ; FAO 2015). Cela limiterait également la propagation de la maladie. La surveillance de la faune sauvage passe par la mise en place d'un système de surveillance et d'un dialogue entre les responsables de la faune sauvage, la création de structures et d'une banque de données centralisant les

suspensions, la sensibilisation des populations rurales afin qu'elles rendent compte elles-mêmes aux services de santé publique des cas suspects qu'elles ont observés (animaux trouvés morts en forêt) et la création d'équipes mobiles ayant pour mission d'aller vérifier les rumeurs et suspicions rapportées par la population (déplacement sur le terrain, échantillonnage...). Il convient enfin de surveiller, en parallèle, dans les zones à risque, les maladies chez les chasseurs (OIE, 2014).

2.3. Régulation et contrôle des activités liées à la viande de brousse

La transmission du virus Ebola se fait essentiellement par contact avec des fluides biologiques d'individus ou d'animaux infectés. La manipulation des carcasses est donc un facteur de risque très important de transmission. Les activités relatives au commerce de viande de brousse (chasse, manipulation de carcasse, dépeçage, cuisine etc...) comportent par conséquent un haut risque de transmission du virus. De ce constat est née la nécessité de renforcer les contrôles et la législation concernant la chasse et la commercialisation de la viande de brousse ainsi que de l'éducation et la sensibilisation de la population *via* des campagnes, ainsi que de la proposition d'alternatives à cette chasse et ce commerce, afin de limiter la propagation du virus en Afrique (FAO, 2015).

2.3.1. Renforcement des contrôles et de la législation

La législation concernant la viande de brousse est quasi inexistante dans la plupart des pays en voie de développement et très peu efficace quand elle est présente (Mickleburgh *et al.*, 2009). Face à la rapide propagation de l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013-2016, certaines activités liées à la viande de brousse ont été interdites notamment dans les pays infectés comme la Sierra Leone, la Guinée et le Liberia. En Côte d'Ivoire, les restaurants ont été interdits de vente de viande de brousse et des contrôles ont été mis en place au cours desquels chaque produit saisi a été détruit (FAO, 2015). Le recrutement de chasseurs comme éco gardes s'est révélé efficace dans la lutte contre la chasse et la commercialisation de viande de brousse ainsi que la mise en place de barrages routiers, de patrouilles mobiles et d'inspections des marchés de viande de brousse (IUCN, 2015). Une réelle prise de conscience de la part de certains états d'Afrique Centrale a été constatée avec, par exemple, la création d'une brigade anti-braconnage spécialisée au Gabon et le déploiement de 600 soldats d'élite, au Cameroun, pour bloquer les voies d'accès utilisées par les trafiquants (CDB, 2011 ; Ministère de l'Ecologie, du Développement durable et de l'Energie, 2013). Certains chasseurs n'ayant aucune difficulté à se déplacer et à vendre leurs produits dans un autre pays, une collaboration entre pays a également été envisagée afin d'augmenter la surveillance des frontières et en réduire la perméabilité (IUCN, 2015).

Cependant, l'intensification des contrôles et la mise en place d'interdictions n'ont pas enrayeré la pratique de la chasse de brousse et la commercialisation de viande de brousse. En

effet, les scientifiques ont pu constater qu'une interdiction totale de consommation et de la commercialisation de viande de brousse en Afrique ne pouvait être efficace et pérenne du fait de la consommation répandue de cette viande en Afrique, qui constitue un des apports protéiques majeurs, notamment en zone rurale. L'OIE a notamment déclaré que « la lutte contre l'émergence de virus venus de la forêt, passe par une amélioration des conditions de vie et d'accès à la santé des populations riveraines et pas seulement par une interdiction théorique de chasse souvent délibérément ignorée par ceux-là même qui en ont la charge. » (OIE, 2014).

Des alternatives à la viande de brousse ont été proposées afin d'en réduire le commerce (FAO, 2015).

2.3.2. Proposition d'alternatives au commerce de viande de brousse

Des alternatives au commerce de viande de brousse commencent à être mises en avant. Il est notamment possible de citer l'élevage d'insectes comme les criquets, de poissons et d'aulacodes²³ (« Bushmeat, protein and Ebola », 2014 ; Mossoun *et al.*, 2015) mais également la promotion d'élevages d'espèces domestiques comme le porc ou la poule (FAO, 2015).

Les insectes présenteraient des meilleures qualités nutritionnelles que les protéines d'animaux vertébrés et leur élevage s'avèrerait plus écologique. De plus, plusieurs variétés d'insectes sont déjà consommées dans plusieurs communautés d'Afrique de l'Ouest. Leur élevage présente donc un potentiel intéressant (« Bushmeat, protein and Ebola », 2014).

L'alternative la plus rentable et au plus fort potentiel serait la substitution de la viande de brousse par de la viande d'aulacodes ou « rats des roseaux » (genre *Thryonomys*), animal initialement sauvage mais dont l'élevage est apparu dans les années 80 et ne cesse de s'accroître (« Bushmeat, protein and Ebola », 2014 ; FAO, 2015). Il s'agit d'une espèce de petit gabarit dont l'élevage nécessite peu de ressources (peu de temps, peu d'espace, peu de nourriture) et donc accessible même aux plus pauvres. Il s'agit de plus d'une viande prisée dans la région, avec plus de 80 millions d'animaux tués par an. La demande est donc importante et l'activité lucrative puisque certains éleveurs peuvent gagner jusqu'à 1400 dollars par an. L'élevage d'aulacodes est important au Bénin et au Ghana (« Bushmeat, protein and Ebola », 2014 ; McNamara *et al.*, 2015).

Ces idées d'élevages, bien qu'émergentes, pourraient s'avérer être une bonne alternative à la commercialisation de viande de brousse, ou, en tout cas, en réduire l'activité, dans l'hypothèse que les espèces impliquées ne soient pas sensibles au virus Ebola. Elles nécessitent par ailleurs un travail d'information et de mise en place d'une réglementation adéquate.

²³ Gros rongeur de la famille des *Thryomyidae* en cours de domestication en Afrique

Finalement, un travail de communication et de prévention à destination de la population concernant la maladie à virus Ebola et sa transmission *via* la consommation de viande de brousse s'avère indispensable pour rendre les mesures de gestion réellement efficaces et pérennes (FAO, 2015).

2.4. Communication et sensibilisation de la population

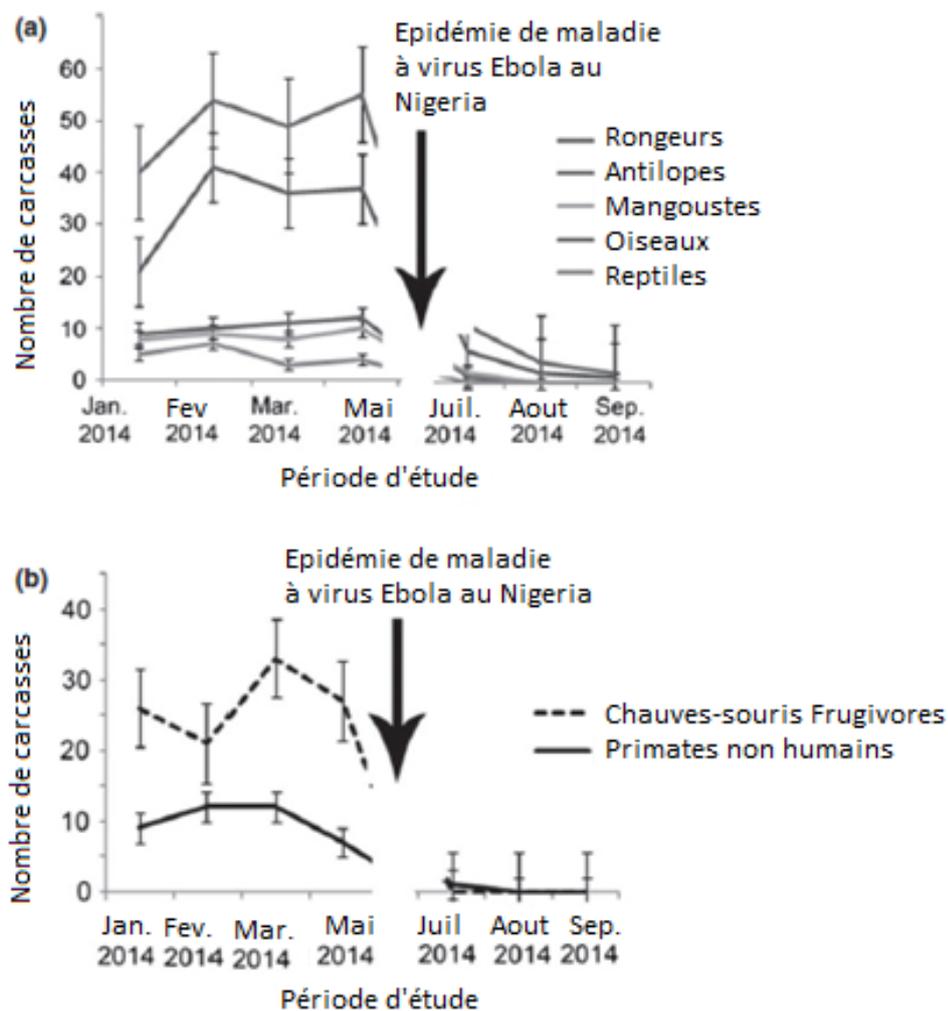
Une des composantes principales de la gestion des épidémies de maladie à virus Ebola, en particulier lors l'épidémie de 2013-2016, a été l'information de la population sur la maladie en question, les modes de transmission, les comportements à risque et les mesures de prévention et de protection. Des rencontres avec les communautés des zones à risque ont été organisées ainsi qu'une « mobilisation sociale pour favoriser l'adoption de pratiques prévenant infection et prévention ». L'OIE a, dans ses messages de prévention, ciblé les communautés de chasseurs et les populations rurales et forestières, à risque de par leur proximité avec la faune sauvage. Ainsi, elle conseille de ne pas toucher les animaux trouvés morts en forêt, de signaler toute mort aux services de parc nationaux et de respecter des mesures d'hygiène de base et de protection lors de contact avec des carcasses (OIE, 2014).

Concernant, la pratique de la chasse, les types de protection utilisés par les chasseurs et leur efficacité demeurent inconnues et donc difficilement évaluables. De plus, il n'existe que très peu de données concernant la perception par les populations des risques pour leur santé associés à la chasse et à la consommation de viande de brousse (Wolfe *et al.*, 2005). Des conseils ont été émis afin de convaincre la population de ne pas chasser, abattre, vendre, préparer et consommer de la viande de gorille, chimpanzé ou antilope ainsi que de tout animal trouvé mort, à travers des programmes d'éducation et d'information (FAO, 2015).

Une campagne de sensibilisation sur la maladie à virus Ebola a été réalisée auprès de la population dans de nombreux pays affectés par l'épidémie comme le Libéria, la Sierra Leone, la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Togo, le Bénin et le Nigéria. Elle a principalement consisté à transmettre des informations *via* les médias (radio, télévision et journaux) ainsi qu'en allant directement au contact de la population (pratique du porte à porte par exemple). Une étude a été menée au Nigéria pour connaître l'impact de cette campagne sur la population et sur le commerce de viande de brousse. D'après les auteurs, celle-ci a eu un effet conséquent sur le trafic de viande de brousse dans la région du Delta du Niger, région atteinte par le virus où les taux de trafic de viande de brousse sont les plus élevés. Le nombre de carcasses sur neuf marchés a été relevé avant et après la propagation du virus au Nigéria en 2014 (Akani *et al.*, 2015 ; « How an Ebola campaign in Nigeria discouraged bushmeat consumption », s. d.). L'étude montre qu'une diminution du nombre de carcasses sur les marchés a été observée pour tous les types d'animaux (antilopes, singes, rongeurs, mangoustes, porc-épic, oiseaux, reptiles etc...), qu'elle ait été directement liée ou non à la propagation du virus après l'apparition de l'épidémie de virus Ebola et aux campagnes de sensibilisation en découlant (Figure 39).

Figure 39 : Nombre de carcasses commercialisées sur 9 marchés de viande de brousse au sud du Nigéria avant et après l'épidémie de maladie à virus Ebola ayant sévi au Nigéria en 2014
(Akani *et al.*, 2015)

Le graphique (a) inclut des espèces non connues comme directement reliées à la propagation virale. Le graphique (b) inclut les primates non humains et les chauves-souris frugivores, considérés comme des espèces directement reliées à la propagation du virus.



En particulier, le commerce de viande de brousse de singes et de chauves-souris frugivores aurait presque disparu. Le commerce des reptiles aurait été moins affecté. Les résultats de cette étude ont été obtenus par le biais d'entretiens avec des marchands et des consommateurs. La campagne de sensibilisation menée par le gouvernement aurait donc été efficace. Cette étude incite à penser que la viande de brousse, bien que culturellement importante, ne serait pas indispensable à la population rurale d'Afrique de l'Ouest, la population ayant été découragée suite à la campagne médiatique. Néanmoins, Il serait

légitime de penser que les vendeurs et acteurs du trafic de viande de brousse auraient pu vouloir « cacher » leur activité après la campagne, cette dernière étant vue comme « illégale ou indésirable ». Bien que cet argument ait été invalidé par les auteurs, considérant la confiance qu'ils avaient dans leur relation de long terme établie avec leurs informateurs et la fait qu'aucune interdiction « légale » n'ait été formulée, il n'est malgré tout pas à écarter complètement (Akani *et al.*, 2015).

Qu'en est-il depuis la déclaration de la fin de l'épidémie ? Selon certains auteurs, le commerce de viande de brousse aurait de nouveau augmenté après la fin de l'épidémie, notamment à Lagos. Des vendeurs et marchands de viande de brousse affirmeraient que les consommateurs seraient de retour après avoir dénigré la viande de brousse lors de l'épidémie. Certains marchands en étaient venus à arrêter ce métier et à se reconvertir mais seraient revenus sur le marché récemment. Certains restaurants feraient même de nouveau appel à eux (« Ebola: Bush meat business booms in Lagos », s. d.).

Il serait finalement intéressant d'étendre cette étude à d'autres pays d'Afrique de l'Ouest pour évaluer l'efficacité des campagnes de sensibilisation avant et après l'épidémie de 2013-2016.

2.5. Protection des écosystèmes forestiers

Trois menaces principales pèsent sur les écosystèmes forestiers africains : le braconnage, les maladies, notamment la maladie à virus Ebola, et la disparition de l'habitat par l'exploitation forestière, l'agriculture industrielle et l'exploitation minière (IUCN, 2015). Il a été vu que la destruction de l'habitat de la faune sauvage et en particulier la déforestation est un facteur de risque de contact entre l'homme et la faune sauvage et de transmission du virus Ebola. La protection des écosystèmes forestiers africains serait donc à mettre au premier plan afin de limiter les risques de contact entre l'Homme et la faune sauvage et ainsi les risques de transmission virale. Par exemple en Asie du Sud-Est, certaines espèces de roussettes ont migré plus près de certaines fermes porcines qui ont alors été infectées par le virus Nipah par contact avec les fluides biologiques de ces chiroptères. Il est légitime de penser que des événements similaires pourraient se produire pour le virus Ebola (« If Natural Ecosystems Aren't Better Protected, Deadly Diseases Like Ebola Will Spread », s. d.).

Il existe des régions d'Afrique où la forêt a conservé une partie de son intégrité. C'est le cas du Liberia (Covey et McGraw, 2014). Même si le taux de déforestation en Afrique inquiète, il reste plus faible comparé à certains pays d'Asie du Sud-Est comme la Malaisie ou l'Indonésie (IUCN, 2015). Cependant, cet habitat est très menacé en particulier par l'expansion des plantations d'huile de palme, largement répandues en Asie du Sud-Est et qui commencent à se développer au Liberia, d'où l'urgence de l'établissement de programmes de conservation de cet habitat, d'autant plus qu'il a été vu que certaines chauves-souris étaient attirées par les plantations d'huile de palme, favorisant la probabilité de contact avec d'autres animaux (Covey et McGraw, 2014 ; Akani *et al.*, 2015 ; Mann *et al.*, 2015).

Sur le long terme, la protection des écosystèmes africains passe par la conservation de zones forestières intactes en limitant et en régulant l'activité humaine avec une exploitation raisonnée des ressources (IUCN, 2015). De nombreux pays africains, avec l'aide de la communauté internationale, ont mis en place des plans de protection de leurs écosystèmes. Ainsi, les pays du Bassin du Congo ont créé des espaces protégés comptant 35 parcs nationaux. Le bassin du Congo possède la plus grande réserve d'Afrique Centrale dont la protection est assurée par le financement de l'Union Européenne. Une épidémie de maladie à virus Ebola ayant eu lieu en 2003 a décimé plus de 500 individus de la population de gorilles et de chimpanzés de la réserve. Les pays du Bassin du Congo se sont associés avec de nombreux acteurs internationaux dont les membres du G8, la FAO et des ONG internationales pour le financement et la mise en place d'actions de protection de son secteur forestier à travers le Partenariat pour les Forêts du Bassin du Congo (PFBC) (« IRIN | Bassin du Congo : un réservoir de biodiversité menacé de disparition », s. d., « Le Partenariat - PFBC », s. d.). De la même manière, l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (IUCN) a également établi des zones à protéger et un plan d'action sur dix ans afin de protéger les gorilles, en danger imminent d'extinction, et les chimpanzés. Les zones protégées par l'IUCN comprennent en particulier la région du nord-est du Gabon à l'ouest du Congo dans laquelle 90% des PNH ont disparu suite aux différentes flambées de maladie à virus Ebola entre 1990-2005, alors que la densité de grands singes avant l'épidémie étant moyenne à élevée. Ces territoires sont qualifiés de territoires de « rétablissement après Ebola ». Leur surface est suffisante pour accueillir plusieurs milliers de PNH et elles comprennent des zones déjà protégées. Bien qu'il semble quasi impossible d'éviter une épizootie de maladie à virus Ebola au sein des populations de PNH, une amélioration des connaissances sur le virus et la surveillance des populations animales notamment des chiroptères, des PNH et d'autres mammifères jouant le rôle d'hôtes relais (rongeurs, céphalophe), pourraient permettre de limiter son impact et d'éviter une transmission zoonotique ou *a minima* de la limiter (IUCN, 2015).

Les principales actions mises en place pour garantir la survie des grands singes et réduire les menaces pesant sur les écosystèmes africains sont variées. L'aménagement des territoires doit être contrôlé, raisonné et couplé à une sensibilisation de la population, en particulier concernant la transmission des agents de maladies entre l'Homme et les grands singes. L'accès de l'Homme à des zones forestières reculées doit être limité. Un aspect important de la gestion de l'environnement est l'application des lois et le renforcement des sanctions et du suivi judiciaire (IUCN, 2015). Afin de déterminer les territoires prioritaires en terme de protection, il convient de réaliser l'inventaire des populations animales présentes, notamment les primates non humains, évaluer leur abondance et leur répartition, estimer l'importance du site pour la conversation en terme de diversité, d'intégrité biologique et des menaces encourues (Covey et McGraw, 2014 ; IUCN, 2015). Plusieurs moyens peuvent être utilisés pour cela comme les techniques de modélisation ou des techniques de surveillance. Au Nigéria, la surveillance de la faune sauvage implique la réalisation de reportages sur sa présence dans les zones occupées par

l'Homme comme les zones minières, les zones de construction, de chasse et d'écotourisme, afin d'identifier les facteurs de risque de contact et les besoins d'agrandissement des zones protégées (réserves, parc nationaux...) (Egbetade *et al.*, 2015). Le soutien des populations locales est nécessaire pour garantir une surveillance et une protection optimales des régions à préserver. La mise en place de zones protégées et le renforcement des lois doivent permettre à la population de tirer des bénéfices de la préservation des forêts et de la faune sauvage (emplois, éducation...) (Covey et McGraw, 2014). Ceci est d'autant plus important que la chasse de viande de brousse exercerait une pression sur les réserves dans lesquelles la faune sauvage se concentre (McNamara *et al.*, 2015). Pour assurer la pérennité d'une telle protection, des réglementations concernant la chasse de viande de brousse et des contrôles périodiques doivent être mises en place pour vérifier le respect des restrictions liées à la création de zones protégées (Egbetade *et al.*, 2015).

3. Gestion du risque lié à la faune domestique

3.1. Gestion du risque lié aux porcs domestiques

Compte tenu de la réceptivité des porcs à RESV et EBOV et de leur sensibilité à EBOV, ces animaux représentent un facteur de risque potentiel non négligeable de transmission du virus pour l'homme. Des mesures ont été mises en place dans les pays d'Afrique de l'Ouest et Centrale touchés par l'épidémie de 2013 afin d'éviter une amplification de l'infection par les porcs et de limiter le risque de transmission zoonotique directe et indirecte, une contamination *via* de la viande de porc étant envisageable (Marsh *et al.*, 2011 ; OIE, 2014 ; Osterholm *et al.*, 2015).

Tout d'abord, un système de surveillance clinique (voire sérologique) des porcheries a été instauré afin de détecter rapidement toute circulation du virus dans les fermes et déclarer tout cas confirmé aux autorités. En cas de confirmation de l'infection dans l'élevage, la mise en place des mesures sanitaires suivantes est nécessaire (OIE, 2014) :

- « Abattage des animaux porteurs et la destruction des carcasses ;
- Compensation financière des éleveurs pour le manque à gagner ;
- Restriction et réglementation des déplacements de cochons domestiques venant des zones infectées ;
- Mise en quarantaine des fermes ;
- Toutes mesures recommandées par les réglementations internationales.»

Il s'agit également de limiter les mouvements des porcs et en particulier les possibilités de contacts avec la faune sauvage potentiellement porteuse du virus et plus spécifiquement les porcs sauvages et les chauves-souris. Une attention particulière a été portée sur les flux de sortie et d'entrée ainsi que sur les mesures de biosécurité permettant d'éviter l'introduction du virus à partir des chauves-souris. Par exemple il serait possible

d'«interdire les arbres fruitiers dans les fermes et jusqu'à 50 mètres autour de la ferme » (OIE, 2014).

Des mesures de prévention doivent également être établies pour éviter la transmission directe de l'infection du porc à l'Homme. L'OIE conseille d'éviter le contact direct avec le sang et les organes provenant d'animaux malades, morts ou infectés, ou le cas échéant, le port d'équipements de protection (gants, masque, lunettes) en particulier lors de mise bas, d'égorgeage, d'abattage, d'autopsie ou d'enterrement des cadavres. Après contact avec des fluides biologiques, un lavage des mains est obligatoire (OIE, 2014). Le contact entre des humains susceptibles d'excréter le virus et des porcs doit également être proscrit (Atherstone *et al.*, 2015).

Concernant le système de production alimentaire, celui-ci doit être renforcé en cas d'épidémie. La viande de porc malade ne doit pas être commercialisée. Il faut donc vérifier que ces derniers n'entrent pas dans la chaîne alimentaire et contrôler les abattages. En cas de consommation de viande, celle-ci doit être bien cuite (OIE, 2014).

Enfin, un travail de collaboration est nécessaire entre « les équipes d'intervention en santé publique et en santé animale, les professionnels de l'élevage porcin, les commerçants de la filière bouchère et les exportateurs pour améliorer leur compréhension des risques de diffusion de la maladie liés au déplacement des animaux et accroître leur participation aux activités de prévention » (OIE, 2014).

3.2. Gestion du risque lié aux carnivores domestiques

Bien qu'à l'heure actuelle la sensibilité des carnivores domestiques et leur rôle dans la transmission zoonotique du virus Ebola n'aient pas été prouvés, une telle possibilité n'est pas à exclure (ANSES, 2014 ; EFSA 2014 ; Roger *et al.*, 2016). En dépit du fait qu'aucune mesure concrète n'ait été prise à ce jour sur le continent africain concernant la gestion des contacts avec les animaux domestiques et compte tenu de la grande proximité des chiens et de l'Homme, il serait légitime d'élaborer des préconisations afin de limiter une éventuelle transmission zoonotique. Il s'agirait de mettre en place des mesures lors des épidémies pour limiter les contacts entre le chien et les personnes infectées ou leurs fluides biologiques, ainsi que des mesures pour limiter les contacts entre le chien et la faune sauvage (animaux vivants, carcasses et abats issus de la chasse). Ceci pourrait s'avérer difficile dans ces régions d'Afrique où les chiens sont des animaux d'utilité semi-errants plus que des animaux véritablement domestiques.

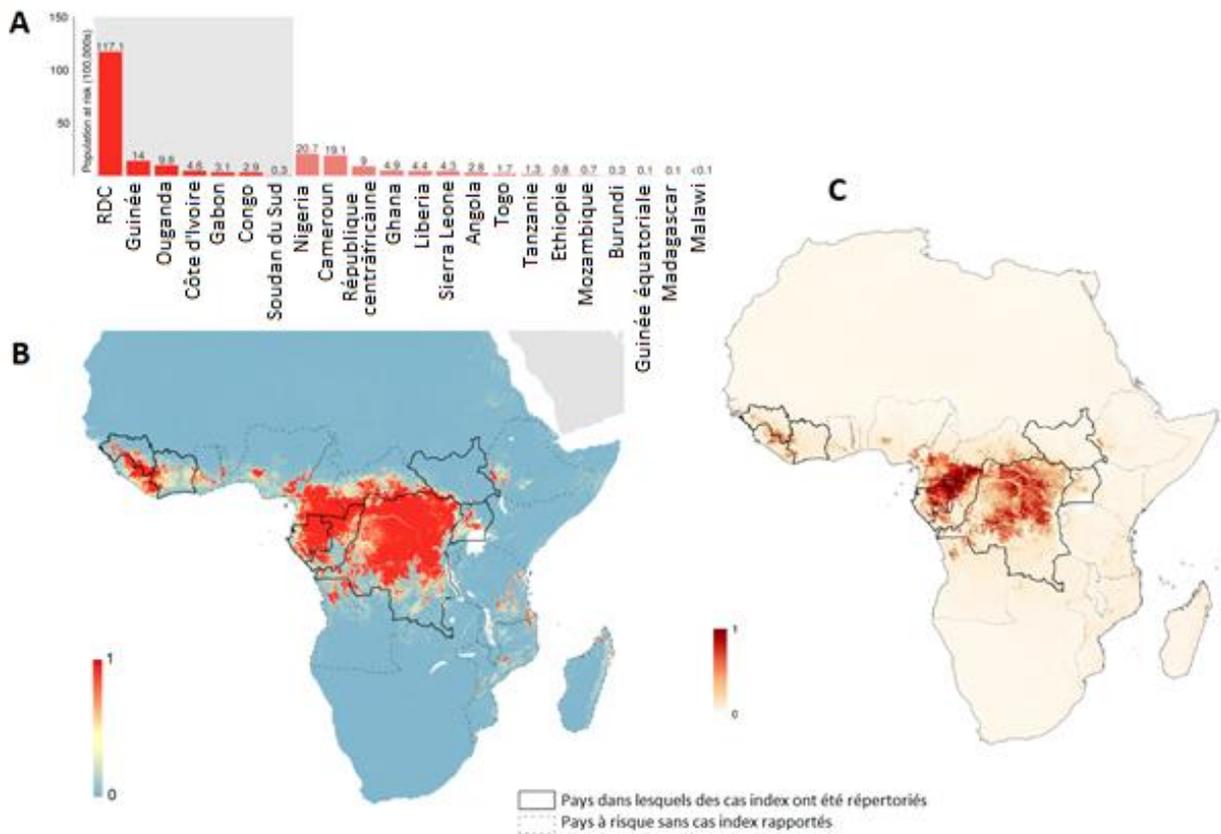
L'objectif aujourd'hui est de mener plus d'études de terrain et de laboratoire afin d'évaluer le rôle du chien dans le cycle viral et la transmission du virus à l'Homme.

4. Modèle de répartition géographique du virus Ebola : Prévission de la transmission zoonotique

Pigott *et al.* ont été les premiers à tenter de modéliser les risques de transmission zoonotique. Leur objectif était de prédire les lieux en Afrique où des animaux sauvages étaient susceptibles d'héberger le virus et où la transmission du virus des animaux aux hommes était possible (Pigott *et al.*, 2014). Une première étude, réalisée en 2004 a établi une carte de répartition supposée des *Filoviridae* (Peterson *et al.*, 2004a). Pigott *et al.* (2014) se sont inspirés de cette carte de répartition pour mettre au point une carte de modélisation des régions les plus propices à une transmission zoonotique et donc d'apparition d'une nouvelle épidémie. Ils ont par ailleurs amélioré cette carte en 2016 (Figure 40). Son établissement a pris en compte les informations relatives à l'épidémie de 2013 en Afrique de l'Ouest, des données concernant des flambées parmi les populations de PNH et les trois espèces de chauves-souris supposées être les réservoirs du virus (*Hypsignathus monstrosus*, *Myonycteris torquata* et *Epomops franqueti*) ainsi que leur répartition (Figure 16) (Pigott *et al.*, 2014).

Figure 40 : Cartes de modélisation de la transmission zoonotique du virus Ebola en Afrique (Pigott *et al.*, 2016, 2014)

(A) Population vivant dans les régions à risque de transmission zoonotique. Le rectangle gris met en avant les pays où des cas index de la maladie à virus Ebola ont été rapportés ; les autres correspondent aux pays à risque de transmission zoonotique mais où aucun cas index n'a été répertorié. Ces pays sont classés par population à risque décroissant. La population à risque est donnée en centaines de milliers au-dessus de chaque barre (Pigott *et al.*, 2014). (B) et (C) Cartes de modélisation de la distribution zoonotique du virus Ebola établies respectivement en 2014 et en 2016. L'échelle reflète la probabilité relative qu'une transmission zoonotique ait lieu dans ces régions. Les régions proches de 1 (rouge) sont les régions dans lesquelles il y a plus de chances qu'une transmission zoonotique ait lieu que dans les régions proches de 0 (bleu ou jaune clair).



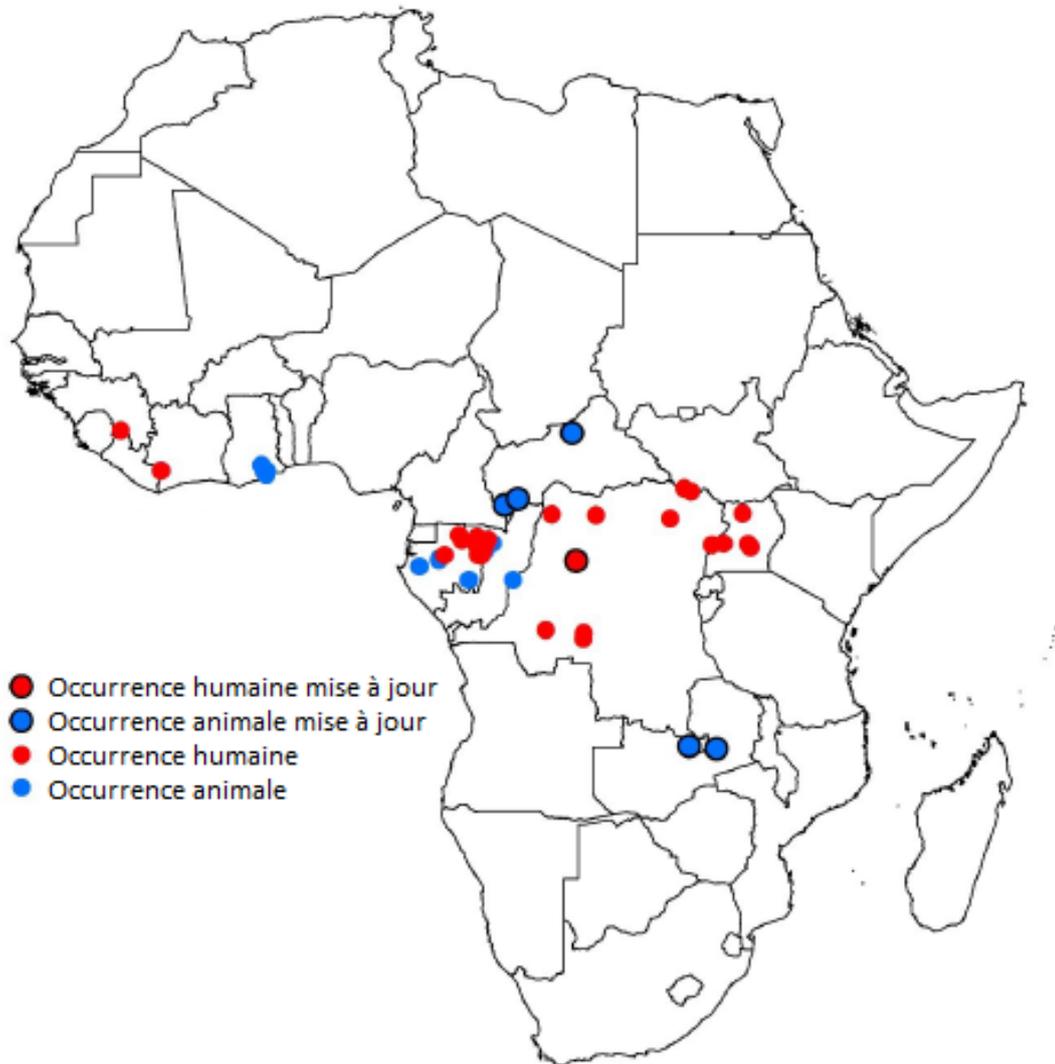
Les pays ayant déjà connu des cas index regroupent les régions les plus propices à des transmissions zoonotiques. Quinze autres pays n'ayant pas présenté de cas index à ce jour sont présents dans cette modélisation : le Nigéria, le Cameroun, la République Centrafricaine, le Ghana, le Liberia, la Sierra Leone, l'Angola, la Tanzanie, le Togo, l'Ethiopie, le Mozambique, le Burundi, la Guinée Equatoriale, Madagascar, le Malawi (Figure 40B). Une transmission zoonotique semblerait possible et probable dans 22 pays d'Afrique Centrale et

de l'Ouest, comptabilisant 22 millions de personnes. La grande majorité de cette population, à savoir 21,7 millions (97 %) vivraient dans des zones rurales, dont 15,3 millions dans les pays où des cas index ont été rapportés et 7 millions dans les autres pays (Pigott *et al.*, 2014). Compte tenu du nombre non négligeable de personnes vivant dans ces régions présentées comme à risque de transmission zoonotique, ces modélisations pourraient être d'une grande aide dans le renforcement de la surveillance, l'anticipation et le contrôle des épidémies de maladie à virus Ebola (Pigott *et al.*, 2016).

En 2016, Pigott *et al.* ont d'ailleurs enrichi leur modèle en y insérant de nouveaux cas index humains et de cas animal : un cas d'épidémie survenue en 2014 en RDC, deux infections animales en Zambie et trois en République Centrafricaine (Figure 41). Il est intéressant de constater que parmi ces nouvelles apparitions de la maladie, deux d'entre elles ayant eu lieu en République Centrafricaine sont situées dans la zone prédite comme à risque par le modèle précédent. La zone dans laquelle le cas index a été retrouvé en RDC est en outre très proche (moins de 10km) d'une zone prédite comme à risque par le modèle de Pigott *et al.* publié en 2016. En ce qui concerne les cas en Zambie et au nord de la République Centrafricaine, ceux-ci sont situés en dehors du modèle de prédiction. Les auteurs ont également intégré la répartition de nouvelles espèces de chauves-souris chez lesquelles des preuves sérologiques d'infection virale ont été retrouvées et ont utilisé de nouvelles techniques de modélisation (Pigott *et al.*, 2016).

Figure 41 : Carte de l'Afrique présentant la survenue de cas de maladie à virus Ebola chez l'Homme et les animaux (Pigott *et al.*, 2016)

Les cas index humains sont représentés par un cercle rouge, ceux chez les animaux en bleu. Les nouvelles occurrences mises à jour en 2016 par rapport à la modélisation de 2014 sont indiquées par des cercles à pourtour noir.



Les régions propices à la transmission zoonotique du virus présentées dans la carte mise à jour en 2016 (Figure 41) sont cohérentes avec les résultats de la modélisation précédente. Cependant le Cameroun, le Gabon, la RDC et la Guinée Equatoriale seraient plus propices à une transmission zoonotique avec le nouveau modèle. A noter que la RDC et le Gabon étaient les pays considérés comme les plus à risque dans le modèle de 2014 et le restent dans celui de 2016. Le nombre de pays à risque est désormais de 23, la distribution actuelle incluant nouvellement le Kenya (Pigott *et al.*, 2016).

Ces modèles sont en constante amélioration, notamment par l'apport continu de nouvelles connaissances concernant le virus Ebola. Une grande partie des données épidémiologiques reste encore mal connue. Outre la difficulté d'attribution de la maladie, aux symptômes non spécifiques, à des cas effectivement infectés par le virus, elle reste plutôt rare. Il est suspecté que le nombre réel de cas de maladie à virus Ebola serait sans doute sous-estimé et il est probable que certaines épidémies aient été attribuées à d'autres virus plus fréquents en Afrique. Cette difficulté à attribuer la maladie au virus Ebola pose des problèmes pour identifier les lieux d'émergence des cas index et les routes de transmission. Des progrès dans ce domaine pourraient considérablement améliorer ces modélisations qui seraient, par ailleurs, de bons outils de surveillance et d'anticipation des cas de transmission zoonotique (Pigott *et al.*, 2014, 2016). Ces modélisations seraient utiles pour identifier les régions d'Afrique où il serait nécessaire d'explorer d'éventuelles transmissions zoonotiques et d'étudier l'expansion géographique du virus (Pigott *et al.*, 2016).

II- Gestion du risque sur les autres continents

1. Gestion de cas importés sur les continents européen et américain

1.1. Cas de chiens potentiellement contaminés par des humains reconnus infectés

L'inquiétude suscitée par l'apparition de deux cas humains de maladie à virus Ebola sur les continents européen et américain en 2014, au cours de l'épidémie d'Afrique de l'Ouest, a conduit à une réflexion concernant la gestion des cas humains sur ces continents, d'une part, mais également à la gestion des animaux ayant été en contact avec des personnes infectées d'autre part. Les cas des chiens Excalibur et Bentley, qui ont été en contact avec leurs maîtresses infectées par le virus et rapatriées d'Afrique, illustrent la gestion, sur les continents américain et européen, d'animaux domestiques potentiellement contaminés (Cf Partie 2, paragraphe 2.2.3).

A l'époque, au cours du mois d'octobre 2014, aucune ligne directrice n'existait concernant la prise en charge de tels animaux, alors qu'ils représentaient, bien que la sensibilité des carnivores domestiques n'ait pas été prouvée, un facteur de risque potentiel non négligeable de contamination. Les modalités de prise en charge d'Excalibur et de Bentley ont permis un questionnement qui a conduit à la création de recommandations générales pour la gestion de cas semblables.

Ainsi, si les conditions optimales de quarantaine de niveau BSL4 ne peuvent être assurées, l'euthanasie est réalisée (EFSA, 2014), comme cela a été le cas pour Excalibur, dont l'euthanasie a été décidée par les autorités espagnoles. Dès l'apparition des symptômes chez le maître, l'animal doit être soustrait à son environnement selon le rapport de l'American Veterinary Medical Association (AVMA) (CDC, 2014). Si l'animal est resté dans

l'environnement du maître après les deux premiers jours d'expression des symptômes, il doit être placé en quarantaine selon les conditions indiquées ci-après. Le chien est rendu au propriétaire si le risque d'excrétion est considéré comme nul à la fin de la période de quarantaine. Cela a été le cas de Bentley, qui a été pris en charge par les autorités américaines et placé en quarantaine.

Les recommandations s'appliquant à la gestion des animaux de compagnie potentiellement exposés au virus Ebola sont tirées du rapport de 2014 mené par le groupe de travail de l'AVMA.

Un des premiers conseils est de tenir tout animal domestique le plus loin possible des fluides biologiques de personnes contaminées. Dans le cas où un doute existe concernant l'exposition de l'animal au virus, une discussion doit être menée pour déterminer la nécessité d'une quarantaine et les conditions de mise en place de cette dernière (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b).

1.1.1. Prise de décision

En cas de contact avec une personne infectée par le virus Ebola, au domicile du patient ou dans tout autre lieu, une évaluation du risque est nécessaire pour décider s'il y a eu des risques d'exposition au virus et si la mise en place d'une quarantaine est possible (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b).

Il est tout d'abord important de collecter les informations relatives à l'espèce, la race et le sexe de l'animal, la stérilisation ou non, le numéro d'identification, les personnes ayant été en contact avec l'animal ainsi qu'à son historique médical (vaccination, maladies connues, antécédents chirurgicaux, traitements reçus ou en cours, alimentation) (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b).

Il convient ensuite de collecter toute information pouvant aider à évaluer l'historique d'exposition, à savoir (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b) :

- Les types de contacts et d'interactions entretenus avec le malade : l'exposition possible aux fluides biologiques du patient (sang, urine, salive, sueur, fèces, vomi), par léchage, consommation, ou simplement par contact. Le fait pour l'animal de s'asseoir sur les genoux de son maître, d'être embrassé ou câliné par son maître, de le lécher (bouche et visage compris) ou de dormir dans le même lit constituent autant de facteurs de risque d'exposition au virus ;
- L'historique clinique du chien : toute récente baisse de l'appétit, tout état fébrile ou vomissement, toute diarrhée et/ou léthargie observés depuis l'apparition des symptômes chez le maître ainsi qu'au cours de l'année précédente (en particulier les antécédents de problèmes gastro intestinaux ou hémorragiques) ;
- La présence d'autres personnes ou animaux dans l'environnement de l'animal. Si d'autres animaux sont présents, il convient d'établir une évaluation du risque pour chaque animal ;

- L'historique de voyage en particulier en dehors des USA ;
- Les activités du chien : les contacts avec d'autres hommes et animaux suivant l'exposition au patient, les types et lieux de balade, les visites dans des parcs à chiens, les visites chez le toiletteur et chez le vétérinaire etc...

La décision de mise sous quarantaine est prise après avoir étudié toutes ces informations et établi une évaluation du risque d'exposition de l'animal. Cette décision est prise conjointement avec les autorités de santé publique vétérinaire et humaine (Behravesch *et al.*, 2014a ; Behravesch *et al.*, 2014b).

Après confirmation de l'infection de sa maîtresse par RT-PCR, un premier questionnaire s'est posé pour déterminer le risque que Bentley ait été infecté à partir de sa maîtresse et en particulier les types et la durée des contacts qu'il a pu avoir avec celle-ci. Le colocataire de cette dernière a déclaré qu'elle entretenait des contacts proches avec son chien lorsqu'elle a commencé à déclarer des symptômes. Bentley dormait en effet dans le lit de sa propriétaire et léchait régulièrement son visage. Bentley a alors été placé en quarantaine, sous haute surveillance, pendant 21 jours, durée d'incubation maximale connue du virus. Même si la probabilité que ce chien ait été infecté et celle qu'il ait été capable dans ce cas de transmettre le virus était extrêmement réduite, cette prise de précaution est justifiée par le fait qu'il s'agit du premier cas rapporté d'exposition d'un animal de compagnie avec un homme infecté aux Etats-Unis (Spengler *et al.*, 2015) et que beaucoup d'inconnues subsistent. Concernant le cas d'Excalibur, les conditions de mise sous quarantaine de niveau BSL4 ne pouvant être assurées, ce dernier a été euthanasié, ainsi que cela a déjà été indiqué (ANSES, 2014).

1.1.2. Transport et mise en quarantaine

Le transport du chien est une étape cruciale et à haut risque, régie par des protocoles stricts et contrôlés. Les précautions et moyens de protections mis en œuvres pendant le transport et l'isolement doivent être de niveau de biosécurité suffisante à savoir du niveau d'un laboratoire BSL4 (EFSA, 2014).

Le manipulateur chargé de prendre l'animal doit être qualifié et porter un équipement de protection adapté à la situation. Tout objet potentiellement contaminé (collier, laisse, habits, jouets, nourriture, gamelles...) est laissé sur place. Il est problématique que le devenir d'un tel objet ne soit pas explicité par Behravesch *et al.* (2014a). Seul le chien est transporté. Une barrière temporaire doit être placée autour de la sortie de la maison pour éviter que le chien ne s'échappe lors du transfert. Un nouveau collier doit être donné à l'animal et ce dernier est placé dans une nouvelle caisse de transport, fermée à clé, dans un véhicule avec un espace conducteur fermé ne communiquant pas avec l'espace dédié à l'animal. Le manipulateur est autorisé à retirer son équipement de protection et à se

nettoyer les mains une fois l'animal enfermé dans le véhicule. Lorsque l'animal a été déposé dans le lieu de quarantaine, le véhicule est nettoyé et désinfecté (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b).

1.1.3. Déroulement de la quarantaine

L'animal doit être dans un chenil ou une caisse situé dans un local sécurisé. Aucun accès à d'autres animaux (sauvages ou domestiques) ou à toute autre personne que le personnel n'est autorisé. L'environnement de quarantaine doit permettre à l'animal de rester propre et sec, le protéger de tout danger, lui laisser assez d'espace pour manger, boire, uriner et déféquer. L'espace nécessaire est calculé selon les règles du bien-être animal établies par l'Animal Welfare Act. L'animal a un accès libre et à volonté à l'eau et la même alimentation que sa nourriture habituelle lui est donnée afin d'éviter tout problème gastro intestinal (pouvant être interprété comme un signe lié à la contamination par le virus). A la fin de la quarantaine, les locaux sont nettoyés et désinfectés (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b).

Le lieu de quarantaine comporte trois zones (Spengler *et al.*, 2015):

- La zone de danger élevé, qui est la pièce dans laquelle se trouve le chien, de taille suffisante, répondant aux critères de bien-être animal établis par L'animal Welfare Act ;
- La zone intermédiaire qui correspond à la zone de transition dans laquelle le personnel se change et entame le processus de décontamination ;
- La zone à risque faible où le personnel termine sa désinfection.

1.1.4. Personnel de surveillance

Le personnel en charge de l'animal tout au long de son isolement comprend deux vétérinaires ainsi que d'un personnel soignant, constitué de deux assistants dans le cas de Bentley. Au cours de la surveillance de l'animal, tout contact avec ses fluides biologiques doit être évité. Un vétérinaire est chargé, 3 fois par jour, de prodiguer les soins (nettoyage des lieux, renouvellement de l'alimentation et de l'eau de boisson) et d'observer à distance l'animal afin de noter tout changement de comportement, de prise de nourriture ou d'apparition de signe de maladie (léthargie, vomissement, diarrhée etc...) (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b ; Spengler *et al.*, 2015). Une prise de température est réalisée en cas d'apparition de signes cliniques ou en cas de changement de comportement de l'animal. Le personnel doit signaler tout changement de comportement au vétérinaire. Si l'animal suit un traitement médical, celui-ci doit être placé dans la nourriture et ne doit pas être donné directement par voie orale. De plus, aucune injection n'est autorisée. Toute morsure ou griffure doit être déclarée (Behraves et *al.*, 2014a ; Behraves et *al.*, 2014b).

Le deuxième vétérinaire reste dans la zone intermédiaire en observation et sert de renfort en cas de besoin. Il participe également à l'élimination des déchets dangereux et aide au retrait de l'équipement de protection (combinaison chimiquement étanche, bottes réutilisables résistantes aux produits chimiques, deux paires de gants en nitrile, un système de respiration protecteur...) lors de la sortie du premier vétérinaire de la zone de danger élevé (Spengler *et al.*, 2015).

Les deux assistants sont présents en continu tout au long de la journée et sont chargés de la gestion du matériel et de la destruction des déchets contaminés (Spengler *et al.*, 2015).

1.1.5. Test de recherche d'infection virale

Des tests de recherche d'ARN viral peuvent être réalisés avec l'accord des autorités (Behravesch *et al.*, 2014a ; Behravesch *et al.*, 2014b). De tels tests ont été réalisés sur les urines, les fèces et le sang de Bentley le 10^e et le 18^e jour de quarantaine, sans difficulté du fait de son bon tempérament. Les résultats se sont révélés négatifs. A ce moment-là, la technique de RT-PCR avait révélé son efficacité pour détecter de l'ARN viral d'EBOV après avoir été testée chez des chiens de travail militaires infectés expérimentalement par EBOV (Spengler *et al.*, 2015).

En cas de résultat positif, l'animal est euthanasié et incinéré (Behravesch *et al.*, 2014a ; Behravesch *et al.*, 2014b).

1.1.6. Conditions de levée de la quarantaine

Les animaux domestiques ayant une probabilité moyenne à forte de s'infecter par contact avec un cas humain doivent être placés 21 jours en quarantaine, correspondant à la durée d'incubation de l'infection virale chez l'Homme. Deux tests RT-PCR doivent être réalisés à 3 jours d'intervalle. En cas de résultat négatif, une évaluation de la santé de l'animal doit être réalisée par le vétérinaire. Si celle-ci est bonne, l'animal est lavé et rendu à son propriétaire (Behravesch *et al.*, 2014a ; Behravesch *et al.*, 2014b ; EFSA 2014).

Bentley a été rendu à sa propriétaire après 21 jours passé en quarantaine sans avoir présenté de signes de maladie et après avoir donné des résultats négatifs lors de la recherche d'ARN viral sur ses urines, fèces et sang (Spengler *et al.*, 2015).

La gestion pratique des cas de Bentley et d'Excalibur a donc contribué à la mise en place de recommandations générales concernant la surveillance des animaux domestiques ayant été en contact avec des personnes susceptibles d'être infectées ou infectées de façon avérée sur les continents américain et européen. Les propriétaires d'animaux domestiques voyageant avec leur animal dans les régions d'épidémie devraient être avertis du risque

potentiel d'infection de leur animal et de transmission par morsure ou léchage. De la même façon, il semble important d'avertir les propriétaires sur le fait que leur animal peut s'infecter s'il est exposé à des fluides biologiques d'un individu infecté, bien qu'il ne montre pas de signes cliniques, et qu'il doit alors être placé en quarantaine (Gumusova *et al.*, 2015). Un questionnaire similaire s'était déjà précédemment posé vis-à-vis des PNH après la mise en évidence d'une infection à virus Ebola chez des singes importés des Philippines.

1.2. Cas d'importation de singes provenant des Philippines sur le continent américain

En novembre 1989, l'infection d'une cargaison de singes *Cynomolgus* importés des Philippines a été mise en évidence dans un établissement de quarantaine en Virginie, aux Etats-Unis. Il s'agissait de la première mise en évidence d'une infection à RESV. Toutes les personnes ayant été en contact avec les animaux malades ou leurs fluides biologiques ont été placées sous surveillance pendant 21 jours après la date de la dernière exposition connue et ont toutes été testées pour rechercher des Ac anti Ebola. Les singes malades (12 individus) ainsi que l'ensemble des animaux de la cargaison ont été euthanasiés. L'environnement a été décontaminé et une enquête épidémiologique aux points de transit lors du voyage a été réalisée. En décembre de la même année, une autre cargaison de 40 PNH importée depuis les Philippines en Pennsylvanie a été sujette à des décès brutaux non expliqués, survenus rapidement après l'entrée sur le territoire américain. RESV a été isolé chez un des animaux décédés (Jahrling *et al.*, 1990; « Epidemiologic Notes and Reports Update: Ebola-Related Filovirus Infection in Nonhuman Primates and Interim Guidelines for Handling Nonhuman Primates during Transit and Quarantine », s. d.).

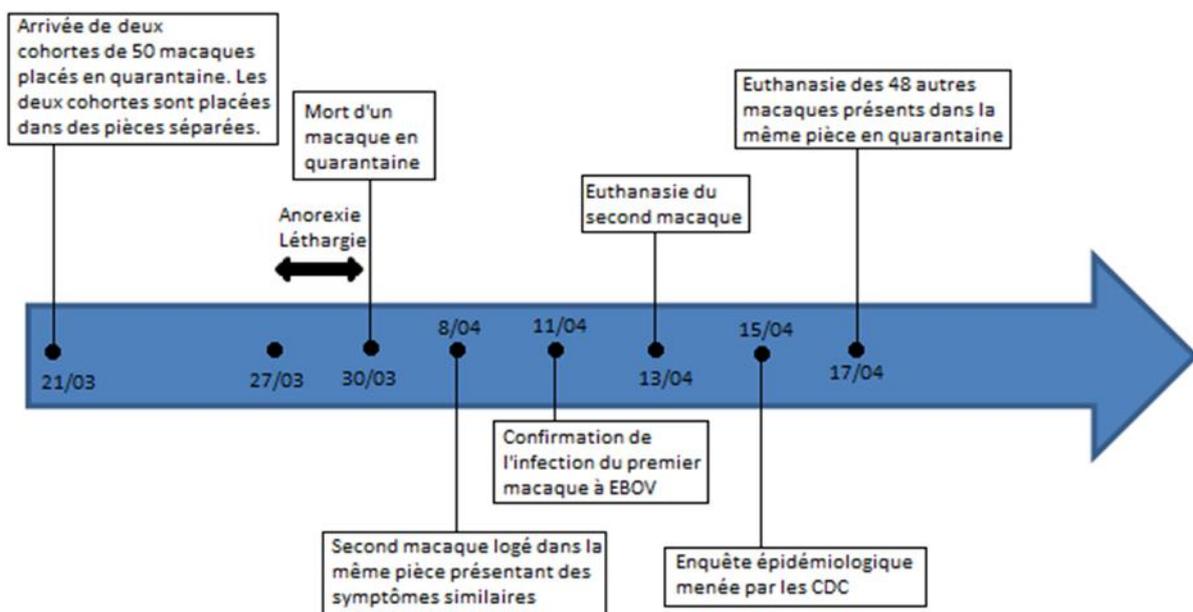
Ces deux événements ont été des éléments déclencheurs de changement de réglementation concernant l'importation et les modalités de mise sous quarantaine des singes importés sur le continent américain. Le principe de quarantaine avait été mis en place dans les années 50 face à la demande croissante d'importation de PNH provenant, en particulier, du secteur de la recherche. En effet, les PNH sont des sources importantes d'agents de maladie infectieuse et constituent un facteur de risque non négligeable de transmission d'agents zoonotiques à l'Homme de par leur proximité génétique. Ils étaient généralement attrapés directement dans leur milieu naturel dans les pays exportateurs jusqu'à ce que la réglementation l'interdise sauf cas exceptionnel. L'Europe a notamment interdit toute introduction de PNH provenant de leur habitat sauvage. Les PNH importés à des fins scientifiques proviennent d'élevages agréés (« Animal used for scientific purposes », s.d ; Legifrance, 2013 ; Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, 2013). Par ailleurs, l'absence de réglementation augmentait d'autant plus par le passé le risque d'introduction de maladie dans le pays importateur. La mise en évidence de deux foyers d'infection au virus Ebola en 1989 a révélé le facteur de risque que représentaient les PNH pour la santé publique. Des modalités d'importation et de mise sous quarantaine des

animaux importés ont alors été mises à jour et renforcées par les CDC (Roberts et Andrews, 2008 ; CDC, 2013).

Depuis lors, y compris pour les singes nés en captivité et introduits dans une unité expérimentale, la durée de quarantaine est passée à 31 jours. Une observation quotidienne est requise afin de mettre en évidence tout changement de comportement ou signe de maladie (perte de poids, diarrhée, léthargie, dyspnée...). Un examen clinique et une prise de sang afin de tester l'ensemble des animaux sont réalisés 2-3 jours après l'arrivée. Les personnes en contact avec la cargaison doivent être en nombre limité, protégées par des protections individuelles, autorisées et formées. Toute manipulation des animaux doit se faire sous anesthésie ou tranquillisation afin d'éviter d'éventuelles morsures ou griffures. Enfin, un permis spécial pour l'importation de macaques *Rhesus*, macaque *Cynomolgus* et les singes vert d'Afrique a été mis en place, ces espèces représentant la majorité des PNH entrant sur le sol américain et ayant déjà été testés positivement à la recherche de *Filoviridae* (Roberts et Andrews, 2008). En 2013, les CDC ont élargi le champ d'application de ce permis à toutes les espèces de PNH provenant d'Asie et d'Afrique (CDC, 2013).

Un deuxième épisode d'infection à virus Ebola sur le continent américain est survenu en 1996 sur une cargaison de 50 macaques importés, là encore, des Philippines (Figure 42). Une semaine après l'arrivée, un individu a commencé à présenter des signes cliniques non spécifiques (anorexie, léthargie) semblables à ceux retrouvés lors des épisodes de 1989. L'animal est décédé 3 jours plus tard. Un deuxième macaque a présenté des signes similaires et été euthanasié lorsque l'infection par le virus Ebola a été confirmée chez le premier cas (Rollin *et al.*, 1999).

Figure 42 : Gestion de l'infection à virus Ebola chez des singes importés aux Etats-Unis en 1996 et provenant des Philippines



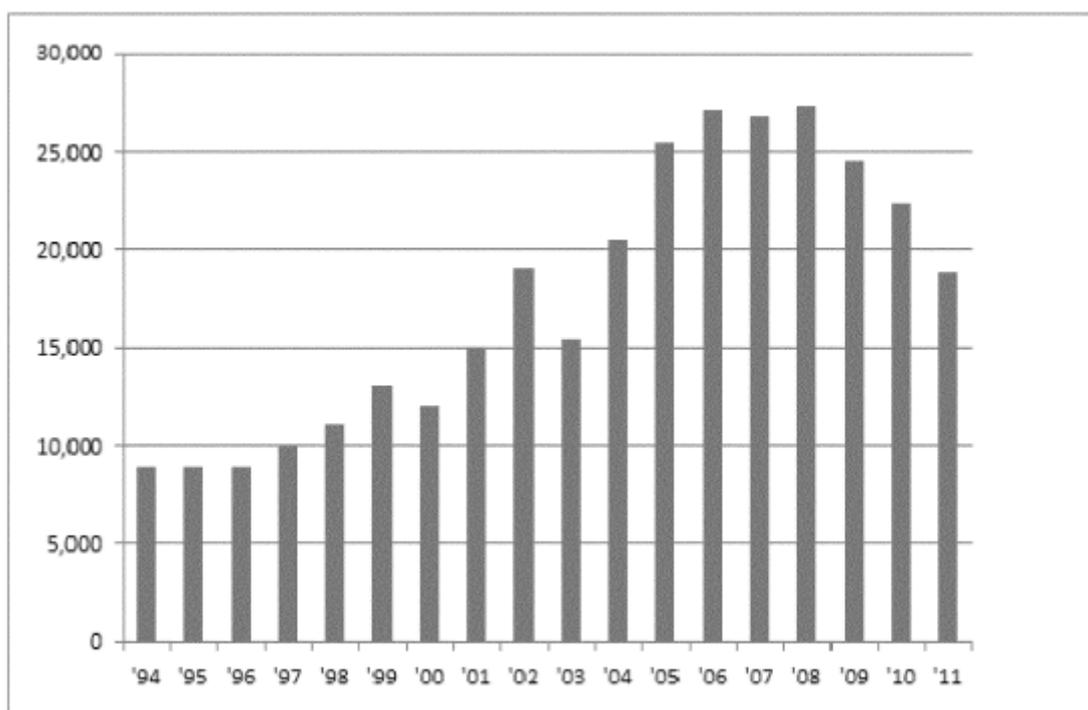
Une enquête épidémiologique a été menée par les CDC et, devant le risque représenté par les 48 autres singes de la même cohorte, ces derniers ont été euthanasiés à titre préventif afin d'éviter toute risque supplémentaire de transmission et de minimiser l'exposition des employés. Les experts ont en effet jugé que la propagation du virus parmi les 48 autres singes ayant été en contact avec les singes infectés ne pouvait pas être évitée. Une étude rétrospective a évalué les conditions de quarantaine comme convenables et ayant permis d'éviter une dissémination du virus (Rollin *et al.*, 1999). Lors de l'arrivée des singes sur le territoire américain, aucun sérum n'avait fourni de résultat positif à l'infection. Ceci a mis en évidence le fait que les tests sérologiques utilisés avant l'exportation ou à l'arrivée offrent peu de chances de détecter des animaux infectés par le virus Ebola et asymptomatiques. L'étude épidémiologique menée en 1996 a par ailleurs révélé une transmission virale parmi les animaux au sein de l'établissement exportateur (Rollin *et al.*, 1999).

L'inquiétude qu'a engendrée ce second épisode a mené à de nouveaux changements aux Etats-Unis concernant la réglementation des importations de PNH. La liste des établissements exportateurs a été réduite et les CDC ne réclament désormais plus d'échantillons de sérum de tous les animaux à leur entrée en quarantaine. De tels échantillons doivent être collectés si un animal présente, durant la durée de la quarantaine, des signes pouvant être rapportés à l'infection. Dans ce cas, du sérum est collecté sur l'ensemble des animaux au 31^e jour de quarantaine et testé pour la recherche d'Ac anti Ebola. Par ailleurs, si un animal meurt ou est euthanasié pour une raison autre que traumatique, des prélèvements de tissus hépatiques doivent être réalisés afin de rechercher la présence d'antigène par technique ELISA et en particulier pour rechercher la présence de *Filoviridae*. En cas de résultat positif, les CDC et la division de quarantaine doivent être informés dans les 24h. En attente des résultats, l'ensemble des animaux est confiné en quarantaine. Par ailleurs, seules les personnes ou centres enregistrés comme organismes importateurs par les CDC et détenteurs d'un permis sont autorisés à importer des PNH vivants. Avant la mise en place du permis spécial d'importation, une centaine d'importateurs étaient répertoriés et le taux de mortalité des PNH à l'importation était très important (Roberts et Andrews, 2008 ; CDC, 2013).

Ces mesures se sont révélées efficaces, le taux de mortalité des primates au cours du transport et de la quarantaine étant passé de 20 % à la fin des années 90 à moins de 1 % en 2006. La baisse du taux de mortalité est liée à la réglementation mais aussi au changement de source d'approvisionnement des primates. Par ailleurs, le nombre d'importateurs enregistrés dans les registres des CDC est passé à 24 dont 11 organismes commerciaux, sept parcs zoologiques, quatre centres de recherches nationaux, une université et un centre de recherche privé. En 2013, seul huit de ces importateurs avaient une activité régulière. Enfin, la plupart des pays exportateurs n'exportent plus que des animaux maintenus en captivité et des tests microbiologiques sont réalisés avant l'exportation (Roberts et Andrews, 2008 ; CDC, 2013). Cette surveillance de l'importation des PNH doit être maintenue. Le nombre de PNH importés a augmenté jusqu'en 2008, année au cours de laquelle il a atteint un pic de 25 000

animaux (Figure 43). Cette augmentation était en partie liée à la demande croissante de PNH en particulier venant du secteur de la recherche. Depuis 2008, le nombre de PNH importés a considérablement diminué, notamment du fait de la mise en place de conditions d'importation plus strictes mais également de l'utilisation d'autres espèces en recherche animale et du fait des difficultés auxquelles sont confrontés les importateurs pour trouver des compagnies aériennes acceptant de transporter des PNH (Roberts et Andrews, 2008 ; CDC, 2013 ; Lankau *et al.*, 2014). Un des objectifs à l'heure actuelle est d'améliorer les outils de diagnostic des maladies et de dépistage des infections chez les PNH et la capacité de répondre rapidement en cas d'identification d'un nouvel agent (Roberts et Andrews, 2008).

Figure 43 : Nombre de PNH importés par an aux Etats-Unis entre 1994 et 2011 (CDC, 2013)



1.3. Règlementation relative à l'importation d'animaux sauvages vivants

L'importation d'animaux vivants constitue un risque d'introduction de nombreux pathogènes et notamment dans notre cas, du virus Ebola. C'est pourquoi toute introduction d'animaux représentant un risque pour la santé humaine est susceptible d'être soumise à des restrictions (« Taking Animals & Animal Products across International Borders», s. d.). Des réglementations existent donc concernant de nombreuses espèces animales afin de limiter leur importation. En particulier, l'importation de primates non humains, de chauves-souris, de civette, de rongeurs ou de carnivores domestiques est restreinte ou interdite. L'importation de primates non humains, de chauves-souris ou de rongeurs sauvages d'Afrique comme animaux de compagnie est strictement interdite sur les continents

américain et européen (Picard-Meyer *et al.*, 2015 ; « Taking Animals & Animal Products across International Borders», s. d.). La réglementation de la détention d'animaux sauvages se base sur la nomenclature de la Convention sur le commerce Internationale des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (CITES).

Aux Etats-Unis, en ce qui concerne les primates non humains, les civettes et les rongeurs provenant d'Afrique, ceux-ci peuvent être importés uniquement pour des raisons scientifiques ou éducatives. Tous les primates non humains sont par ailleurs considérés comme des espèces menacées et inscrites dans l'annexe I ou II de la CITES. Un permis d'importation est donc nécessaire (« Taking Animals & Animal Products across International Borders», s. d. ; CDC, 2013).

En Europe, les conditions d'importation d'animaux vivants sont régies par un règlement adopté par l'Union Européenne (UE) obligeant les états membres à appliquer la Convention de Washington. L'UE a, par ailleurs, mis en place une politique plus stricte que la CITES en réorganisant les annexes de A à D et en y ajoutant d'autres espèces sauvages. Les espèces appartenant aux annexes A et B (notamment les primates non humains et certains chiroptères) doivent être accompagnées d'un permis CITES d'importation ainsi que d'un permis CITES d'exportation et ne peuvent être importés comme animal de compagnie (« Espèces de la faune et de la flore sauvages menacées d'extinction », s. d.; Eur-Lex, 2014, « Other live animals », s.d.). Par ailleurs, une restriction existe concernant les pays exportateurs. Seul les pays tiers inscrit sur une liste spécifique, autorisée par l'UE, peuvent exporter des animaux vers l'UE. Ces animaux doivent, de plus, provenir de centres, d'organismes ou d'instituts agréés. En particulier, les PNH importés à des fins expérimentales doivent provenir uniquement d'élevage agréés (Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, 2013). L'OIE a élaboré des normes concernant l'importation de PNH. Ces derniers doivent être soumis à une période de quarantaine de 30 jours au moins, pouvant être allégée sous certaines conditions, au cours de laquelle toute morbidité ou mortalité anormale doit être explorée. Des tests de dépistage de l'infection par les agents de tuberculose, les entérobactéries pathogènes, les endoparasites et ectoparasites doivent également être réalisés (« Mesures de quarantaine applicables aux primates non humains », s.d. ; « zoonoses transmissibles par les primates non humains », s.d.).

Concernant les chiroptères, la détention ou l'acquisition de chauves-souris exotiques est strictement interdite pour tout particulier ou établissement de vente d'animaux d'ornement. Seuls les parcs zoologiques et animaliers, ainsi que les centres de soins et de recherche sont habilités à détenir ces animaux. Dans le cas où un organisme est habilité à garder des chauves-souris exotiques, il doit se plier à une réglementation stricte. Il doit notamment suivre strictement les règles d'importation de tels animaux, à savoir que ces derniers doivent provenir d'établissements sous surveillance vétérinaire, doivent faire l'objet, afin d'être jugés aptes au transport, d'un examen clinique le jour de leur chargement et ne présenter aucun signe clinique les rendant suspects de maladie. Les véhicules de transport ne doivent pas permettre l'écoulement des fluides biologiques et doivent être

nettoyés et désinfectés. Un recensement de l'ensemble de ses chiroptères par l'établissement importateur, un suivi de son effectif et de l'état sanitaire des animaux est de plus obligatoire. Enfin, il se doit d'informer son personnel du risque encouru en étant en contact avec des chiroptères (Picard-Meyer *et al.*, 2015).

De la même façon, les établissements importateurs ou fournisseurs répondent à une réglementation stricte (Legifrance, 2013). Les animaux importés doivent être accompagnés d'un certificat sanitaire signé par l'autorité compétente du pays exportateur et un contrôle vétérinaire dans un poste d'inspection frontalier est exigé dès leur introduction dans l'UE (« Espèces de la faune et de la flore sauvages menacées d'extinction », s. d.).

En France, le non-respect des obligations réglementaires est passible d'une amende de 300 000 à 600 000 euros et de deux à cinq ans d'emprisonnement (Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, 2014).

2. Régulation de la commercialisation de viande de brousse et gestion des importations illégales de produit animal

Suite à la prise de conscience du risque d'introduction du virus Ebola sur les continents américain et européen à travers l'importation d'animaux sauvages et de leur produits dérivés, une régulation de ces importations et une législation adéquate concernant la commercialisation de viande de brousse notamment ont été mises en place.

2.1. Les acteurs

Plusieurs acteurs interviennent dans la régulation des importations. Aux Etats-Unis, les principaux acteurs sont les centres pour le contrôle et la prévention de maladie (CDC) qui élaborent des réglementations concernant l'importation d'animaux et de produit animal. En Europe, la Commission Européenne propose et met en œuvre des politiques communautaires et veille à leur application par les états membres. Au niveau national, en France, les importations d'animaux ou de leurs produits sont régies par les lois du Code rural et par les arrêtés ministériels établis par le Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (MAAF). Au niveau des frontières, les douaniers ont seuls autorité pour contrôler les bagages et font appel au Service d'Inspection Vétérinaire et Phytosanitaire (SIVEP), dépendant du MAAF, pour réaliser un contrôle sanitaire des animaux et des produits d'origine animale (Besson, 2012 ; « Importation - Exportation de denrées animales et végétales | Alim'agri », s. d., « Smuggled Bushmeat Is Ebola's Back Door to America », s. d.). L'OIE élabore également des normes, sur des bases scientifiques, concernant les échanges internationaux d'animaux et de denrées d'origine animales, visant à garantir la santé publique (« Normes internationales », s.d. ; OIE, 2014).

2.2. Régulation des importations de viande brousse et de produit d'origine animal

Le risque que représente la viande de brousse en tant que source de transmission du virus Ebola est reconnu par les différents acteurs cités précédemment. Toute importation de viande de brousse, qu'elle soit de pays tiers vers l'UE, ou vers le continent américain, est interdite et la viande est détruite en cas de saisie. Lors de l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013-2016, des contrôles renforcés des bagages ont été mis en place pour les voyageurs provenant de pays infectés (« Importation - Exportation de denrées animales et végétales | Alim'agri », s. d.). Les voyageurs tentant de faire entrer de la viande de brousse sur les continents américain ou européen sont passibles d'amende allant jusqu'à 250 000 dollars aux Etats-Unis. En France, le non-respect des réglementations concernant l'importation de produits animaux constitue un délit douanier dont la peine peut aller d'une simple amende de quelques milliers d'euros à une amende beaucoup plus élevée assortie d'une peine d'emprisonnement (Besson, 2012 ; « Transport de denrées d'origine animale par un voyageur », s.d.).

Les CDC ont également mis en place des restrictions concernant l'importation aux Etats-Unis de produits d'origine animale. Toute importation de « trophée » d'animaux protégés est interdite. La liste de ces animaux est retrouvée dans la CITES qui régule l'importation d'animaux sauvages. La plupart des animaux chassés pour leur viande appartiennent à des espèces à risque d'extinction ou menacées et sont listées dans cette convention. Par ailleurs, tout produit d'origine animale dont l'importation fait l'objet de restrictions doit être soumis à des traitements validés par les CDC pour les rendre non infectieux. Pour cela, ces produits peuvent être soumis à des températures élevées (70°C ou eau bouillante pendant 30 minutes), traités par du formaldéhyde à 2 % ou encore par une solution acide ou alcaline. La liste complète des méthodes approuvées par les CDC est présente sur leur site internet (« Bringing Animal Products to United States | Importation | CDC », s. d., « Taking Animals & Animal Products across International Borders », s. d. ; CDC, 2013).

En Europe, l'importation dans des bagages personnels de viandes, laits ou produits à base de viande ou de lait est interdite. L'importation d'autres produits est possible sous les conditions que ces aliments soient destinés à la consommation personnelle et que les restrictions de quantités prescrites soient respectées. L'importation par des pays tiers de produits d'origine animale est soumise à des contrôles vétérinaires systématiques (Commission Européenne, 2009). Concernant l'importation de trophées de chasse, des nouvelles mesures ont été instaurées, notamment la nécessité d'obtention d'un permis d'importation répondant à des critères de durabilité. Les primates non humains et les chiroptères ne font pas partie de la liste des espèces dont l'importation de trophées est autorisée. Par ailleurs, les États membres sont appelés à ne pas délivrer de permis si un doute subsiste quant à la légalité de la cargaison, c'est-à-dire si les informations fournies par

le pays exportateur ne satisfont pas les conditions d'importation de produits dérivés d'animaux dictées dans la convention CITES (« L'Union européenne adopte de nouvelles mesures sur l'importation des trophées de chasse en vue de lutter contre les pratiques illégales et non durables », s.d.).

L'objectif est d'accroître la surveillance aux points d'entrée et de sortie des pays. Il a été montré qu'une quantité plus importante de denrées d'origine animale est confisquée quand la surveillance est accrue. En France, par exemple, 273 tonnes de viande de brousse seraient confisquées chaque année à l'aéroport Charles de Gaulle de Paris (Mann *et al.*, 2015). Lorsqu'elles sont confisquées, les denrées sont le plus souvent détruites mais des échantillons sont également collectés et des analyses effectuées afin de surveiller la présence d'agents zoonotiques (Smith *et al.*, 2012). Il serait d'ailleurs intéressant de mener des analyses virologiques sur la viande afin d'identifier les virus pathogènes qui pourraient y être présents, les analyses réalisées à ce jour sur des produits saisis étant uniquement bactériologiques (Roger *et al.*, 2016).

3. Régulation du flux de voyageurs aériens

Un des autres risques d'introduction du virus Ebola dans un pays ou de propagation de l'épidémie est le mouvement des populations. Il a en effet été vu que certaines personnes revenant de pays infectés représentent un facteur de risque d'introduction du virus dans d'autres pays et un facteur de risque de transmission à d'autres personnes ou à des animaux domestiques. Ainsi, les flux de voyageurs constituent un facteur de risque d'importation du virus dans d'autres pays et de sa propagation à l'internationale. Une étude menée par Bogoch *et al.* (2015) s'est penchée sur l'efficacité des contrôles aux points d'entrée et de sortie de pays des voyageurs entre septembre et décembre 2014.

Lors de l'épidémie de 2013-2016, des mesures de contrôles ont été proposées par l'OMS à la sortie et à l'entrée des pays, dans les aéroports, les ports maritimes et les principaux points de passage terrestre afin de détecter tout individu susceptible d'être porteur du virus. Les voyageurs devaient répondre à un questionnaire. Une mesure de température était prise et une évaluation de risque était réalisée en cas de fièvre. Compte tenu des symptômes non spécifiques de la maladie, la valeur prédictive positive de ce type de contrôle est très faible (OMS, 2014). Des conseils aux voyageurs ont également été fournis concernant la maladie à virus Ebola, les éléments conduisant à sa suspicion et la conduite à tenir lors de voyage dans des pays infectés. Un « self-monitoring » a également été conseillé jusqu'à 21 jours après le retour d'une zone infectée (Bogoch *et al.*, 2015).

Bogoch *et al.* (2015) ont estimé par ailleurs qu'en l'absence de contrôle, un voyageur infecté aurait quitté la Guinée tous les 2 à 7 mois, tous les 0 à 2 mois pour le Liberia et 0 à 6 mois pour la Sierra Leone. En moyenne, moins de trois voyageurs infectés par mois auraient quitté les pays infectés *via* des vols internationaux. D'après cette étude, les points de contrôle seraient plus précoces, plus efficaces et plus facilement réalisables aux points de

départ de vols internationaux des pays infectés par le virus Ebola plutôt qu'à l'entrée des pays destinataires, les vols non directs impliquant plus de travail de recherche. Cependant au vu de la durée moyenne de la période d'incubation (8-10 jours) par rapport à la durée des vols (quelques heures), les points de contrôle à l'entrée comme à la sortie des pays sont susceptibles de ne pas détecter de tels voyageurs (Bogoch *et al.*, 2015). La mise en place de tels contrôles représente un coût non négligeable. Selon ces auteurs, l'établissement d'un dépistage aux points d'entrée des pays n'était pas obligatoire mais a été mis en place par quelques pays (Royaume Uni, France) sur des vols en provenance de pays infectés. Cependant, à tous les points d'entrée, l'Etat est tenu en cas de foyer de maladie à virus Ebola de vérifier la présence d'infrastructures adéquates et de protocoles pour la prise en charge d'un cas suspect (OMS, 2014).

Une restriction sur les vols internationaux provenant des pays infectés a également été mise en place. Une réduction du nombre de sièges de 51 % a été observée au départ du Liberia, 66 % de la Guinée et 85 % du Sierra Leone. 29 % des voyageurs de ces trois pays avaient comme destination des pays à revenu élevé, 7 % des pays à revenu intermédiaire, 49% des pays à faible revenu et 15 % à très faible revenu. Ainsi, 64 % des voyageurs étaient à destination de pays à faible ou très faible revenu et ne disposant donc très probablement pas d'infrastructures efficaces pour détecter l'introduction du virus et lutter contre sa diffusion (Bogoch *et al.*, 2015). Cependant, le nombre de voyageur partant de ces trois pays est resté très réduit par rapport à d'autres pays.

Finalement, les mesures de dépistage à la sortie de pays infecté semblent être plus rationnelles que les mesures de dépistage à l'entrée de pays non infectés et que l'établissement de restrictions de vols en provenance des pays africains infectés (« Déclaration sur les voyages et les transports en rapport avec l'épidémie de maladie à virus Ebola (EVD) | Organisation Mondiale du Tourisme OMT », s. d.).

III- Perspectives

La fin de l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013-2016 a cédé la place à un questionnement sur les perspectives pour les pays touchés par l'épidémie ainsi qu'à un questionnement sur le bien-fondé de l'inquiétude de la communauté internationale. En particulier, il est légitime de se questionner sur les leçons à tirer de la dernière épidémie et ce qu'il est possible d'améliorer pour pouvoir en gérer une nouvelle de la meilleure façon possible.

1. Progression des connaissances

L'objectif dans un futur proche est d'améliorer les connaissances concernant l'infection des animaux sauvages et de compagnie par le virus Ebola afin de gérer au mieux d'éventuels cas mais également pour appréhender plus efficacement leur rôle, notamment celui du chien, dans la transmission du virus (ANSES, 2014). Pour cela, l'exploitation de données déjà existantes des études de terrain et de laboratoire sur les continents africain et asiatique serait utile à mettre en œuvre.

1.1. Etudes de terrain

1.1.1. Etudes éco-épidémiologiques

Des études éco-épidémiologiques seraient nécessaires à mettre en place afin de mieux comprendre le cycle du virus Ebola, ses réservoirs et le rôle joué par les différentes espèces animales mises en jeu. Elles permettraient également d'appréhender les zones de circulation virale et donc les zones possibles d'émergence d'une nouvelle épidémie (Roger *et al.*, 2016 ; Spengler *et al.*, 2016).

1.1.1.1. Sur la faune sauvage africaine

Un suivi sur le long terme des populations sauvages de chauves-souris mais également de primates non humains permettrait d'étudier leur comportement, les différents contacts entre ces espèces en milieu naturel, leur mortalité ainsi que leurs déplacements naturels, comme par exemple les migrations des chauves-souris et leurs contacts avec la faune domestique (Pourrut *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2011 ; Olival et Hayman, 2014 ; Roger *et al.*, 2016). Une meilleure étude des facteurs de risque de transmission virale entre les différentes espèces serait alors envisageable ainsi que l'identification plus précise des liens épidémiologiques entre les chauves-souris, les primates non humains et les Hommes (Pourrut *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2011 ; Olival et Hayman, 2014).

Des recherches virologiques et des tests sérologiques sur les espèces réceptives et/ou sensibles à l'infection par le virus Ebola en Afrique seraient également à développer (Roger *et al.*, 2016). Des protocoles ont été mis en place par les CDC et l'Agence des États-Unis pour le développement international (USAID). Le projet de l'USAID, conjointement mené avec les CDC, l'OMS et la FAO, a été élaboré afin d'améliorer les capacités de détection d'infections virales chez les chauves-souris, les rongeurs, et les primates dans vingt pays en voie de développement. Il s'agit pour cela d'améliorer la capacité de surveillance au niveau des laboratoires, de renforcer les capacités de réponses locale et nationale et d'éduquer la population locale, l'objectif étant de pouvoir détecter des nouveaux virus au sein de la

population animale afin d'anticiper leur émergence au sein de la population humaine. Par exemple, le virus Lloviu a été découvert au cours de la surveillance de la faune sauvage après une hausse de mortalité au sein d'une population de chauves-souris. Des études de laboratoire sont actuellement en cours afin de mieux explorer son génome et sa pathogénicité dans le but de prévenir une potentielle émergence chez l'Homme (« Emerging Pandemic Threats 2 Program | U.S. Agency for International Development », s. d.; Olival et Hayman, 2014).

1.1.1.2. Le cas des carnivores domestiques

Il conviendrait de mener plusieurs types d'enquêtes épidémiologiques chez les chiens des pays infectés afin de mieux comprendre leur rôle dans l'épidémie de maladie à virus Ebola même s'il ne s'agit pas d'une priorité. Des études rétrospectives seraient également souhaitables (ANSES, 2014). Parmi ces enquêtes il est possible d'identifier des enquêtes :

- Ecologiques, étudiant notamment la mobilité des chiens au sein des zones infectées et entre zones infectées et non infectées ;
- Descriptives (cliniques, sérologiques et virologiques) ;
- Analytiques chez les chiens dans les pays actuellement affectés.

L'analyse des données épidémiologiques et écologiques recueillies dans le cadre des études déjà existantes, en particulier l'étude menée par Allela *et al.* (2005), pourrait, selon l'équipe d'experts de l'ANSES (2014) « apporter de nouvelles informations sur des facteurs de risque associés à la séroconversion des chiens ». La réalisation de tests de séro-neutralisation virale sur des échantillons de sérum de chiens, dans un laboratoire BSL4, à condition que ceux-ci aient été correctement conservés, serait intéressante afin de rechercher la trace d'IgM et d'évaluer ainsi la période d'exposition au virus (ANSES, 2014).

1.1.1.3. Le cas des porcs domestiques et sauvages

Des études sérologiques pourraient être réalisées en zone d'épidémie chez les porcs domestiques et sauvages (potamochères) afin d'estimer la séroprévalence de l'infection. Cela permettrait d'avoir, en outre, plus d'informations concernant la réceptivité et la sensibilité des porcs mais aussi de déterminer si la race et le sexe sont des facteurs influençant cette infection, si l'infection des porcs se cantonne à certaines régions d'Afrique ou encore si le porc est plus réceptif ou plus sensible lors de certaines périodes de sa vie (ANSES, 2014 ; Atherstone *et al.*, 2015). D'après Sayama *et al.* (2012), une surveillance épidémiologique de l'infection des porcs aux Philippines serait souhaitable, compte tenu de « la possibilité d'introduction de mutations dans le génome de RESV au cours de la transmission chez le porc pouvant mener à une adaptation du virus à cette espèce ».

1.1.2. Développement de techniques non invasives d'identification virale

Une nouvelle technique de mise en évidence d'anticorps (Ac) anti Ebola sur les fèces de PNH a été décrite par Reed *et al.* (2014). 80 échantillons de fèces de PNH sauvages ont été récoltés dans deux régions de République du Congo entre 2005 et 2008 (Annexe 8). La première région a connu des flambées de maladie à virus Ebola avec des cas humains confirmés et des carcasses de PNH ayant fourni un résultat positif pour la recherche d'EBOV. Aucun cas humain ou animal et aucune mortalité anormale au sein de la population de PNH n'a été rapporté dans la seconde région. Aucune trace d'EBOV n'a par ailleurs été retrouvée sur des carcasses de PNH dans cette région. Les échantillons récoltés ont été testés par Western blot pour la recherche d'Ac anti NP d'EBOV, cette technique s'étant révélée efficace en conditions expérimentales chez des singes *Cynomolgus*. Il a par ailleurs été montré dans des études ultérieures que des Ac dirigés contre le Virus de l'Immunodéficience Simienne sont détectables, par une méthode similaire, dans les fèces de chimpanzés, avec une sensibilité estimée de 92 % et une spécificité estimée de 100 %. De la même façon, des Ac contre le Virus Spumeux Simien peuvent être détectés dans les fèces de chimpanzés, avec une sensibilité de 73 % et une spécificité de 100 %. Des Ac anti NP d'EBOV ont été détectés expérimentalement dans les fèces de PNH séropositifs à des dilutions atteignant 10^{-5} , sans précision concernant le pourcentage de fèces appariés à des sérums avec des résultats positifs. Ces données révèlent, selon Reed *et al.* le potentiel d'une telle technique pour la détection d'Ac anti EBOV, bien qu'ils n'en précisent pas la sensibilité ni la spécificité dans leur publication. Sur 35 échantillons provenant de la région ayant connu des épidémies, 5 échantillons (14,2 %, IC₉₅ % [8,0-28,6]) se sont révélés séropositifs. Concernant la zone n'ayant pas connu d'épidémie, 3 échantillons sur 35 (6,6 %, IC₉₅ % [0-15,8]) ont donné des résultats positifs. Il s'agit de la première technique de détection d'Ac anti NP d'EBOV dans les fèces de PNH. Ces résultats mettent en évidence l'exposition des gorilles au virus Ebola avec une séroprévalence de 10 %. Des Ac ayant été retrouvés chez des gorilles n'ayant supposément pas été en contact avec le virus, cela met en évidence, sous réserve d'une spécificité satisfaisante du test, qu'une circulation du virus parmi les populations de PNH est possible sans être forcément létale. Devant la difficulté de récolter du sang et des tissus sur la faune sauvage, le développement d'une méthode non invasive pose de nouveaux espoirs dans la gestion de l'infection des PNH et dans les stratégies de protection des grands singes. Cette technique pourrait constituer une méthode de surveillance de la circulation du virus au sein des populations de PNH, complémentaire à la surveillance du taux de mortalité au sein des populations exposées, et donc viendrait renforcer les capacités d'anticipation de l'émergence de la maladie au sein des populations de PNH et de leur émergence chez l'Homme. De plus, elle permettrait l'identification de populations naïves susceptibles d'être soumises à un protocole vaccinal lorsqu'il sera envisageable. La détection d'Ac dans les fèces pourrait par ailleurs être utilisée avant et après la vaccination pour étudier son efficacité.

Cette technique reste donc à explorer et il serait intéressant de l'adapter à d'autres espèces sauvages, notamment le porc et les chauves-souris. Depuis la découverte de l'infection des porcs par RESV en Asie du Sud-Est, un questionnement persiste concernant leur rôle d'hôte amplificateur dans le cycle épidémiologique du virus Ebola. Le continent africain concentrant de nombreuses espèces de porcs sauvages, en dépit du fait qu'aucune preuve de mortalité liée à une infection au virus Ebola au sein des populations de porcs n'ait été démontrée, cette technique non invasive de recherche d'Ac dirigés contre le virus Ebola pourrait permettre de savoir facilement si les populations de porcs sauvages sont porteuses du virus. Il conviendrait alors, dans ce cas, de mener d'autres investigations pour étudier leur capacité d'excrétion et de transmission virale (Reed *et al.*, 2014).

Concernant les chauves-souris, peu d'études se sont basées sur une détection virale dans les selles. Le développement de techniques de détection d'Ac ou d'ARN viral, ou d'isolement viral à partir de petites quantités de sang, de salive, d'urine ou d'excréments permettrait de ne pas à avoir à sacrifier les chauves-souris et serait très intéressant si la transmission s'effectue indirectement *via* l'environnement des chauves-souris. Elles pourraient permettre de détecter facilement des colonies porteuses du virus et des zones à risques de transmission *via* cet environnement. *A contrario*, il semble plus pertinent de se pencher sur la prévalence virale dans les tissus et dans le sang dans l'étude des facteurs de risques imputés aux activités liées à la viande de brousse. Comme décrit précédemment, l'Homme est amené à être en contact avec des fluides biologiques lors de la chasse, l'abattage ou la préparation de carcasse. L'ingestion de viande de brousse représente également un facteur de risque de transmission du virus Ebola à prendre en compte (Olival et Hayman, 2014). Par ailleurs, seul un petit pourcentage des 1200 espèces de chauve-souris connues à ce jour a été étudié, d'où l'intérêt de mener des études virologiques sur d'autres espèces de chiroptères. Il est important d'échantillonner des individus sains ainsi que des individus malades afin de ne pas passer à côté d'individus asymptomatiques (Pourrut *et al.*, 2007 ; Olival et Hayman, 2014).

1.2. Etudes de laboratoire

Les recherches virologiques sur les chauves-souris doivent être poursuivies afin de mieux comprendre le déroulement de l'infection par le virus Ebola et en particulier les modalités de réponse immunitaire chez ces dernières. Très peu d'informations existent concernant la virémie et la persistance des Ac chez les chiroptères. Des infections expérimentales de chauves-souris captives en laboratoire sécurisé (BSL4) pourraient s'avérer utiles, en particulier pour étudier la transmission virale entre chauves-souris ou des chauves-souris à d'autres animaux, comme cela a été fait pour les macaques et les porcs, mais également entre d'autres espèces animales (Pourrut *et al.*, 2007 ; Weingartl *et al.*, 2012 ; Olival et Hayman, 2014).

Des études de laboratoire seraient d'autant plus intéressantes chez les animaux domestiques. En particulier, le développement d'études sur la pathogénie de l'infection par le RESV chez des porcs immunitairement déprimés ou co-infectés par d'autres virus, notamment PCV2 et PRRSV, serait intéressant de caractériser le rôle de ces virus dans la propagation du virus Ebola dans l'organisme ou dans l'excrétion du virus (Barrette *et al.*, 2009 ; Marsh *et al.*, 2011). Par ailleurs, des infections expérimentales de chiens en BSL4 pourraient permettre d'étudier leur capacité à s'infecter par voie orale, respiratoire ou encore oculaire, de connaître la durée de l'infection et la localisation virale chez le chien, et enfin d'évaluer leur capacité à développer des signes cliniques, à excréter le virus et à développer une réponse immunitaire (ANSES, 2014).

Enfin, il apparaît nécessaire de continuer les études portant sur la mise au point de traitements et de vaccins contre le virus Ebola, à la fois pour les humains mais aussi pour les animaux et notamment les PNH. Il pourrait être en particulier intéressant d'explorer les possibilités de vaccination des PNH sauvages d'Afrique, un vaccin ayant déjà prouvé son efficacité en conditions expérimentales chez des singes cynomolgus (Reed *et al.*, 2014 ; IUCN, 2015) et chez des chimpanzés (Walsh *et al.*, 2017).

2. Renforcement de la capacité de gestion des épidémies en Afrique

2.1. Renforcement des infrastructures sur le continent Africain

La construction de laboratoires capables de diagnostiquer et confirmer une infection de la faune sauvage et/ou domestique dans les régions épidémiques s'avère indispensable afin de pouvoir agir au plus vite en cas de suspicion voire de confirmation d'infection et de limiter l'émergence du virus au sein de populations humaines. Le développement de kits de diagnostic/dépistage rapide pour les animaux serait également un plus (Atherstone *et al.*, 2015).

2.2. Sensibilisation de la population et lutte contre la corruption

Il s'agit de continuer le travail de prévention et de sensibilisation réalisé lors de l'épidémie de 2013-2016 en Afrique de l'Ouest dont les résultats se sont avérés prometteurs. Des questionnaires et une campagne de prévention pourraient notamment être mis en place à destination des éleveurs concernant les conditions de logement des animaux, l'environnement à proximité de la ferme, les contacts possibles avec la faune sauvage ou domestique locale afin d'appréhender les risques de transmission et de leur proposer des solutions en cas d'épidémie ou de suspicion d'infection chez leurs animaux (ANSES, 2014 ; Atherstone *et al.*, 2015 ; Mekibib et Ariën, 2016 ; Spengler *et al.*, 2016).

Bien qu'une législation nationale existe dans les pays d'Afrique concernant la chasse de viande de brousse (interdiction de chasser certaines espèces, établissement de périodes pendant lesquelles la chasse est interdite, établissement de permis de chasse pour celle dépendant de la viande de brousse, mise en place de quotas...), celle-ci semble incohérente et peu applicable. En effet, les nombreuses étapes nécessaires afin d'agir en toute légalité sont fastidieuses. Un certain nombre de personnes choisissent donc d'aller à l'encontre des lois et ne sont que rarement sanctionnées (Cowlshaw *et al.*, 2004 ; Nasi *et al.*, 2008 ; Legrum, 2012). Le fait que les lois ne soient pas respectées ne les rend pas dissuasives. En dépit de l'aide apportée par la communauté internationale, le manque d'infrastructures et de personnel, couplé à une corruption croissante, font obstacle à l'application des lois par l'Etat et mettent à mal les efforts mis en œuvre pour protéger les écosystèmes locaux (CDB, 2011). La corruption est un problème majeur et récurrent dans certains pays d'Afrique de l'Ouest depuis plusieurs décennies et impacte notamment leur stabilité. Bien que chaque pays possède ses propres lois anti-corruption un long combat est à poursuivre, même si certains résultats commencent à apparaître (Atuobi, 2007 ; IUCN, 2015).

2.3. Développement d'une filière contrôlée de viande de brousse en Afrique

Un besoin urgent existe relativement à l'acquisition d'informations sur les conditions de préparation et de consommation de la viande de brousse en Afrique et de renforcement des campagnes de sensibilisation de la population (FAO, 2015).

Il pourrait également être intéressant de surveiller la commercialisation et le marché de viande de brousse en Afrique pour se faire une idée du trafic réel, connaître la quantité réelle de viande échangée, les acteurs ainsi que les régions les plus impliqués et élaborer des mesures de protection et de régulation dans les zones les plus affectées par la chasse de viande de brousse (Mickleburgh *et al.*, 2009 ; Covey et McGraw, 2014). Il serait également bienvenu de mettre en place ou de renforcer la législation concernant la protection de certaines espèces, la chasse et la commercialisation de viande de brousse. Il existe par exemple des lois dans certains pays d'Asie autorisant la chasse de certaines chauves-souris uniquement pendant certaines périodes afin de limiter cette activité sans l'interdire entièrement (Mickleburgh *et al.*, 2009).

Le programme de conservation TRAFFIC, basé à Yaoundé, au Cameroun, a été initié afin de développer les capacités de surveillance du trafic de viande de brousse, renforcer les connaissances et la sensibilisation des acteurs impliqués et mettre en place un « commerce durable de viande de brousse » pour les populations d'Afrique Centrale qui en dépendent. Ce programme international est financé par des pays de l'Union Européenne, dont notamment la France. Une aide financière a, en effet, été apportée en 2009 par le Ministère des Affaires Etrangères et Européennes concernant les actions menées par TRAFFIC dans les pays francophones d'Afrique Centrale. TRAFFIC a été créée en 1976 par le Fonds mondial pour la nature (WWF) et l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (IUCN).

L'objectif premier est de mener des actions contre le trafic illégal afin de réduire la pression exercée par le commerce illégal d'animaux sauvages sur la biodiversité, en renforçant les efforts en termes de conservation des écosystèmes d'ici à 2020. Ensuite, des actions nationales, menées conjointement avec les gouvernements, sont conduites pour développer un commerce local et légal des ressources sauvages. Des pratiques commerciales responsables et une gestion des ressources, en orientant, par exemple, la pratique de la chasse vers des espèces non menacées, permettraient de garantir l'accès à la viande de brousse comme ressource dans les pays africains. Dans certaines régions d'Afrique, la viande de brousse est en effet la seule source de protéines accessible et abordable pour une partie de la population (« Wild animals for food and medicine », s.d.). Enfin, un des autres objectifs de TRAFFIC est de sensibiliser la population au trafic de viande de brousse, à ses implications sur la santé humaine mais aussi sur la gestion des ressources naturelles de leur pays (« The TRAFFIC Programme », s.d.). Contrôler la chasse au niveau local et national reste et restera une tâche difficile. Il semble essentiel d'obtenir le soutien des communautés locales qui ont tout intérêt à protéger leurs ressources (Nasi *et al.*, 2008).

3. Renforcement de la coopération internationale

Les crises sanitaires imputées à l'émergence de maladies dont notamment l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013-2016 reflètent la menace internationale que représentent les maladies animales tant sur le plan économique, que sociétal ou environnemental, ainsi que pour de la santé publique. De la prise de conscience de ces risques et des liens étroits entre la santé animale, la santé humaine et l'environnement, est né le concept « One Health / une seule santé ». Ce concept, créé en 2004, s'appuie sur une collaboration entre les services de santé humaine, de santé animale et de gestion de l'environnement, ces trois disciplines étant considérées comme indissociables. L'OMS, la FAO et l'OIE sont à l'origine de ce projet, dont un des objectifs est de renforcer la surveillance des maladies au sein des populations animales et humaines, afin notamment d'en détecter le plus précocement l'émergence (Ministère des affaires étrangères et européennes, 2011 ; Kelly *et al.*, 2016).

Les épidémies de maladie à virus Ebola s'appliquent parfaitement à ce concept et en reflètent toute la complexité. Touchant à la fois la santé humaine et la santé animale, le virus Ebola compromet également la sécurité alimentaire avec les facteurs de risque liés à la viande de brousse. La composante environnementale intervient par l'intensification des activités humaines, aux conséquences non négligeables sur l'environnement et les écosystèmes, empiétant sur les territoires de la faune sauvage et constituant ainsi un facteur de risque de transmission virale à l'Homme. L'épidémie de 2013-2016 a également engendré une prise de conscience mondiale concernant le risque de propagation de la maladie dans les pays développés, du fait de l'évolution démographique et des mouvements de

populations, désormais plus mobiles et se déplaçant aisément d'un continent à l'autre (Ministère des affaires étrangères et européennes, 2011 ; Kelly *et al.*, 2016).

Dans le cadre de ce concept « One Health », des partenariats et des programmes internationaux se sont mis en place afin d'apporter une aide financière et logistique aux pays en voie de développement qui constituent des « foyers d'émergence » de maladies, comme l'Afrique de l'Ouest et l'Asie du Sud-Est. Un des objectifs est de réduire l'impact local et international des maladies émergentes comme celui qu'a pu avoir l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013-2016. Il s'agit de mettre en place des stratégies de détection précoce et, dans l'idéal, de prévention des infections animales afin de limiter la contamination humaine et de protéger les espèces menacées. Il s'agit également de renforcer les capacités de lutte et de contrôle des épidémies pour limiter leur propagation au sein des populations humaines (Ministère des affaires étrangères et européennes, 2011 ; Kelly *et al.*, 2016).

Face à la mondialisation des risques sanitaires, le renforcement de la coopération internationale semble être un des piliers de la gestion et de la lutte contre les maladies émergentes. Elle requiert une collaboration intense entre les différents gouvernements et les différentes institutions impliqués dans la santé, le commerce, l'agriculture et l'environnement (Ministère des affaires étrangères et européennes, 2011 ; Kelly *et al.*, 2016).

CONCLUSION

De nombreux animaux sauvages, comme les chauves-souris frugivores, réservoir probable du virus, et les primates non humains, hôtes relais reconnus, jouent un rôle dans la transmission zoonotique du virus Ebola en tant que source de contamination primaire ou secondaire pour l'Homme, la transmission interhumaine assurant ensuite la propagation de la fièvre hémorragique virale. L'implication d'animaux domestiques, comme le chien et le porc, dans la transmission zoonotique du virus Ebola n'est pas prouvée mais doit tout de même être envisagée. Malgré la mise en évidence d'une séroconversion chez des chiens en région épidémique, la réceptivité et la sensibilité des carnivores domestiques sont à démontrer (Allela *et al.*, 2005). Le porc est la seule espèce d'animaux d'élevage connue à ce jour comme réceptive à l'infection par des virus Ebola (EBOV, RESV). Elle s'avère être, par ailleurs, sensible à RESV mais sa sensibilité naturelle à EBOV n'a pas été confirmée (Barrette *et al.*, 2009).

De nombreux facteurs de risque de transmission zoonotique ont été soulignés dans cette thèse. Il s'agit des activités susceptibles de favoriser la proximité de l'Homme avec des fluides biologiques infectés, en particulier le fait de garder des animaux sauvages comme animaux de compagnie, les activités liées à la viande de brousse (chasse, abattage, préparation, consommation et commercialisation de viande de brousse) ou l'appropriation du territoire africain par l'Homme. La déforestation serait le principal facteur de risque de contact de l'Homme et la faune sauvage, rendant son habitat plus accessible. S'en suit une réflexion concernant le renforcement des lois de protection des écosystèmes et de restrictions de la chasse de viande de brousse, de sa commercialisation et de son importation (Wolfe *et al.*, 2005). L'expansion démographique et la mobilité des populations jouent également un rôle important notamment au vu de la dernière épidémie d'Afrique de l'Ouest qui a eu une portée internationale.

Les modèles de transmission zoonotique du virus Ebola en Afrique ont estimé que 22 millions de personnes vivent dans les 22 pays d'Afrique Centrale et de l'Ouest où cette transmission est possible et probable (Pigott *et al.*, 2014 ; 2016). Le risque d'infection de l'homme *via* un animal reste néanmoins non prédictible. La mise en place de stratégies de détection précoce, voire de prévention des infections animales comme par exemple la perspective d'une vaccination des PNH sauvages par voie orale, rendue envisageable par des essais en laboratoire prometteurs chez l'espèce cible (Walsh *et al.*, 2017), permettrait la mise en place d'une réponse anticipée adéquate afin de protéger les espèces animales menacées par le virus mais également de limiter la contamination humaine. Une telle approche, bien que théorique, tiendrait un rôle essentiel dans la sauvegarde d'espèces et la lutte contre l'émergence des épidémies à virus Ebola. Une meilleure gestion des épidémies passe par un développement des méthodes de surveillance et de détection rapide de l'infection, ainsi que par la mise en place de mesures de contrôle de l'infection. L'objectif

actuel est d'interrompre une transmission *via* l'établissement d'une réponse rapide plus que d'empêcher l'émergence du virus au sein de la population humaine.

Les études de terrain et de laboratoire menées jusqu'à aujourd'hui ont permis d'identifier des espèces réceptives et/ou sensibles au virus ainsi que des voies de transmission intra ou inter espèces, comme par exemple entre le porc et les PNH (Weingartl *et al.*, 2012). Le développement de modèles murins permet de comprendre et d'étudier l'infection de l'Homme à EBOV. Il convient donc de continuer à mener ces études expérimentales et ces travaux de recherche afin de développer les connaissances concernant l'infection par le virus Ebola et les acteurs intervenant dans son cycle épidémiologique.

L'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013-2016 a permis de tirer de nombreux enseignements et a mis en évidence les liens complexes entre la santé humaine, animale et l'environnement, impliquant le travail conjoint des autorités de santé animale, de santé humaine et de gestion de l'environnement. Le renforcement de la coopération internationale dans le cadre de ce concept « One Health » est primordial. Il convient, par ailleurs, de ne pas ignorer le risque représenté par le continent asiatique qui constitue un foyer d'émergence de maladies zoonotique important, comme l'a montré l'épidémie mondiale due au virus du Syndrome Aigue Respiratoire Sévère (SRAS) de 2003. Ceci est d'autant plus important que des traces de RESV et d'EBOV ont été mises en évidence chez des espèces variées (porcs, macaques, orang outans, chauves-souris) dans plusieurs pays d'Asie (Chine, Philippines, Indonésie, Bangladesh...).

BIBLIOGRAPHIE

- ABERNETHY KA., COAD L., TAYLOR G., LEE ME., MAISELS F. (2013). Extent and ecological consequences of hunting in Central African rainforests in the twenty-first century. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2013;**368**.
- AKANI GC., DENDI D., LUISELLI L. (2015). Ebola virus effects on the bushmeat trade in West Africa. *Afr. J. Ecol.* 2015;**53**:613-615.
- ALIM'AGRI. Le site du ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt. Importation - Exportation de denrées animales et végétales. [en ligne]. (Mise à jour le 16/09/2016). [<http://agriculture.gouv.fr/importation-exportation-de-denrees-animales-et-vegetales>] (consulté le 17/12/2016).
- ALL AFRICA. Uganda: Travellers Eating Baboon Meat On the Gulu Highway. [en ligne]. (Mise à jour le 19/10/2016). [<http://allafrica.com/stories/201610190355.html>] (consulté le 26/10/2016).
- ALLELA L., BOURY O., POUILLOT R., DÉLICAT A., YABA P., KUMULUNGUI B., *et al.* (2005) Ebola virus antibody prevalence in dogs and human risk. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;**11**: 385–390.
- AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY (AAN). Most Ebola Survivors Examined in Study Experienced Brain Symptoms Six Months After Infection. [en ligne]. (Mise à jour le 24/02/2016). [<https://www.aan.com/PressRoom/home/PressRelease/1436>] (consulté le 18/07/2016).
- AMMAN BR, CAROLL SA., REED ZD., SEALY TK., BALINANDI S., SWANEPOEL R., *et al.* (2012) Seasonal Pulses of Marburg Virus Circulation in Juvenile *Rousettus aegyptiacus* Bats coincide with Periods of Increased Risk of Human Infection. *PLoS Pathog.* 2012;**8**.
- ANSES. (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 »*. Maisons-Alfort, France:Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail;2014.
- ANTI P., OWUSU M., AGBENYEGA O., ANNAN A., KOFI BADU E., EWALD NKRUMAH A., *et al.* (2015). Human-Bat Interactions in Rural West Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2015;**21**: 1418-1421.
- ATHERSTONE C., ROESEL K., GRACE D. (2014). *Ebola risk assessment in the pig value chain in Uganda*. ILRI Research Report 34. Nairobi, Kenya:International Livestock Research Institute;2014.
- ATHERSTONE C., SMITH E., OCHUNGO P., ROESEL K., GRACE D. (2015). Assessing the Potential Role of Pigs in the Epidemiology of Ebola Virus in Uganda. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015.
- ATUOBI SM. (2007). *Corruption and State Instability in West Africa: An Examination of Policy Options*. KAIPTC Occasional Paper. 2007.
- BAKER ML., SCHOUNTZ T., WANG LF. (2011). Antiviral Immune Responses of Bats : A Review. *Zoonoses Public Hlth.* 2011;**60**:104-116.
- BARRETTE RW, METWALLY SA., ROWLAND JM, XU L., ZAKI SR., NICHOL ST., *et al.* (2009). Discovery of Swine as a Host for the Reston ebolavirus. *Science.* 2009;**325**:204-206.

- BASLER CF., WANG X., MÜHLBERGER E., VOLCHKOV V., PARAGAS J., KLENK H-D., *et al.* (2000). The Ebola virus VP35 protein functions as a type I IFN antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000;**97**:12289-12294.
- BAUSCH DG., SCHWARZ L. (2014). Outbreak of Ebola Virus Disease in Guinea: Where Ecology Meets Economy. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014;**8**:e3056.
- BAUSCH DG., TOWNER JS., DOWELL SF., KADUCU F., LUKWIYA M., SANCHEZ A., *et al.* (2007). Assessment of the Risk of Ebola Virus Transmission from Bodily Fluids and Fomites. *J. Infect. Dis.* 2007;**196**:S142-S147.
- BBC. Ebola nurse Pauline Cafferkey « has made full recovery » [en ligne]. (Mise à jour le 12/11/2015). [<http://www.bbc.com/news/uk-scotland-34791692>] (consulté le 18/07/2016).
- BBC. Ebola nurse Pauline Cafferkey « in serious condition » [en ligne]. (Mise à jour le 09/10/2015). [<http://www.bbc.com/news/uk-scotland-34483584>] (consulté le 01/11/2015).
- BEHAVESH CB., ALVES DA., BALSAMO G., BECKHAM T., GOMEZ TM., HUGHES-GARZA H., *et al.* (2014a). *Interim Guidance for Dog or Cat Quarantine after Exposure to a Human with Confirmed Ebola Virus Disease*. USA:American Veterinary Association (AVMA) Ebola Companion Animal Response Plan Working Group;2014a.
- BEHAVESH CB., ALVES DA., BALSAMO G., BECKHAM T., GOMEZ TM., HUGHES-GARZA H., *et al.* (2014b). *Interim Guidance for Public Health Officials on Pets of Ebola Virus Disease Contacts*. USA:American Veterinary Association (AVMA) Ebola Companion Animal Response Plan Working Group;2014b.
- BERMEJO M., RODRIGUEZ-TEIJEIRO JD., ILLERA G., BARROSO A., VILA C., WALSH PD. (2006). Ebola Outbreak Killed 5000 Gorillas. *Science*. 2006;**314**:1564-1564.
- BESSON J. (2012). Le trafic de viande de brousse en France : Enjeux, règlementations et lutte. Thèse Med. Vét., Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France, 86p.
- BHAT R. ALTERNET. If Natural Ecosystems Aren't Better Protected, Deadly Diseases Like Ebola Will Spread. [en ligne]. (Mise à jour le 10/12/2016). [<http://www.alternet.org/environment/if-natural-ecosystems-arent-better-protected-deadly-diseases-ebola-will-spread>] (consulté le 26/12/2016).
- BOGOCH II., CREATORE MI., CETRON MS., BROWNSTEIN JS., PESIK N., MINIOTA J., *et al.* (2015). Assessment of the potential for international dissemination of Ebola virus via commercial air travel during the 2014 west African outbreak. *The Lancet*. 2015;**385**:29-35.
- BRAY M., DAVIS K., GEISBERT T., SCHMALJOHN C., HUGGINS J. (1998). A mouse model for evaluation of prophylaxis and therapy of Ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 1998;**178**:651-661.
- BRONNER GN., MALONEY SK, BUFFENSTEIN R. (1999). Survival tactics within thermally-challenging roosts: heat tolerance and cold sensitivity in the Angolan free-tailed bat, *Mops condylurus*. *S. Afr. J. Zool.* 1999;**34**:1-10.
- BRUDNER M., KARPEL M., LEAR C., CHEN L., YANTOSCA LM., SCULLY C. *et al.* (2013). Lectin-Dependent Enhancement of Ebola Virus Infection via Soluble and Transmembrane C-type Lectin Receptors. *PLoS ONE*. 2013;**8**.
- BURBANK RC., YOUNG JZ. (1934). Temperature changes and winter sleep of bats. *J. Physiol.* 1934;**82**:459-467.
- CALISHER CH., CHILDS JE., FIELD HE., HOLMES KV., SCHOUNTZ T. (2006). Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006;**19**:531-545.

- CÁRDENAS WB., LOO Y-M., GALE M., HARTMAN AL., KIMBERLIN CR., MARTÍNEZ-SOBRIDO L., *et al.* (2006). Ebola Virus VP35 Protein Binds Double-Stranded RNA and Inhibits Alpha/Beta Interferon Production Induced by RIG-I Signaling. *J. Virol.* 2006;**80**: 5168-5178.
- CARETTE JE., RAABEN M., WONG AC., HERBERT AS., OBERNOSTERER G., MULHERKAR N., *et al.* (2012). Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1. *Nature.* 2012;**477**:340-343.
- CARPENTER RE. (1986). Flight physiology of intermediate-sized fruit bats (Pteropodidae). *J. Exp. Biol.* 1986;**120**:79–103..
- CDB (2011). Joint Meeting of the CDB Liaison Group on Bushmeat and the CITES Central African Bushmeat Working Groupe. *Nairobi 07 June 2011* [en ligne]. <http://www.cbd.int/doc/meetings/for/lgbushmeat-02/official/lgbushmeat-02-04-en.pdf>. (consulté le 18/02/2017)
- CDC. Bringing Animal Products to United States. [en ligne]. (Mise à jour le 01/09/2016). [<https://www.cdc.gov/importation/animal-products.html>] (consulté le 17/12/2016).
- CDC. Carte de distribution de la maladie à virus Ebola. [en ligne]. (Mise à jour le 14/04/2016). [<https://francais.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/distribution-map.html>] (consulté le 17/09/2016).
- CDC. (2013). Control of Communicable Disease; Foreign-Requirements for Importers of Nonhuman Primates (NHP); Final Rule. *Fed. Regist.* 2013;**78**:11522-11545.
- CDC. Epidemiologic Notes and Reports Update: Ebola-Related Filovirus Infection in Nonhuman Primates and Interim Guidelines for Handling Nonhuman Primates during Transit and Quarantine [en ligne]. (Mise à jour le 19/01/1990). [<https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001538.htm>] (consulté le 22/12/2016).
- CDC. Taking Animals & Animal Products across International Borders. [en ligne]. (Mise à jour le 10/06/2015). [<https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/conveyance-transportation-issues/taking-animals-animal-products-across-international-borders>] (consulté le 17/12/2016).
- CHANDRAN K., SULLIVAN NJ., FELBOR U., WHELAN SP., CUNNINGHAM JM. (2005). Endosomal Proteolysis of the Ebola Virus Glycoprotein Is Necessary for Infection. *Science.* 2005;**308**:1643-1645.
- CHEPURNOV 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 Trop.* 2003;**87**:321-329.
- COWLISHAW G., MENDELSON S., ROWCLIFFE JM. (2004). The Bushmeat Commodity Chain : patterns of trade and sustainability in a mature urban market in West Africa. *ODI Wildlife Policy.* 2004;(7).
- COMMISSION EUROPEENNE. (2009). RÈGLEMENT (CE) No 206/2009 DE LA COMMISSION du 5 mars 2009 concernant l'introduction dans la Communauté de colis personnels de produits d'origine animale et modifiant le règlement (CE) no 136/2004. *Journal officiel de l'Union Européenne.* 2009;**77**.
- COMMISSION EUROPEENNE. (2014). RÈGLEMENT (UE) No 1320/2014 DE LA COMMISSION du 1er décembre 2014 modifiant le règlement (CE) no 338/97 du Conseil relatif à la protection des espèces de faune et de flore sauvages par le contrôle de leur commerce. *Journal officiel de l'Union Européenne.* 2014;**361**.

- COMMISSION EUROPEENNE. L'Union européenne adopte de nouvelles mesures sur l'importation des trophées de chasse en vue de lutter contre les pratiques illégales et non durables. [en ligne]. (Mise à jour le 05/02/2015). [http://europa.eu/rapid/press-release_IP-15-4142_fr.htm] (consulté le 29/01/2017).
- CONNOLLY BM., STEELE KE., DAVIS KJ., GEISBERT TW., KELL WM., JAAX NK., *et al.* (1999). Pathogenesis of experimental Ebola virus infection in guinea pigs. *J. Infect. Dis.* 1999;**179**:S203–S217.
- CÔTÉ M., MISASI J., REN T., BRUCHEZ A., LEE K., FILONE CM., *et al.* (2011) Small molecule inhibitors reveal Niemann–Pick C1 is essential for Ebola virus infection. *Nature.* 2011;**477**:344-348.
- CÔTÉ M., CUNNINGHAM JM. (2012). L'entrée du virus Ebola et Marburg : interaction entre la glycoprotéine virale et les facteurs cellulaires. *Virologie.* 2012;**16**:168-177.
- COVEY R., MCGRAW WS. (2014). Monkeys in a West African bushmeat market: implications for cercopithecoid conservation in eastern Liberia. *Trop. Conserv. Sci.* 2014;**7**(1):115–125.
- DABIS F., DESENCLOS JC. (2012). *Epidémiologie de terrain - Méthodes et applications.* Paris, France:John Libbey Eurotext;2012.
- DE WIT E., MUNSTER VJ., METWALLY SA., FELDMANN H. (2011). Assessment of Rodents as Animal Models for Reston Ebolavirus. *J. Infect. Dis.* 2011;**204**:S968-S972.
- DEEN GF., KNUST B., BROUTET N., SESAY FR., FORMENTY P., ROSS C., *et al.* (2015). Ebola RNA Persistence in Semen of Ebola Virus Disease Survivors — Preliminary Report. *N. Engl. J. Med.*
- DESENCLOS JC., CALAVAS D. (2015). Veille sanitaire et émergence des maladies infectieuses chez l'animal et l'Homme - concepts et définitions. *Bul. Epid.* 2015;**66**:4-6.
- DIRECTION GENERALE DES DOUANES ET DROITS INDIRECTS. Espèces de la faune et de la flore sauvages menacées d'extinction [en ligne]. (Mise à jour le 12/01/2015). [<http://www.douane.gouv.fr/articles/a11074-especes-de-la-faune-et-de-la-flore-sauvages-menacees-d-extinction>] (consulté le 28/01/2016).
- DIRECTION GENERALE DES DOUANES ET DROITS INDIRECTS. Transport de denrées d'origine animale par un voyageur [en ligne]. (Mise à jour le 14/05/2014). [<http://www.douane.gouv.fr/articles/a12007-transport-de-denrees-d-origine-animale-par-un-voyageur>] (consulté le 29/01/2016).
- EBIHARA H., TAKADA A., KOBASA D., JONES S., NEUMANN G., THERIAULT S., *et al.* (2006). Molecular Determinants of Ebola Virus Virulence in Mice. *PLoS Pathog.* 2006;**2**.
- EBIHARA H., ZIVCEC M., GARDNER D., FALZARANO D., LACASSE R., ROSENKE R., *et al.* (2013). A Syrian Golden Hamster Model Recapitulating Ebola Hemorrhagic Fever. *J. Infect. Dis.* 2013;**207**:306-318.
- EFSA. (2014). Scientific report of EFSA. An update on the risk of transmission of Ebola virus (EBOV) via the food chain. *EFSA Journal.* 2014;**12**:3884,25p.
- EGBETADE AO., SONIBARE AO., MESEKO CA., JAYEOLA OA., OTESILE EB. (2015). Implications of Ebola virus disease on wildlife conservation in Nigeria. *Pan Afr. Med. J.* 2015;**22**(16).
- 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 Pathog.* 2014;**10**.
- EUR-Lex. DIRECTIVE 92/65/CEE DU CONSEIL du 13 juillet 1992 définissant les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans la Communauté

- d'animaux, de spermés, d'ovules et d'embryons non soumis, en ce qui concerne les conditions de police sanitaire, aux réglementations communautaires spécifiques visées à l'annexe A section I de la directive 90/425/CEE [en ligne]. [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:01992L0065-20141229>] (consulté le 28/01/2017).
- EUROPEAN COMMISSION. Other live animals [en ligne]. (Mise à jour le 27/01/2017). [http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/other_en] (consulté le 28/01/2017).
- EUROPEAN COMMISSION. Animals used for scientific purposes [en ligne]. (Mise à jour le 23/01/2017). [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/index_en.htm] (consulté le 28/01/2017).
- FAO. (2015). *Addressing Zaire Ebola virus (EBV) outbreaks. Rapid qualitative exposure and release assessment*. Rome, Italie: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2015.
- FELDMANN H., GEISBERT TW. (2011). Ebola haemorrhagic fever. *The Lancet*. 2011;**377**:849-862.
- FIGARO. Ebola: un bébé contaminé par le lait de sa mère [en ligne]. (Mise à jour le 14/12/2016). [<http://sante.lefigaro.fr/article/ebola-un-bebe-contamine-par-le-lait-de-sa-mere>] (consulté le 26/12/16).
- FLYNN G., SCUTTI S. Smuggled Bushmeat Is Ebola's Back Door to America. [en ligne]. (Mise à jour le 29/08/2014). [<http://europe.newsweek.com/smuggled-bushmeat-ebolass-back-door-america-265668?rm=eu>] (consulté le 01/09/2016).
- FORMENTY P., HATZ C., LE GUENNO B., STOLL A., ROGENMOSER P., WIDMER A. (1999). Human Infection Due to Ebola Virus, Subtype Côte d'Ivoire: Clinical and Biologic Presentation. *J. Infect. Dis.* 1999;**179**:S48-S53.
- 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 Pathog.* 2010;**6**.
- GATUNE J. Bushmeat, protein and Ebola. [en ligne]. (Mise à jour le 01/12/2016). [<http://newafricanmagazine.com/bushmeat-protein-ebola/>] (consulté le 15/12/2016).
- GROSETH A., FELDMANN H., STRONG JE. (2007). The ecology of Ebola virus. *Trends Microbiol.* 2007;**15**:408-416.
- GUMUSOVA S., SUNBUL M., LEBLEBICIOGLU H. (2015). Ebola virus disease and the veterinary perspective. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2015.
- HAASNOOT J., DE VRIES W., GEUTJES E-J., PRINS M., DE HAAN P., BERKHOUT B. (2007). The Ebola Virus VP35 Protein Is a Suppressor of RNA Silencing. *PLoS Pathog.* 2007;**3**(6).
- HAN BA., SCHMIDT JP., ALEXANDER LW., BOWDEN SE., HAYMAN DT., DRAKE JM. (2016a). Undiscovered bat hosts of filoviruses. *PLOS Negl Trop Dis.* 2016;**10**.
- HAN Z., BART SM., RUTHEL G., VANDE BURGT NH., HAINES KM., VOLK SW., *et al.* (2016b). Ebola virus mediated infectivity is restricted in canine and feline cells. *Vet. Microbiol.* 2016;**182**:102-107.
- HERBERT AS., DAVIDSON C., KUEHNE AI., BAKKEN R., BRAIGEN SZ., GUNN KE., *et al.* (2015). Niemann-Pick C1 Is Essential for Ebolavirus Replication and Pathogenesis *In Vivo*. *mBio*. 2015;**6**.
- HERREID CF II. (1963). Temperature regulation and metabolism in Mexican freetail bats. *Science*. 1963;**142**:1573-1574.

- HUNT CL., LENNEMANN NJ., MAURY W. (2012). Filovirus Entry: A Novelty in the Viral Fusion World. *Viruses*. 2012;**4**:258-275.
- INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM). Diagnostic rapide d’Ebola : le test eZYSCREEN® fait ses preuves sur le terrain. [en ligne], (Mise à jour le 8/10/2015). [<http://presse.inserm.fr/diagnostic-rapide-debola-le-test-ezyscreen-fait-ses-preuves-sur-le-terrain/20930/>] (consulté le 15/11/2015).
- IUCN. (2015). *Plan d’action régional pour la conservation des gorilles de plaine de l’Ouest et des chimpanzés d’Afrique centrale 2015–2025*. Gland, Suisse:Groupe de spécialistes des primates de la CSE/UICN;2015.
- IRIN. Bassin du Congo : un réservoir de biodiversité menacé de disparition. [en ligne], (Mise à jour le 16/02/2005). [<http://www.irinnews.org/fr/actualit%C3%A9s/2005/02/16/bassin-du-congo-un-r%C3%A9servoir-de-biodiversit%C3%A9-menac%C3%A9-de-disparition>] (consulté le 26/12/2016).
- JAAX N., JAHRLING P., GEISBERT T., STEELE K., MCKEE K., NAGLEY D. *et al.* (1995). Transmission of Ebola virus (Zaire strain) to uninfected control monkeys in a biocontainment laboratory. *Lancet*. 1995;**346**:1669-1671.
- JAHRLING PB., GEISBERT TW., JAAX NK., HANES MA., KSIAZEK TG., PETERS CJ. (1996). Experimental infection of cynomolgus macaques with Ebola-Reston filoviruses from the 1989–1990 US epizootic. *Arch. Virol*. 1996;**11**:115-134.
- JAHRLING PB., GEISBERT TW., JAAX NK., DALGARD DW., JOHNSON ED., KSIAZEK TG., *et al.* (1990). Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. *The Lancet*. 1990;**335**:502-505.
- JANSSEN PHARMACEUTICA NV. New Idylla™ Ebola Virus Triage Test Granted Emergency Use Authorization by U.S. FDA. [en ligne]. (Mise à jour le 01/06/2016) [<http://www.prnewswire.com/news-releases/new-idylla-ebola-virus-triage-test-granted-emergency-use-authorization-by-us-fda-300277380.html>] (consulté le 21/06/2016).
- JAYME SI., FIELD HE., DE JONG C., OLIVAL KJ., MARSH G., TAGTAG AM., *et al.* (2015). Molecular evidence of Ebola Reston virus infection in Philippine bats. *Virology*. 2015;**12**.
- JOHNSON E., JAAX N., WHITE J., JAHRLING P. (1995). Lethal experimental infections of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus. *Int. J. Exp. Pathol*. 1995;**76**:227-236.
- JORI F., BASTOS ADS. (2009). Role of Wild Suids in the Epidemiology of African Swine Fever. *EcoHealth*. 2009;**6**:296-310.
- KAMINS AO., RESTIF O., NTIAMOA-BAIDU Y., SUU-IRE R., HAYMAN DTS., CUNNINGHAM AA., *et al.* (2011). Uncovering the fruit bat bushmeat commodity chain and the true extent of fruit bat hunting in Ghana, West Africa. *Biol. Conserv*. 2011;**144**:3000-3008.
- KELLY TR., KARESH WB., JOHNSON CK., GILARDI KVK., ANTHONY SJ., GOLDSTEIN T., *et al.* (2016). One Health proof of concept : Bringing a transdisciplinary approach to surveillance for zoonotic viruses at the human-wild animal interface. *Prev. Vet. Med.*, In press.
- KOBINGER GP., LEUNG A., NEUFELD J., RICHARDSON JS., FALZARANO D., SMITH G., *et al.* (2011). Replication, Pathogenicity, Shedding, and Transmission of Zaire ebolavirus in Pigs. *J. Infect. Dis*. 2011;**204**:200-208.
- KUHN JH. (2008). Filoviruses. A compendium of 40 years of epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Arch Virol Suppl*. 2008;**20**:13-360.

- KUHN JH., BÀO Y., BAVARI S., BECKER S., BRADFUTE S., BRAUBURGER K., *et al.* (2014). Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for filovirus strains and variants rescued from cDNA. *Arch. Virol.* 2014;**159**:1229-1237.
- LAHM SA., KOMBILA M., SWANEPOEL R., BARNES RFW. (2007). Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2007;**101**:64-78.
- LANKAU EW., TURNER PV., MULLAN RJ., GALLAND GG. (2014). Use of Nonhuman Primates in Research in North America. *J. Am. Assoc. Lab. Anim.* 2014;**53**:278-282.
- LEE TM., SIGOUIN A., PINEDO-VASQUEZ M., NASI R. (2014). *The harvest of wildlife for bushmeat and traditional medicine in East, South and Southeast Asia: Current knowledge base, challenges, opportunities and areas for future research.* Occasional Paper 115. Bogor, Indonesia:Center for International Forestry Research;2014.
- LEGIFRANCE. Arrêté du 1er février 2013 fixant les conditions d'agrément, d'aménagement et de fonctionnement des établissements utilisateurs, éleveurs ou fournisseurs d'animaux utilisés à des fins scientifiques et leurs contrôles. [en ligne]. (Mise à jour le 28/01/2017).
[<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027037983&astPos=1&fastReqId=2076694951&categorieLien=cid&oldAction=rechTexte>]
(consulté le 28/01/2017).
- LEGRUM L. (2012). Le commerce de viande de brousse en Afrique Subsaharienne et dans le monde. Des causes. Des conséquences. Des solutions? Thèse Med. Vét., Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France, 174p.
- LEITNER P. (1966). Body temperature, oxygen consumption, heart rate and shivering in the California mastiff bat, *Eumops perotis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1966;**19**:431–43.
- LEROY E., BAIZE S., GONZALEZ JP. (2011). Les fièvres hémorragiques à virus Ebola et Marburg : l'actualité des filovirus. *Med. Trop.* 2011;**71**:111-121.
- LEROY EM., EPELBOIN A., MONDONGE V., POURRUT X., GONZALEZ JP., MUYEMBE-TAMFUM JJ., *et al.* (2009). Human Ebola Outbreak Resulting from Direct Exposure to Fruit Bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector-Borne Zoonot.* 2009;**9**(6):723-728.
- LEROY EM., KUMULUNGUI B., POURRUT X., ROUQUET P., HASSANIN A., YABA P., *et al.* (2005). Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 2005;**438**:575–576.
- LEROY EM., ROUQUET P., FORMENTY P., SOUQUIÈRE S., KILBOURNE A., FROMENT J-M., *et al.* (2004a). Multiple Ebola Virus Transmission Events and Rapid Decline of Central African Wildlife. *Science.* 2004;**303**:387-390.
- LEROY EM., TELFER P., KUMULUNGUI B., YABA P., ROUQUET P., ROQUES P., *et al.* (2004b). A Serological Survey of Ebola Virus Infection in Central African Nonhuman Primates. *J. Infect. Dis.* 2004;**190**:1895-1899.
- LU F., LIANG Q., ABI-MOSLEH L., DAS A., DE BRABANDER JK., GOLDSTEIN JL., *et al.* (2015). Identification of NPC1 as the target of U18666A, an inhibitor of lysosomal cholesterol export and Ebola infection. *Elife.* 2015;**4**.
- MAHANTY S., BRAY M. (2004). Pathogenesis of filoviral haemorrhagic fevers. *Lancet Infect. Dis.* 2004;**4**:487-498.
- MALHI Y., ADU-BREDU S., ASARE RA., LEWIS SL., MAYAUX P. (2013). The past, present and future of Africa's rainforests. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2013;**368**.

- MANN E., STRENG S., BERGERON J., KIRCHER A. (2015). A Review of the Role of Food and the Food System in the Transmission and Spread of Ebolavirus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015;**9**.
- MARI SAEZ A., WEISS S., NOWAK K., LAPEYRE V., ZIMMERMANN F., DUX A., *et al.* (2015). Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol. Med.* 2015;**7**:17-23.
- MARSH GA., HAINING J., ROBINSON R., FOORD A., YAMADA M., BARR JA., *et al.* (2011). Ebola Reston Virus Infection of Pigs: Clinical Significance and Transmission Potential. *J. Infect. Dis.* 2011;**204**: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. *J. Virol.* 2010;**84**:1169-1175.
- MCNAMARA J., KUSIMI JM., ROWCLIFFE JM., COWLISHAW G., BRENYAH A., MILNER-GULLAND EJ. (2015). Long-term spatio-temporal changes in a West African bushmeat trade system: Changes in a West African Bushmeat Trade System. *Conserv. Biol.* 2015;**29**:1446-1457.
- MEKIBIB B., ARIËN K. (2016). Aerosol Transmission of Filoviruses. *Viruses.* 2016;**8**.
- MICKLEBURGH S., WAYLEN K., RACEY P. (2009). Bats as bushmeat: a global review. *Oryx.* 2009;**43**:217-234.
- MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORET (2013). Arrêté du 1er février 2013 fixant les conditions de fourniture de certaines espèces animales utilisées à des fins scientifiques aux établissements utilisateurs agréés. *Journal Officiel de la République française.* 2013;**28**.
- MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORET. Information : Importation sur le territoire communautaire des animaux de compagnie en provenance de pays tiers à l'Union européenne. [en ligne]. (Mis à jour le 05/02/2015).[<http://agriculture.gouv.fr/telecharger/54669?token=6f23cd3da46f08e46b53e505a9fb98ff>] (Consulté le 10/01/2017).
- MINISTERE DE L'ECOLOGIE, DU DEVELOPPEMENT DURABLE ET DE L'ENERGIE (2013). Dossier de presse - Table ronde "Lutte contre le braconnage et le trafic des espèces menacées". *Sommet de l'Elysée pour la Paix et la Sécurité en Afrique.* 5 décembre 2013, Paris.
- MINISTERE DES AFFAIRES ETRANGERES ET EUROPEENNES (2011). *Position française sur le concept "One Health/Une seule santé" : pour une approche intégrée de la santé face à la mondialisation des risques sanitaires.* France:Ministère des affaires étrangères et européennes;2011.
- MORRISON P. (1959). Body temperatures in some Australian mammals. I. Chiroptera. *Bio.l Bull.* 1959;**116**:484-497.
- MORRISON P., MCNAB BK. (1967). Temperature regulation in some Brazilian phyllostomid bats. *Comp. Biochem. Physiol.* 1967;**21**:207-221.
- MORVAN JM., DEUBEL V., GOUNON P., NAKOUNÉ E., BARRIÈRE P., MURRI S., *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 Infect.* 1999;**1**:1193-1201.
- MOSSOUN A., PAULY M., AKOUA-KOFFI C., COUACY-HYMANN E., LEENDERTZ SAJ., ANOH AE., *et al.* (2015). Contact to Non-human Primates and Risk Factors for Zoonotic Disease Emergence in the Taï Region, Côte d'Ivoire. *EcoHealth.* 2015;**12**:580-591.

- MWANATAMBWE M., YAMADA N., ARAI S., SHIMIZU-SUGANUMA M., SHICHINOHE K., ASANO G. (2001). Ebola Hemorrhagic Fever (EHF) : Mechanism of Transmission and Pathogenicity. *J. Nippon Med. Sch.* 2001;**68**:370-375.
- NAKAYAMA E., SAIJO M. (2013). Animal models for Ebola and Marburg virus infections. *Front. Microbiol.* 2013;**4**.
- NASI R., BROWN D., WILKIE D., BENNET E., TUTIN C., VAN TOL G., *et al.* (2008). Conservation and use of wildlife-based resources: the bushmeat crisis. *Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal, and Center for International Forestry Research (CIFOR), Bogor. Technical.*
- NEGREDO A., PALACIOS G., VÁZQUEZ-MORÓN S., GONZÁLEZ F., DOPAZO H., MOLERO F., *et al.* (2011). Discovery of an Ebolavirus-Like Filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011;**7**.
- NIDOM CA., NAKAYAMA E., NIDOM RV., ALAMUDI MY., DAULAY S., DHARMAYANTI INLP., *et al.* (2012). Serological Evidence of Ebola Virus Infection in Indonesian Orangutans. *PLoS ONE.* 2012;**7**.
- NYAKARAHUKA L., KANKYA C., KRONTVEIT R., MAYER B., MWIINE FN., LUTWAMA J. *et al.* (2016). How severe and prevalent are Ebola and Marburg viruses? A systemic review and meta-analysis of the case fatality rates and seroprevalence. *BMC Infect. Dis.* 2016;**16**.
- O'FARELL MJ., BRADLEY WG. (1977). Comparative thermal relationships of flight for some bats in southwestern United States. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 1977;**58**:223–227.
- O'SHEA T., CRYAN PM., CUNNINGHAM AA., FOOKS AR., HAYMAN DTS., LUIS AD., *et al.* (2014). Bat Flight and Zoonotic Viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 2014;**20**:741-745.
- OIE. (2015). Ebola Virus Disease. [en ligne]. (Mise à jour le 05/02/2015). [www.oie.int/.../docs/pdf/Disease_cards/Ebola_fact_sheet_EN_Final.pdf] (consulté le 20/06/2016).
- OIE. Mesures de quarantaine applicables aux primates non humains. [en ligne]. [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=1&htmfile=chapitre_quarant_non_huma_primates.htm#chapitre_quarant_non_huma_primates] (consulté le 29/01/2017).
- OIE. Normes internationales. [en ligne]. [<http://www.oie.int/fr/normes-internationales/presentation/>] (consulté le 29/01/2017).
- OIE. Zoonoses transmissibles par les primates non humains. [en ligne]. [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=1&htmfile=chapitre_zoonoses_non_huma_n_primate.htm#article_zoonoses_non_human_primate.4.] (consulté le 29/01/2017).
- OLIVAL K., HAYMAN D. (2014). Filoviruses in Bats: Current Knowledge and Future Directions. *Viruses.* 2014;**6**:1759-1788.
- OLIVAL KJ., ISLAM A., YU M., ANTHONY SJ., EPSTEIN JH., KHAN SA., *et al.* (2013). Ebola Virus Antibodies in Fruit Bats, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;**19**:270-273.
- OLSON SH., REED P., CAMERON KN., SSEBIDE BJ., JOHNSON CK., MORSE SS., *et al.* (2012). Dead or alive: animal sampling during Ebola hemorrhagic fever outbreaks in humans. *Emerg. Health Threats J.* 2012;**5**.
- OMS. Ce que l'on sait à propos de la transmission interhumaine du virus Ebola. [en ligne]. (Mise à jour le 06/10/2014). [<http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/06-october-2014/fr/>] (consulté le 26/12/2016).
- OMS. Ebola: des fragments de virus peuvent persister dans le sperme pendant au moins 9 mois. [en ligne]. (Mise à jour le 14/10/2015). [<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/ebola-virus-persistence/fr/>] (consulté le 18/07/2016).

- OMS. Ebola: les tests de dépistage rapide sont prometteurs. [en ligne]. (Mise à jour le 02/04/2015). [<http://www.who.int/bulletin/volumes/93/4/15-020415/fr/>] (consulté le 21/06/2016).
- OMS. Flambée de maladie à virus Ebola: une riposte en trois phases. [en ligne]. (Mise à jour en janvier 2016). [<http://www.who.int/csr/disease/ebola/response/phases/fr/>] (consulté le 21/06/2016).
- OMS. Guide OMS pour la préparation et la riposte aux épidémies : fièvre hémorragique à virus Ebola. [en ligne]. [http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_EMCDIS_97.7_fre.pdf] (consulté le 20/09/2016).
- OMS. Lutte contre la fièvre hémorragique a virus Ebola: Des laboratoires mobiles sur le terrain. [en ligne]. (Mise à jour le 10/09/2014). [<http://www.afro.who.int/guinee/press-materials/item/6485-lutte-contre-la-fièvre-hémorragique-a-virus-ebola-des-laboratoires-mobiles-sur-le-terrain.html?lang=fr>] (consulté le 01/11/2015).
- OMS. Maladie à virus Ebola. [en ligne]. [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/fr/>] (consulté le 07/10/2015).
- OMS. Tout a commencé en Guinée: l'épidémie a continué à couvrir – sans être détectée – pendant plus de trois mois. [en ligne]. [<http://www.who.int/csr/disease/ebola/ebola-6-months/guinea/fr/>] (consulté le 28/10/2015).
- OMS. Une année d'épidémie d'Ebola: un virus mortel, tenace et impitoyable. [en ligne]. (Mise à jour en janvier 2015). [<http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/introduction/fr/>] (consulté le 30/09/2015).
- OMT. Déclaration sur les voyages et les transports en rapport avec l'épidémie de maladie à virus Ebola (EVD) [En ligne]. (Mise à jour le 18/04/2014). [<http://media.unwto.org/fr/press-release/2014-08-19/declaration-sur-les-voyages-et-les-transports-en-rapport-avec-l-epidemie-de>] (consulté le 17/12/2016).
- ORLANDO SENTINEL. Ebola stayed in semen of man for 565 days, raising new concerns. [en ligne]. (Mise à jour le 31/08/2016). [<http://www.orlandosentinel.com/news/nationworld/ct-ebola-man-semen-20160831-story.html>] (consulté le 13/12/2016).
- OSTERHOLM MT., MOORE KA., KELLEY NS., BROSSEAU LM., WONG G., MURPHY FA., *et al.* (2015). Transmission of Ebola Viruses: What We Know and What We Do Not Know: Table 1. *mBio*. 2015;**6**(2).
- PAIGE SB., FROST SDW., GIBSON MA., JONES JH., SHANKAR A., SWITZER WM., *et al.* (2014). Beyond Bushmeat: Animal Contact, Injury, and Zoonotic Disease Risk in Western Uganda. *EcoHealth*. 2014;**11**:534-543.
- PAN Y., ZHANG W., CUI L., HUA X., WANG M., ZENG Q. (2014). Reston virus in domestic pigs in China. *Arch. Virol.* 2014;**159**:1129-1132.
- PANCHAL RG., BRADFUTE SB., PEYSER BD., WARFIELD KL., RUTHEL G., LANE D., *et al.* (2009). Reduced Levels of Protein Tyrosine Phosphatase CD45 Protect Mice from the Lethal Effects of Ebola Virus Infection. *Cell Host Microbe*. 2009;**6**:162-173.
- PARTENARIAT POUR LES FORETS DU BASSIB DU CONGO. Le partenariat. [en ligne]. (Mise à jour le 29/12/2016). [<http://pfbcbcfp.org/partenariat.html>] (consulté le 29/12/2016).

- PERRY DL., BOLLINGER L., L.WHYTE G. (2012). The Baboon (*Papio* spp.) as a Model of Human Ebola Virus Infection. *Viruses*. 2012;**4**:2400-2416.
- PETERSON AT., BAUER JT., MILLS JN. (2004a). Ecologic and geographic distribution of filovirus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2004;**10**:40-47.
- PETERSON AT., CAROLL DS., MILLS JN., JOHNSON KM. (2004b). Potential Mammalian Filovirus Reservoirs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004;**10**:2073-2081.
- PETERSON AT., PAPES M., CAROLL DS., LEIRS H., JOHNSON KM. (2007). Mammal Taxa Constituting Potential Coevolved Reservoirs of filoviruses. *J. of mammalogy*. 2007;**88**:1544-1554.
- PICARD-MEYER E., MOUTOU F., CROYERE A., ROSIERES X., CLIQUET F. (2015). Risque d'introduction de maladies exotiques liés à l'importation de chauves-souris et de leur produits. *Bulletin épidémiologique*. 2015;**66**:40-43.
- PIGOTT DM., GOLDING N., MYLNE A., HUANG Z., HENRY AJ., WEISS DJ., *et al.* (2014). Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *eLife*. 2014;**3**.
- PIGOTT DM., MILLEAR AI., EARL L., MOROZOFF C., HAN BA., SHEARER FM., *et al.* (2016). Updates to the zoonotic niche map of Ebola virus disease in Africa. *eLife*. 2016;**5**.
- POURRUT X., DÉLICAT A., ROLLIN PE., KSIAZEK TG., GONZALEZ J -P., LEROY EM. (2007). Spatial and Temporal Patterns of *Zaire ebolavirus* Antibody Prevalence in the Possible Reservoir Bat Species. *J. Infect. Dis.* 2007;**196**:S176-S183.
- PRESCOTT J., BUSHMAKER T., FISCHER R., MIAZGOWICZ K., JUDSON S., MUNSTER VJ. (2015). Postmortem Stability of Ebola Virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2015;**21**:856-859.
- PRINS KC., CARDENAS WB., BASLER CF. (2009). Ebola Virus Protein VP35 Impairs the Function of Interferon Regulatory Factor-Activating Kinases IKK ϵ and TBK-1. *J. Virol.* 2009;**83**: 3069-3077.
- RASMUSSEN AL., OKUMURA A., FERRIS MT., GREEN R., FELDMANN F., KELLY SM., *et al.* (2014). Host genetic diversity enables Ebola hemorrhagic fever pathogenesis and resistance. *Science*. 2014;**346**:987-991.
- REED PE., MULANGU S., CAMERON KN., ONDZIE AU., JOLY D., BERMEJO M., *et al.* (2014). A New Approach for Monitoring Ebolavirus in Wild Great Apes. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014;**8**.
- REEDER WG., COWLES RB. (1951). Aspects of thermoregulation in bats. *J. Mammal.* 1951;**32**:389-403.
- REID SP., LEUNG LW., HARTMAN AL., MARTINEZ O., SHAW ML., CARBONNELLE C., *et al.* (2006). Ebola Virus VP24 Binds Karyopherin α 1 and Blocks STAT1 Nuclear Accumulation. *J. Virol.* 2006;**80**:5156-5167.
- REUTERS. British nurse who recovered from Ebola back in hospital. [en ligne]. (Mise à jour le 23/02/2016). [<http://www.reuters.com/article/us-health-ebola-britain-nurse-idUSKCN0VW0W2>] (consulté le 18/07/2016).
- REYNARD O. (2008). Etude d'une région de la protéine virale VP40 critique pour le bourgeonnement du virus Ebola et la sécrétion de VP40 sous forme soluble. Mémoire de fin d'étude. Ecole Pratique des Hautes Etudes. France, 32p.
- ROBERTS JA., ANDREWS K. (2008). Nonhuman primate quarantine: its evolution and practice. *ILAR J.* 2008;**49**:145-156.
- ROGER F., PEETERS M., PLÉE L., BOURGAREL M. (2016). La maladie à virus Ebola: pathosystèmes forestiers et risques zoonotiques. *Bulletin Epidémiologique*. 2016;**73**: 20-22.

- ROLLIN PE., WILLIAMS RJ., BRESSLER DS., PEARSON S., COTTINGHAM M., PUCAK G., *et al.* (1999). Ebola (subtype Reston) virus among quarantined nonhuman primates recently imported from the Philippines to the United States. *J. Infect. Dis.* 1999;**179**: 108–114.
- ROUQUET P., FROMENT J-M., BERMEJO M., KILBOURN A., KARESH W., REED P., *et al.* (2005). Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;**11**:283–90.
- ROVERUD RC., CHAPPELL MA. (1991). Energetic and thermoregulatory aspects of clustering behavior in the neotropical bat *Noctilio albiventris*. *Physiol. Zool.* 1991;**64**:1527–1541.
- RUSSIER M. (2013). Cellules NK et fièvres hémorragiques virales : étude de leur rôle dans la mise en place des réponses immunes et dans la pathogenèse lors de l'infection par les virus Lassa et Ebola. Thèse Univ. ENS Lyon, France, 242p.
- SAYAMA Y., DEMETRIA C., SAITO M., AZUL RR., TANIGUCHI S., FUKUSHI S., *et al.* (2012). A seroepidemiologic study of Reston ebolavirus in swine in the Philippines. *BMC Vet. Res.* 2012;**8**.
- SCHOU S., Hansen AK. (2000). Marburg and Ebola Virus Infections in Laboratory Non-human Primates : A Literature Review. *Comparative Med.* 2000;**50**:108-123.
- SIMMONS G., REEVES JD., GROGAN CC., VANDENBERGHE LH., BARIBAUD F., WHITBECK JC., *et al.* (2003). DC-SIGN and DC-SIGNR Bind Ebola Glycoproteins and Enhance Infection of Macrophages and Endothelial Cells. *Virology.* 2003;**305**:115-123.
- SMITH KM., ANTHONY SJ., SWITZER WM., EPSTEIN JH., SEIMON T., JIA H., *et al.* (2012). Zoonotic Viruses Associated with Illegally Imported Wildlife Products. *PLoS ONE.* 2012;**7**(1).
- SPENGLER JR., STONECIPHER S., MCMANUS C., HUGHES-GARZA H., DOW M., ZORAN DL., *et al.* (2015). Management of a pet dog after exposure to a human patient with Ebola virus disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2015;**247**:531–538.
- SPENGLER JR., ERVIN ED., TOWNER JS., ROLLIN PE., NICHOL ST. (2016). Perspectives on West Africa Ebola Virus Disease Outbreak, 2013-2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2016;**22**:956–963.
- SULLIVAN NJ., PETERSON M., YANG Z., KONG W., DUCKERS H., NABEL E., *et al.* (2005). Ebola Virus Glycoprotein Toxicity Is Mediated by a Dynamin-Dependent Protein-Trafficking Pathway. *J. Virol.* 2005;**79**:547-553.
- SWITZER W., TANG S., AHUKA-MUNDEKE S., SHANKAR A., HANSON DL., ZHENG H., *et al.* (2012). Novel simian foamy virus infections from multiple monkey species in women from the Democratic Republic of Congo. *Retrovirology.* 2012;**9**.
- TAPANES E., DETWILER KM., CORDS M. (2016). Bat Predation by *Cercopithecus* Monkeys : Implications for Zoonotic Disease Transmission. Short communication. *EcoHealth.* 2016;**5**.
- THE CONVERSATION. How an Ebola campaign in Nigeria discouraged bushmeat consumption. [en ligne]. (Mise à jour le 30/10/2016). [<https://theconversation.com/how-an-ebola-campaign-in-nigeria-discouraged-bushmeat-consumption-67733>] (consulté le 14/12/2016).
- THOMAS SP., SUTHERS RA. (1972). The physiology and energetics of bat flight. *J. Exp Biol.* 1972;**57**:317–335.
- TOWNER JS., AMMAN BR., SEALY TK., CARROLL SAR., COMER JA., KEMP A., *et al.* (2009). Isolation of Genetically Diverse Marburg Viruses from Egyptian Fruit Bats. *PLoS Pathog.* 2009;**5**.

- TOWNER JS., SEALY TK., KHRISTOVA ML., ALBARIÑO CG., CONLAN S., REEDER SA., *et al.* (2008). Newly Discovered Ebola Virus Associated with Hemorrhagic Fever Outbreak in Uganda. *PLoS Pathog.* 2008;**4**.
- TRAFFIC. The TRAFFIC Programme. [en ligne]. [<http://www.traffic.org/traffic-programme/>] (consulté le 03/02/2017).
- TRAFFIC. Wild animals for food and medicine. [en ligne]. [<http://www.traffic.org/wild-meat/>] (consulté le 03/02/2017).
- TWENHAFEL NA., SHAIA CI., BUNTON TE., SHAMBLIN JD., WOLLEN SE., PITT LM., *et al.* (2015). Experimental Aerosolized Guinea Pig-Adapted Zaire Ebolavirus (Variant: Mayinga) Causes Lethal Pneumonia in Guinea Pigs. *Vet. Pathol.* 2015;**52**:21-25.
- U.S. AGENCY FOR INTERNATIONAL DEVELOPMENT. Emerging Pandemic Threats 2 Program. [en ligne]. (Mise à jour le 11/01/2016). [<https://www.usaid.gov/news-information/fact-sheets/emerging-pandemic-threats-2-program>] (consulté le 22/12/2016).
- VANGUARD NEWS. Ebola: Bush meat business booms in Lagos [en ligne]. (Mise à jour le 05/11/2016). [<http://www.vanguardngr.com/2016/11/ebola-bush-meat-business-booms-lagos/>] (consulté le 15/12/2016).
- VOGEL G. Bat-filled tree may have been ground zero for the Ebola epidemic. [en ligne]. [<http://www.sciencemag.org/news/2014/12/bat-filled-tree-may-have-been-ground-zero-ebola-epidemic>] (consulté le 06/06/2016).
- VOIGT CC., LEWANZIK D. (2011). Trapped in the darkness of the night: thermal and energetic constraints of daylight flight in bats. *Proc Biol Sci.* 2011;**278**:2311-7.
- WACHARAPLUESADEE S., OLIVAL KJ., KANCHANASAKA B., DUENGKAE P., KAEWCHOT S., SRONGMONGKOL P., *et al.* (2015). Surveillance for Ebola Virus in Wildlife, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* 2015;**21**:2271-2273.
- WALSH PD., KURUP D., HASSELSCHWERT DL., WIRBLICH C., GOETZMANN JE, SCHNELL MJ. (2017). The Final (Oral Ebola) Vaccine Trial on Captive Chimpanzees?. *Sci. Rep.* 2017;**7**.
- WANG L-F., WALKER PJ., POON LLM. (2011). Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats 'special' as reservoirs for emerging viruses?. *Curr. Opin. Virol.* 2011;**1**:649-657.
- WEST J., MCDONNELL T., We Are Making Ebola Outbreaks Worse by Cutting Down Forests. [en ligne]. (Mise à jour le 07/07/2014). [<http://www.motherjones.com/environment/2014/07/we-are-making-ebola-worse>] (consulté le 18/08/2016).
- WEINGARTL HM., NFON C., KOBINGER G. (2013). Review of Ebola Virus Infections in Domestic animals. *Dev. Biol.* 2013;**135**:211-218.
- 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.* 2012;**2**(811).
- WHO. First Antigen Rapid Test for Ebola through Emergency Assessment and Eligible for Procurement. [en ligne]. [http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/1st_antigen_RT_Ebola/en/#] (consulté le 15/11/2015).
- WILLIS CKR., BRIGHAM RM. (2003). Defining torpor in free-ranging bats : experimental evaluation of external temperature-sensitive radiotransmitters and the concept of active temperature. *J. Comp. Physiol. B.* 2003;**173**:379-389.

- WOLFE ND., DASZAK P., KILPATRICK AM., BURKE DS. (2005). Bushmeat hunting, deforestation, and prediction of zoonotic disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;**11**:1822–1827.
- WOLFE ND., DUNAVAN CP., DIAMOND J. (2007). Origins of major human infectious diseases. *Nature.* 2007;**447**:279-283.
- WOLFE ND., PROSSER TA., CARR JK., TAMOUFE U., MPOUDI-NGOLE E., TORIMIRO JN., *et al.* (2004). Exposure to nonhuman primates in rural Cameroon. *Emerg. Infect. Dis.* 2004;**10**(12):2094–2099.
- WONG G., QIU X., RICHARDSON JS., CUTTS T., COLLIGNON B., GREN J., *et al.* (2015). Ebola Virus Transmission in Guinea Pigs. *J. Virol.* 2015;**89**:1314-1323.
- WOOL-LEWIS RJ., BATES P. (1998). Characterization of Ebola Virus Entry by Using Pseudotyped Viruses: Identification of Receptor-Deficient Cell Lines. *J. Virol.* 1998;**72**:3155-3160.
- YANG ZY., DUCKERS HJ., SULLIVAN NJ., SANCHEZ A., NABEL EG., NABEL GJ., *et al.* (2000). Identification of the Ebola virus glycoprotein as the main viral determinant of vascular cell cytotoxicity and injury. *Nat. Med.* 2000;**6**:886-889.
- YUAN J., ZHANG Y., LI J., ZHANG Y., WANG L-F., SHI Z. (2012). Serological evidence of ebolavirus infection in bats, China. *Virol. J.* 2012;**9**.
- ZHANG G., COWLED C., SHI Z., HUANG Z., BISHOP-LILLY KA., FANG X., *et al.* (2013). Comparative Analysis of Bat Genomes Provides Insight into the Evolution of Flight and Immunity. *Science.* 2013;**339**:456-460.
- ZHANG L., WANG H. (2014). Forty years of the war against Ebola. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2014;**15**:761-765.

Annexe 1 : Frise chronologique des flambées de maladie à virus Ebola de 1976 à aujourd'hui

Les flambées sont présentées sur la frise avec l'année et le pays d'apparition ainsi que l'espèce de virus Ebola mise en cause. D'autres cas recensés, mais n'ayant pas donné lieu à une flambée, ont été ajoutés ainsi que les dates clés de découverte de nouvelles espèces.



Annexe 2 : Recensement des foyers de maladies dues aux *Filoviridae* d'après Kuhn (2008)
 MARV=virus Marburg ; RAVV=virus Ravn; TATV=virus Ebola Forêt du Taï (TAFV) ; RESV=virus Ebola Reston, LLOV= Virus Lloviu

Année	Filovirus	Localisation	Nombre de cas humains/nombre de morts (Taux de létalité)
1967	MARV	Marburg et der Lahn, Francfort 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)	Humains : 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)	Humains : 1/1 (100%)
1989-1990	RESV	Alice, Philadelphia, Reston (USA) ; exportation au départ de Luzon (Philippines)	Macaques crabiers captifs
1992	RESV	Siena (Italie) ; exportation au départ de Luzon (Philippines)	Macaques crabiers captifs
1994	TATV	Guiglot (Côte d'Ivoire)	Humains : 1/0 (0%)
1994-1995	EBOV	Andok, Mékouka, Minbéké, Mayéla-Mbeza, Ovan, Etakangaye (Gabon)	Humains : 52/32 (62%)
1995	EBOV	Kiwit (Zaïre)	Humains : 317/245 (77%)
1996	EBOV	Mayibout II, Makotou (Gabon)	Humains : 31/21 (68%)
1996	RESV	Alice (USA) ; exportation au départ de Luzon (Philippines)	Macaques crabiers captifs
1996-1997	EBOV	Babimba, Bouée, Lastoursville, Libreville, Lodo (Gabon)	Humains : 62/46 (74%)
1998-2000	MARV/R AVV	Durba, Watsa (République Démocratique du Congo)	Humains : 154/128 (83%)
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	Olloba (République Démocratique du Congo) ; Ekata (Gabon)	Humains : 11/10 (91%)
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	Olloba (République Démocratique du Congo) ; Ekata (Gabon)	Humains : 11/10 (91%)
2002	LLOV	Espagne	Minioptères de Schreibers
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	Province de Uige (Angola)	Humains : 252/227 (90%)
2005	EBOV	Etoumbi, Mbomo (République Démocratique du Congo)	Humains : 11/9 (82%)
2007	MARV/R AVV	Réserve de la forêt Kakasi (Ouganda)	Humains : 4/1 (25%)
2007	EBOV	Kampungu, Mweka, Mwene-Ditu (République Démocratique du Congo)	Humains : 264/196 (71%)
2007	BDBV	District de Bundibugyo (Ouganda)	Humains : 116/39 (34%)
2008	EBOV	Kampungu, Mweka, Mwene-Ditu (République Démocratique du Congo)	Humains : 32/15 (47%)
2008	RESV	Philippines	Porcs domestiques
2008	MARV	Leiden (Pays-Bas), exportation au départ d'Ouganda	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, 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/R AVV	Ouganda	Humains : 1/14 (7%)

*Chiffres non consolidés.

Annexe 3 : Source des infections à virus Ebola de 1976 à 2005 en Afrique

Année	Pays	Espèce	Source de l'infection
1976	RDC	EBOV	Inconnu. Cas index : professeur
1976	Soudan	SUDV	Travailleur d'une usine de coton. Preuves de la présence de chauves-souris sur le site
1977	RDC	EBOV	Inconnu
1979	Soudan	SUDV	Travailleur d'une usine de coton. Preuves de la présence de chauves-souris sur le site
1994	Gabon	EBOV	Camps de mine d'or. Preuves de la présence de chauves-souris sur le site
1994	Côte d'Ivoire	TAFV	Scientifique ayant pratiqué une autopsie sur la carcasse d'un chimpanzé
1995	Liberia	TAFV	Inconnu
1995	RDC	EBOV	Le cas index travaillait dans une forêt voisine
1996	Gabon	EBOV	Dépeçage et consommation d'une carcasse de chimpanzé
1996-1997	Gabon	EBOV	Le cas index était un chasseur vivant dans camp en forêt. Découverte d'une carcasse de chimpanzé infectée.
2000-2001	Ouganda	SUDV	Inconnu
2001-2002	Gabon	EBOV	Contact avec une carcasse de grand singe ou d'un autre animal sauvage
2001-2002	RC	EBOV	Contact avec une carcasse de grand singe ou d'un autre animal sauvage
2002-2003	RC	EBOV	Contact avec une carcasse de grand singe ou d'un autre animal sauvage
2003	RC	EBOV	Contact avec une carcasse de grand singe ou d'un autre animal sauvage
2004	Soudan	SUDV	Inconnu
2005	RC	EBOV	Inconnu

Annexe 4 : Espèces concernées par une hausse de morbidité et de mortalité au Gabon et en République Démocratique du Congo de novembre 1994 à avril 2005 (Lahm *et al.*, 2007)

Année	Pays	Espèces concernées	Cas humains
1994	Gabon	Gorille, chimpanzé, cercopithèque à nez blanc, moustac, potamochère, colobus satanas	oui
1995	Gabon	Cercopithèque à nez blanc	Non
	Congo	Mandrill, potamochère, céphalophe	Non
1996	Gabon	Gorille, chimpanzé, cercopithèque à nez blanc, mandrill, sitatunga	Oui
1997	Gabon	Gorille, chimpanzé, mandrill, moustac, cercopithèque à nez blanc, colobus satanas, potamochère, sitatunga, colobe guéréza	Non
	Congo	Gorille, cercopithèque à nez blanc, mandrill, potamochère, céphalophe à dos jaune	Non
1998	Gabon	Gorille, mandrill, potamochère, céphalophe de Peter	Non
	Congo	Colobus satanas	Non
1999	Gabon	Cercopithèque à nez blanc	Non
2000	Gabon	Gorille, mandrill, singes divers, potamochère, porc-épic	Non
2001	Gabon	Gorille, chimpanzé, mandrill, céphalophe, cercopithèque à nez blanc, singes divers, porc-épic	Oui
	Congo		
2002	Gabon	Gorille, civette, sitatunga	Oui
	Congo	Gorille, céphalophe, chimpanzé	Oui
2003	congo	Singes divers, potamochère	Oui
2004	Congo	Gorille	Non
2005	Congo	Gorille, singes divers	Oui

Annexe 5 : Analyse de carcasses d'animaux sauvages par PCR, capture antigénique, immunohistochimie et recherche d'IgG (Leroy et al., 2004b)

PCR = Réaction en chaîne par polymérase ; Ag = Antigène ; IHC = Immunohistochimie ; Nov = Novembre ; Fév = Février ; Déc = Décembre ; Lossi = sanctuaire situé au Congo, Mbanza= Région de la République Démocratique du Congo.

Animal	Lieu	Date	Tissus	PCR	Ag	IHC
Gorille	Gabon	Nov 2001	Muscle	+	+	+
	Gabon	Fév 2002	Moelle osseuse	+		
	Gabon	Fév 2002	Os	+		
	Gabon	Fév 2002	Os	+		
	Lossi	Déc 2002	Muscle	+	+	+
	Lossi	Déc 2002	Muscle	+	+	+
	Lossi	Déc 2002	Os	+		
	Lossi	Déc 2002	Os	+		
	Lossi	Fév 2003	Muscle	-	+	
Chimpanzé	Mbanza	Juin 2003	Muscle	+	+	
	Lossi	Déc 2002	Muscle	-	+	+
	Lossi	Déc 2002	Muscle	-	+	-
Céphalophe	Lossi	Fév 2003	Muscle	+	+	
	Lossi	Déc 2002	Os	+		
	Lossi	Déc 2002	Os	-		
	Lossi	Juin 2003	Peau			

Annexe 6 : Définitions de cas des maladies à virus Ebola et Marburg au cours et en dehors d'une épidémie selon l'OMS (OMS 2014d ; ANSES, 2014)

- Au cours d'une épidémie :

Un **cas suspect** est toute personne :

- Ayant été en contact avec un cas clinique 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 inexpliqués 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.

- 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

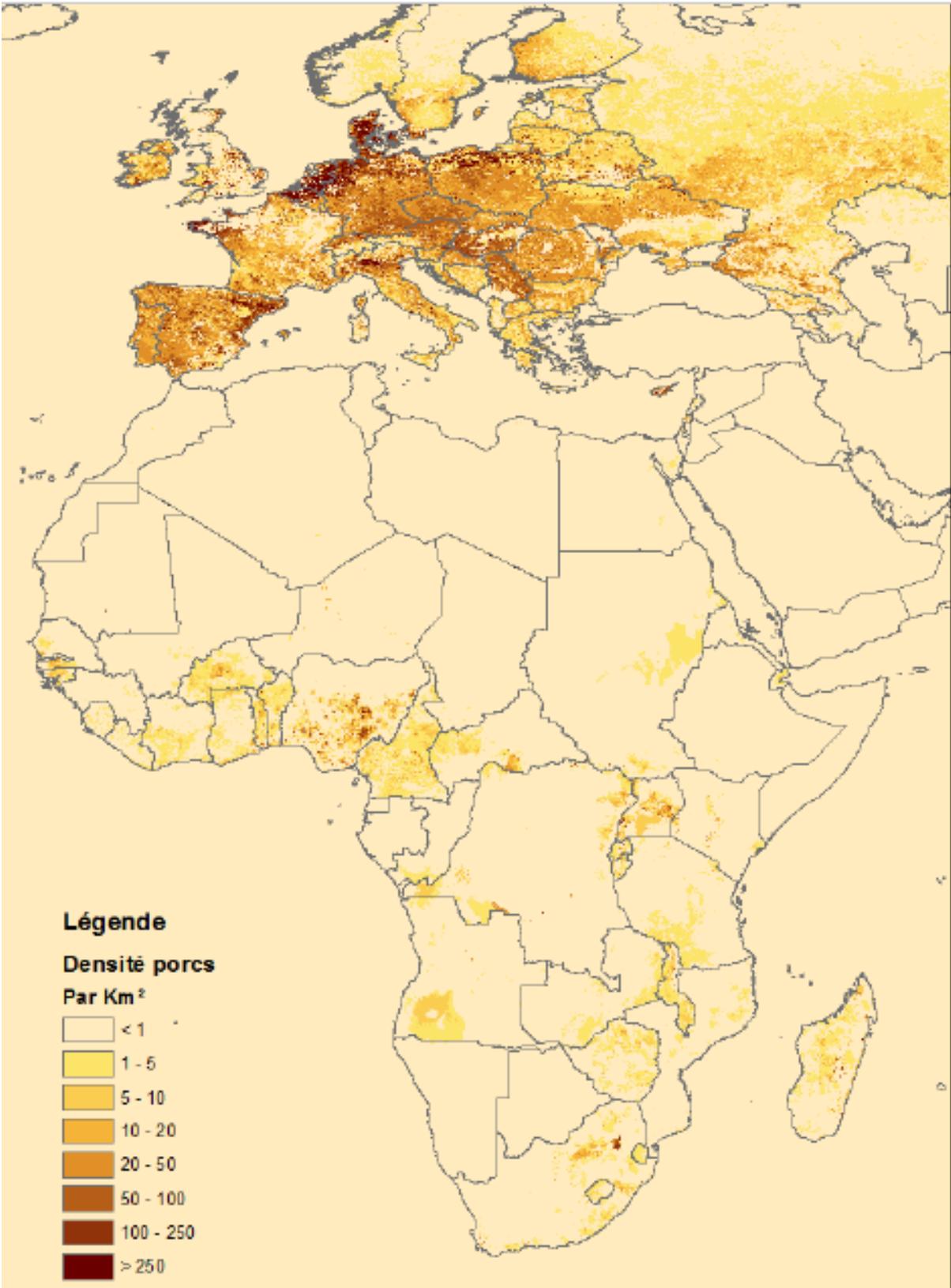
OU au moins 3 des symptômes suivants :

- 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 7: Répartition géographique des porcs en Afrique (carte réalisée par L. Martinelle sur base des données FAO (2005) ; ANSES, 2014)



Annexe 8 : Prévalence d'anticorps dirigés contre le nucléoprotéine du virus Ebola dans les fèces de gorilles échantillonnées en République du Congo entre 2005 et 2008 (Reed *et al.*, 2014)

Région	Zone	Mission	Période d'échantillonnage	Nombre d'échantillons testés	Zone		Région	
					Nombre d'échantillons positifs / Nombre total d'échantillons	Pourcentage d'échantillons positifs (IC95%)	Nombre d'échantillons positifs / Nombre total d'échantillons	Pourcentage d'échantillons positifs (IC 95%)
DCO	A	Following ape groups	Aug–Sept 2005	20	2/20	10 (0–26.3)	5/35	14.2 (8.0–28.6)
	B1*	Survey 2 years post epizootic	June 2007	15	3/15	20 (0–47.9)		
NRO	B2	Closed loop survey	Aug–Sept 2005	10	3/20	15 (0–34.3)	3/45	6.6 (0–15.8)
	B2†	Large scale mammal survey	Sept 2005	5				
	B2	Revisit closed loop survey	June 2007	5				
	C	Ape survey 1	March 2008	11	0/15	0 (0–15.5)		
	C	Ape survey 2	April 2008	4				
	D	Ape survey 3	Nov–Dec 2007	10	0/10	0 (0–21.7)		
						Total	8/80	10 (3.1–17.7)

Les nombres entre parenthèses correspondent à l'intervalle de confiance à 95% (IC95%)

DCO = Région où des épidémies de maladie à virus Ebola ont été confirmées

NRO = Région où aucune épidémie n'a été rapportée

* deux résultats non certains considérés négatifs

† un résultat non certain considéré négatif

ESSAIS D'ÉVALUATION DU RISQUE ZONOTIQUE ASSOCIÉ AUX VIRUS EBOLA À TRAVERS LES DONNÉES DU TERRAIN, EXPÉRIMENTALES ET DE MODÉLISATION

DURAND Chloé

Résumé

Le virus Ebola appartient à la famille des *Filoviridae* et est responsable d'une fièvre hémorragique fatale chez l'homme et les animaux. De nombreuses épidémies ont eu lieu au cours des dernières décennies mais l'ampleur de la dernière, ayant eu lieu en Afrique de l'Ouest entre 2013 et 2016, a fait naître une inquiétude internationale. Davantage d'études apparaissent nécessaires pour développer les connaissances sur la pathogénie du virus ainsi que ses capacités de propagation au sein des populations animales et humaines, dans le but de mettre en place une réponse optimale adéquate.

Ce travail présente les différentes modalités de transmission zoonotique du virus Ebola, les facteurs de risques associés ainsi que les animaux impliqués dans son cycle épidémiologique, notamment les chiroptères et les primates non humains, tout en se penchant sur le rôle potentiel des carnivores et des porcs domestiques. Des facteurs de risque variés de transmission zoonotique, influencés par le contexte socio-économique actuel, et liés à l'augmentation des contacts avec la faune sauvage, ont été mis en évidence à partir des données de modélisation, de terrain et de laboratoire existantes.

La dernière crise liée à la maladie à virus Ebola a démontré avec beaucoup d'acuité la pertinence du concept « One Health », né de la prise de conscience des liens étroits entre la santé humaine, la santé animale et l'environnement. L'interdépendance de ces trois disciplines conditionne la gestion des épidémies. Une collaboration internationale et transdisciplinaire a ainsi été créée afin de renforcer les capacités de réponse locale aux épidémies, en particulier dans les pays en voie de développement. Cette réponse repose sur la sensibilisation et l'éducation de la population, le renforcement des capacités de surveillance et de détection de l'infection chez les populations animales, associées à une prise en charge efficace chez l'homme. Le soutien financier et logistique de la communauté internationale pour la recherche et pour les autorités locales semble essentiel.

Mots clés : VIRUS EBOLA ; ZONOSE ; FILOVIRIDAE ; FIEVRE HEMORRAGIQUE ; FACTEUR DE RISQUE ; CARNIVORE DOMESTIQUE ; CHAUVES-SOURIS ; CHIROPTERE ; PRIMATE NON HUMAIN ; PORC ; RONGEUR

Jury :

Président : Mme Françoise BOTTEREL

Directeur : Mme Nadia HADDAD

Assesseur : Mme Sophie LE PODER

EBOLAVIRUS ZONOTIC RISK ASSESSMENT BASED ON FIELD DATA, EXPERIMENTAL FINDINGS AND MODELLING APPROACHES

DURAND Chloé

Summary

Ebola virus, a member of the *Filoviridae* family, is associated with a severe, lethal, haemorrhagic fever in humans and animals. Several outbreaks have occurred over the last decades, the last and most serious one taking place from December 2013 in West Africa. Its potential for introduction into some other continents has made Ebola virus a worldwide public health concern. More information about its transmission and pathogenesis is needed, in order to improve our understanding of viral disease spillover from wildlife.

The present work underlines the significant role of animal hosts, including non-human primates and the most likely reservoir hosts (fruit bats), in the transmission and the maintenance of the virus in nature. The potential role of domestic animals such as domestic pigs and pets in the epidemiological cycle of the virus is also investigated. Several risk factors contributing to zoonotic transmission have been identified based on field data, experimental findings and modelling approaches. These risk factors are affected by the socio-economic context, and have been linked to increasing contacts with wildlife.

The latest Ebola virus crisis fits into the current « One Health » approach that considers the health of humans, animals and ecosystems as being interconnected. An international and transdisciplinary community was created to develop strategies to strengthen the response capacities in developing countries. Outbreak responses are based on improving public education and risk communication, monitoring animal populations and implementing strategies for preventing and controlling emerging disease threats among human and animal populations. Logistical assistance and financial support from the international community to support basic research and the local authorities seems to be essential.

Keywords : EBOLA VIRUS ; ZONOSIS ; FILOVIRIDAE ; HAEMORRHAGIC FEVER ; RISK FACTOR ; DOMESTIC CARNIVORE ; BAT ; CHIROPTER ; NON HUMAN PRIMATE ; PIG ; RODENT

Jury :

President : Mrs Françoise BOTTEREL

Director : Mrs Nadia HADDAD

Assessor : Mrs Sophie LE PODER