

Séance dédiée : « Les financements innovants en matière de santé et l'épidémie à virus Ébola »

COMMUNICATION

Le virus Ébola et sa détection

MOTS-CLÉS : FIÈVRE HÉMORRAGIQUE À VIRUS ÉBOLA

Properties and diagnosis of Ebola virus

KEY-WORDS: HEMORRHAGIC FEVER, EBOLA

Henri AGUT *

L'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec le contenu de cet article.

RÉSUMÉ

Le virus Ébola appartient à la famille des Filoviridae et comprend plusieurs espèces, dont le virus Ébola Zaïre, responsable d'une épidémie initiale de fièvre hémorragique en 1976 et de l'épidémie actuelle d'Afrique de l'Ouest. Ce virus enveloppé à ARN a pour réservoir probable des chauves-souris frugivores des forêts tropicales et, après un contact accidentel avec un être humain, se transmet efficacement d'homme à homme. Il a un tropisme cellulaire et tissulaire étendu et provoque une infection aiguë très délétère conduisant à un sepsis sévère grevé d'une lourde mortalité. En phase aiguë, le virus est très abondant dans les fluides biologiques dans lesquels il peut temporairement conserver son infectiosité pendant quelques jours après la mort. Le diagnostic virologique se fait principalement par RT-PCR sur un échantillon de sang et nécessite d'être pratiqué dans des conditions de haute sécurité. La physiopathologie de l'infection permet d'envisager des traitements curatifs et une vaccination qu'il faut maintenant développer en urgence.

* Sorbonne Universités, UPMC, CIMI-Paris UMRS CR7, Equipe 1 PVI, Paris. INSERM, CIMI-Paris U1135, Paris. AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Service de Virologie, Paris ; e-mail : henri.agut@aphp.fr

Tirés à part : Professeur Henri AGUT, Service de Virologie, Bâtiment CERVI, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 83 bd de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13

Article reçu le 26 mars 2015

SUMMARY

Ebola virus belongs to the Filoviridae family and includes several species, including the Ebola Zaire virus, responsible for an initial outbreak of hemorrhagic fever in 1976 and the current epidemic of West Africa. Fruit bats of tropical forests are the likely reservoir of this enveloped RNA virus which, following the incidental infection of a human being, is efficiently transmitted from man to man. Ebola virus exhibits a wide cell and tissue tropism and causes a deleterious acute infection leading to severe sepsis burdened with a heavy mortality. During the acute phase, the virus is very abundant in biological fluids where it can temporarily retain its infectivity for several days after death. Virological diagnosis is done mainly by RT-PCR on a blood sample and needs to be practiced in high security conditions. The pathophysiology of the infection allows to consider curative treatments and vaccination which are urgently needed.

INTRODUCTION

Depuis sa découverte en 1976, le virus Ébola a suscité la peur et alimenté la crainte d'une pandémie mortelle qui décimerait l'humanité [1, 2]. Au fil des ans, la réalité est apparue plus prosaïque et correspondait à celle d'une infection virale humaine sévissant de façon régulière au sein des populations africaines, très sévère sur le plan clinique mais donnant des épidémies de faible amplitude. Le virus continuait cependant à susciter un intérêt certain du fait de ses propriétés structurales et épidémiologiques originales, et aussi à cause de son utilisation éventuelle comme arme de guerre ou de bioterrorisme. Le développement à partir de la fin de 2013 d'une épidémie en Afrique de l'Ouest, inattendue à cet endroit, d'une ampleur jamais observée auparavant et encore incomplètement contrôlée à l'heure où ces lignes sont écrites, a redonné au virus Ébola une place de tout premier plan au sein des agents infectieux émergents et suscite actuellement de nombreuses questions [3].

Historique

Le virus a été identifié pour la première fois en Afrique en 1976, au cours de deux épidémies simultanées observées à Nzara (Soudan) et à Yambuku (République Démocratique du Congo [RDC], ex-Zaïre). Cette dernière était localisée près de la rivière Ébola qui a donné son nom au virus. Les deux épidémies ont concerné 284 et 318 personnes respectivement, avec des taux de mortalité très élevés (53 et 88 % respectivement). Des épidémies ont ensuite été décrites en RDC, au Congo, au Gabon, au sud du Soudan, en Ouganda. Ces épidémies sont survenues en milieu rural et sont restées de faible intensité, touchant de quelques dizaines à quelques centaines de personnes mais toujours avec une mortalité très élevée [2]. En décembre 2013, sont apparus les premiers cas d'une épidémie qui s'est étendue progressivement et principalement à trois pays d'Afrique de l'Ouest, Guinée, Sierra Leone et Liberia. Cette épidémie a touché près de 25 000 personnes selon le bilan cumulé établi en mars 2015 et fait plus de 10 000 morts (les caractéristiques de cette

épidémie sont présentées dans un autre chapitre). En parallèle, une épidémie de faible amplitude a été observée en 2014 en RDC sans qu'il y ait de relation établie les deux épidémies concomitantes [4].

Classification et propriétés du virus

Le virus Ébola appartient à l'ordre des *Mononegavirales* et à la famille des *Filoviridae*. Il est le virus type du genre *Ebolavirus*, au sein duquel cinq espèces ont été décrites jusqu'à présent : Ébolavirus Zaïre (ZEBOV, responsable de l'épidémie initiale de Yambuku et de l'épidémie actuelle d'Afrique de l'Ouest), Ébolavirus Soudan (SEBOV), Ébolavirus Bundibugyo (isolé initialement en Ouganda), Ébolavirus de la forêt de Taï (originaire de Côte d'Ivoire) et Ébolavirus Reston (originaire d'Asie), ces deux dernières espèces étant considérées comme non pathogènes chez l'homme. La famille des *Filoviridae* (filovirus en langage courant) contient actuellement deux autres genres, *Marburgvirus* et *Cuevavirus*, qui regroupent des virus partageant de nombreuses propriétés structurales, fonctionnelles et épidémiologiques avec le virus Ébola [2].

Les filovirus sont des virus à ARN enveloppés. Les particules virales observées en microscopie électronique ont un aspect filamenteux, voire ramifié, présentant des longueurs variables, un aspect caractéristique mais quelque peu atypique en virologie, ce qui a largement contribué à renforcer le caractère exceptionnel et donc potentiellement redoutable du virus. L'ultrastructure est cependant classique avec une nucléocapside de symétrie hélicoïdale, associant le génome viral, les protéines de capsid et le complexe protéique de réplication, entourée par une enveloppe de nature phospholipidique portant à sa surface les molécules de la glycoprotéine d'enveloppe GP. La présence de cette enveloppe confère aux particules virales une résistance limitée dans l'environnement et face à l'action des agents chimiques ou physiques ayant une activité virucide. L'ARN génomique est monocaténaire, non segmenté et de polarité négative comme les autres virus de l'ordre des *Mononegavirales* tels que le virus de rage ou le virus de la rougeole. Dans la cellule hôte, cet ARN dirige, après synthèse d'ARN messagers complémentaires, la production des protéines virales. Parmi celles-ci, figurent entre autres la glycoprotéine GP et le complexe de l'ARN polymérase qui permet la transcription et la réplication de l'ARN. La variabilité des gènes et des protéines viraux apparaît limitée au sein des diverses espèces et souches de virus Ébola, les différences de séquence n'excédant pas 40 %, ce qui peut être considéré comme modeste par rapport à d'autres virus à ARN hypervariables infectant l'homme tels que le VIH ou les virus de la grippe [2].

Transmissibilité du virus

Du fait de la sévérité des atteintes cliniques, du risque important de transmission interhumaine et de l'absence actuelle de traitement préventif ou curatif d'efficacité démontrée, le virus Ébola a été classé parmi les agents infectieux de classe 4 (risque le plus élevé) en termes de sécurité microbiologique, ce qui impose des conditions de confinement drastiques pour sa manipulation expérimentale.

Dans le milieu naturel, son épidémiologie est restée longtemps mystérieuse. La majorité des auteurs s'accordent actuellement pour penser que le réservoir du virus Ébola est constitué de chauves-souris frugivores des forêts intertropicales. À partir de ces chiroptères qui présenteraient des infections essentiellement asymptomatiques, le virus est transmis, par leurs déjections animales contaminant l'environnement, à des mammifères de taille plus importante tels que les singes, les herbivores, les rongeurs. Ces derniers présentent des infections symptomatiques, souvent mortelles, et transmettent le virus à l'homme au cours des pratiques de chasse ou de consommation de viande de brousse. La transmission du virus des chauves-souris à l'homme sans autre intermédiaire animal paraît aussi possible. Le virus se propage ensuite d'homme à homme par contact avec les fluides biologiques infectés, peut-être par les microgouttelettes émises lors de la toux ou les vomissements, la transmission aérienne par aérosols n'étant en tout cas pas démontrée actuellement. L'infection à Ébolavirus se définit donc globalement comme une zoonose prolongée et aggravée par une transmission interhumaine efficace.

Physiopathologie de l'infection humaine

Le virus Ébola présente un tropisme cellulaire et tissulaire étendu. Cela lui permet d'infecter des hôtes très différents tels que les chiroptères, les rongeurs, les primates non humains et l'homme. Cela lui permet aussi d'infecter de façon productive de nombreux types cellulaires différents au sein du même organisme, en particulier les cellules humaines épithéliales, endothéliales, monocytaires, et hépatocytaires. *In vivo*, cette infection virale systémique et très productive a un impact anatomique et fonctionnel direct sur plusieurs organes et tissus. Ainsi, l'atteinte du tissu lymphoïde conduit à une infection des monocytes, macrophages et cellules dendritiques s'accompagnant d'une hypersécrétion de cytokines pro-inflammatoires, une déplétion lymphocytaire par apoptose et une paralysie de la réponse immune antivirale. L'infection et la nécrose des hépatocytes conduit à une insuffisance hépatocellulaire et des troubles de la synthèse des facteurs de coagulation. L'infection et la mort des cellules de la corticosurrénale perturbent la synthèse des hormones surrénaliennes et provoquent des désordres hydro-électrolytiques majeurs qui aggravent les phénomènes de fuite plasmatique liées à l'atteinte endothéliale. Au-delà des troubles hémorragiques qui peuvent ne pas être au premier plan des manifestations cliniques, c'est un tableau de sepsis sévère avec choc et défaillance polyviscérale qui fait toute la gravité d'une infection à virus Ébola [2, 5]. Le décès survient en moyenne 10 jours après le début des signes cliniques qui surviennent après une incubation de durée variable de 2 à 21 jours, un des facteurs déterminants pour la chronologie de ces événements cliniques étant probablement l'importance de la dose infectante initiale.

En accord avec ce tableau clinique, la présence de virus infectieux dans différents tissus et compartiments de l'organisme est importante dans la phase aiguë de l'infection et se prolonge, en cas de décès, plusieurs jours après la mort dans les tissus

et fluides cadavériques. D'une façon générale, le virus est ainsi détecté dans le sang qui constitue la meilleure matrice pour le diagnostic, la salive, les urines, les larmes, à un moindre degré la sueur et le lait. An niveau génital, il est présent dans les prélèvements vaginaux et, de façon prolongée, dans le sperme. Cependant, quand le malade survit, la clairance du virus s'opère dès le début de la phase de convalescence parallèlement à l'installation d'une immunité qui est considérée comme solide et définitive vis-à-vis du virus Ébola responsable de la maladie.

Diagnostic virologique de l'infection

Une contrepartie de la réplication intense du virus dans les tissus est sa facilité de détection par les techniques de diagnostic direct [6]. L'isolement du virus en culture cellulaire est la technique historique de référence mais cette méthode est lourde, coûteuse et dangereuse avec le risque d'exposition des manipulateurs et de dissémination du virus produit. Elle impose un confinement maximal dans un laboratoire de sécurité P4 (ou *BSL-4*) et ne peut être pratiquée que dans le cadre d'un centre national de référence. En revanche, le diagnostic moléculaire par RT-PCR associe rapidité, sensibilité, spécificité et un degré acceptable de sécurité dans la mesure où il n'y a pas d'amplification de l'agent infectieux, le prélèvement à risque est de faible volume et confiné dans l'espace de manipulation, le manipulateur bien protégé par des équipements individuels et l'infectiosité virale rapidement détruite au cours de la procédure d'extraction des acides nucléiques. La détection des antigènes viraux par ELISA est une méthode pertinente et complémentaire à la RT-PCR. Le diagnostic indirect ou sérologique se fonde sur la détection d'anticorps sériques spécifiques, de classe IgG ou IgM. Il s'agit d'une technique rapide et spécifique qui doit, elle-aussi, bénéficier d'une pratique sécurisée incluant l'inactivation de l'infectiosité virale des échantillons de sérum.

Le diagnostic virologique fait appel à des techniques qui exigent un savoir-faire et des équipements adaptés. Ceux-ci peuvent faire défaut sur les lieux mêmes de l'épidémie où l'on est conduit à effectuer souvent un diagnostic clinique probabiliste. Cependant, la mise en œuvre de laboratoires mobiles et autonomes, dotés d'équipements minimaux mais permettant des conditions de travail sécurisées, sont une alternative tout à fait pertinente.

La sécurité du diagnostic virologique et, d'une façon générale, de la pratique d'une activité de biologie médicale dans le contexte d'une infection suspectée ou avérée par le virus Ébola, est une question récurrente, même si elle apparaît beaucoup moins problématique que celle de la pratique des soins auprès des malades. Il paraît suffisant de s'appuyer sur la protection des personnels de laboratoire par des équipements protecteurs individuels adaptés, le confinement des manipulations dans des postes de sécurité microbiologique de classe I ou II, et le positionnement général de l'activité dans un laboratoire de sécurité P2 (ou *BSL-2*). Des confinements plus importants ont été imposés dans certains pays dont la France mais ils peuvent se révéler contre-productifs par les contraintes qu'ils engendrent. En dehors

des activités diagnostiques et d'expertise d'un centre national de référence, point n'est donc besoin d'un laboratoire P4 ou d'une forme dégradée de ce confinement maximal pour effectuer un diagnostic biologique sécurisé. Cependant, le nombre de laboratoires équipés et habilités pour le pratiquer est nécessairement limité sur le plan national.

Options thérapeutiques

Le traitement symptomatique de l'infection sévère déclarée est actuellement le seul recours universellement proposé [5]. Cependant, les propriétés du virus et de l'infection humaine permettent d'envisager des traitements spécifiques dont certains ont déjà fait l'objet d'essais thérapeutiques ou d'administration compassionnelle. L'action protectrice, voire curative, d'anticorps neutralisants principalement dirigés contre la glycoprotéine GP est une hypothèse rationnelle contre un virus se répliquant très activement et de façon lytique pour les cellules hôtes. Cette hypothèse justifie chez les malades l'utilisation de sérum de convalescent ou d'immunoglobulines purifiées à partir de ce sérum. Elle justifie également le recours à des anticorps monoclonaux produits *in vitro* par les techniques de recombinaison génétique et administrés seuls ou en association. C'est le principe du traitement expérimental par Zmapp®, un mélange de trois anticorps monoclonaux dont la disponibilité est actuellement limitée. L'ARN polymérase virale est une cible pertinente pour des inhibiteurs spécifiques. La ribavirine, un antiviral déjà commercialisé dans le contexte d'autres infections virales telles que l'hépatite C, est sans action *in vitro* contre les filovirus. En revanche, le favipiravir, qui est efficace contre le virus de la grippe, a donné des résultats prometteurs dans l'inhibition de la réplication du virus Ébola. D'autres enzymes ou composants viraux sont ciblés par des molécules actuellement en cours de développement tels que le TKM-100-802, un petit ARN interférent inhibant l'expression de deux gènes viraux [7].

La vaccination apparaît comme un objectif tout à fait raisonnable contre un virus qui provoque une infection aiguë n'évoluant pas vers la chronicité et suscite une réponse immunitaire protectrice. L'utilisation de virus inactivés pour induire une réponse immune protectrice n'a pas paru concluante. On s'oriente actuellement vers des vaccins subunitaires contenant des protéines virales fabriquées par génie génétique et des vaccins viraux recombinants tels que le virus de la vaccine, le virus de la stomatite vésiculeuse ou un adénovirus, exprimant des protéines d'intérêt du virus Ébola.

Le virus Ébola Zaïre d'Afrique de l'Ouest, une souche particulière ?

Une grande question du moment est de savoir si la souche Ébola Zaïre responsable de l'épidémie d'Afrique de l'Ouest a des caractéristiques génétiques ou des propriétés de virulence particulières, et si elle est susceptible d'évoluer rapidement vers des formes plus agressives ou plus facilement transmissibles que la souche originelle. Rien ne paraît l'indiquer à l'heure actuelle. Des arguments plaident en faveur d'une

origine de cette souche virale située en Afrique de l'Ouest et non pas de l'importation récente de cette souche à partir des pays du centre de l'Afrique qui ont été le siège des épidémies antérieures [8, 9]. Les arbres phylogéniques établis à partir des séquences nucléotidiques virales obtenues au cours de l'épidémie confirment le positionnement particulier de cette souche par rapport aux autres souches d'Ébola Zaïre connues et montrent sa variabilité accompagnant les chaînes de transmission interhumaine, comme attendu [9, 10]. Les manifestations cliniques, même si les signes hémorragiques paraissent au second plan, ne sont pas significativement différentes des descriptions antérieures et les taux de mortalité sont comparables. La différence la plus marquante par rapport aux épisodes antérieurs est l'ampleur sans précédent de l'épidémie actuelle. Comme suggéré dans d'autres chapitres, des facteurs géographiques, culturels, sociétaux, économiques et politiques paraissent plus responsables du développement sans précédent de cette épidémie que les propriétés spécifiques de la souche virale en cause.

L'actuelle épidémie nous rappelle ainsi que la prise en charge et le contrôle aussi bien que le diagnostic et le traitement de l'infection à virus Ébola sont des objectifs tout à fait envisageables à partir du moment où des moyens déjà éprouvés au cours des épidémies précédentes sont mis en œuvre et de nouvelles approches rationnelles sont développées avec conviction. C'est une bonne nouvelle. Elle nous rappelle aussi que les épidémies à virus Ébola continuent à prospérer du fait non seulement de l'introduction accidentelle d'un virus animal dans les communautés humaines, par essence imprévisible, mais aussi de la peur, de l'ignorance, du refus d'approches médicales validées, et du manque de solidarité entre les peuples. Ce n'est pas une bonne nouvelle.

RÉFÉRENCES

- [1] Georges-Courbot MC, Baize S, Georges AJ. Les filovirus. *Virologie*. 2007;11:105-20.
- [2] Feldmann H, Sanchez A, Geisbert TW. Filoviridae : Marburg and Ébolaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. Sixth ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins ; 2013. p. 923-56.
- [3] Baize S. Ébola virus in West Africa: new conquered territories and new risks-or how I learned to stop worrying and (not) love Ébola virus. *Curr Opin Virol*. 2015;10:70-6.
- [4] Maganga GD, Kapetshi J, Berthet N, Kebela Ilunga B, Kabange F, Mbala Kingebeni P, *et al*. Ébola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N Engl J Med*. 2014;371:2083-91.
- [5] Bah EI, Lamah MC, Fletcher T, Jacob ST, Brett-Major DM, Sall AA, *et al*. Clinical presentation of patients with Ébola virus disease in Conakry, Guinea. *N Engl J Med*. 2015;372:40-7.
- [6] Burd EM. Ébola virus: a clear and present danger. *J Clin Microbiol*. 2015;53:4-8.
- [7] Bishop BM. Potential and emerging treatment options for Ébola virus disease. *Ann Pharmacother*. 2015;49:196-206.
- [8] Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, *et al*. Emergence of Zaire Ébola virus disease in Guinea. *N Engl J Med*. 2014;371:1418-25.

- [9] Gire SK, Goba A, Andersen KG, Sealfon RS, Park DJ, Kanneh L, *et al.* Genomic surveillance elucidates Ébola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*. 2014;345:1369-72.
- [10] Alizon S, Lion S, Murall CL, Abbate JL. Quantifying the epidemic spread of Ébola virus (EBOV) in Sierra Leone using phylodynamics. *Virulence*. 2014;5:825-7.