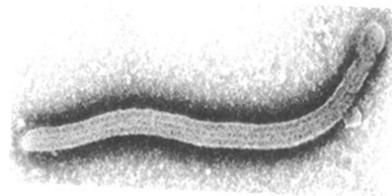




Ebola un virus de fièvre hémorragique mortel



PhC Christophe Peyrefitte, PharmD, PhD, HDR

Pr Agrégé du Val-de-Grâce

Unité de virologie,

Institut de recherche biomédicale des armées

Octobre 2015

Christophe Peyrefitte

**Emprunts Pr Pialoux, Pr Leloup, Pr Lassel,
Pr Tatevin, CDC, MSF, Pr Rapp, Pr Migliani,
Dr Reynard, Dr Tordo**

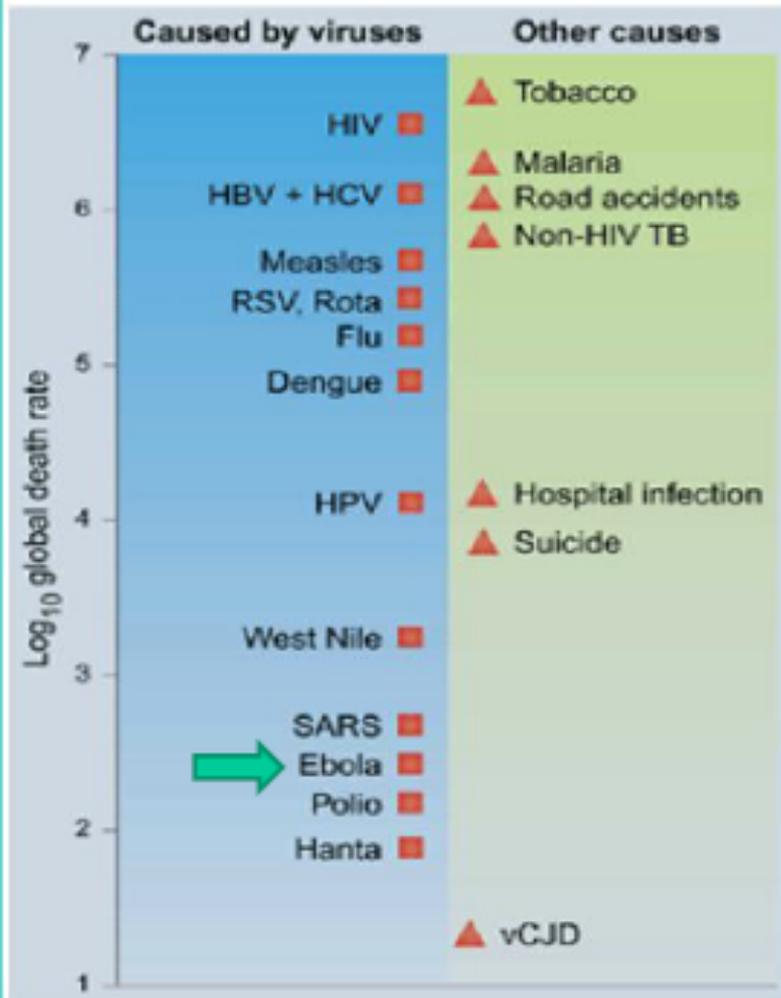
N°1

Objectifs



- La genèse de la riposte à l'épidémie
 - ✓ Connaître le contexte épidémiologique en Guinée
 - ✓ Connaître les modes de transmission du virus Ebola
 - ✓ Connaître la dynamique épidémique
- Connaître les solutions diagnostiques opérationnelles
 - ✓ En Afrique, contexte MSF/Centre de Traitement Ebola
 - ✓ Manœuvre logistique complexe

Décès dans le monde



Weiss RA, Nature Medicine, 2004

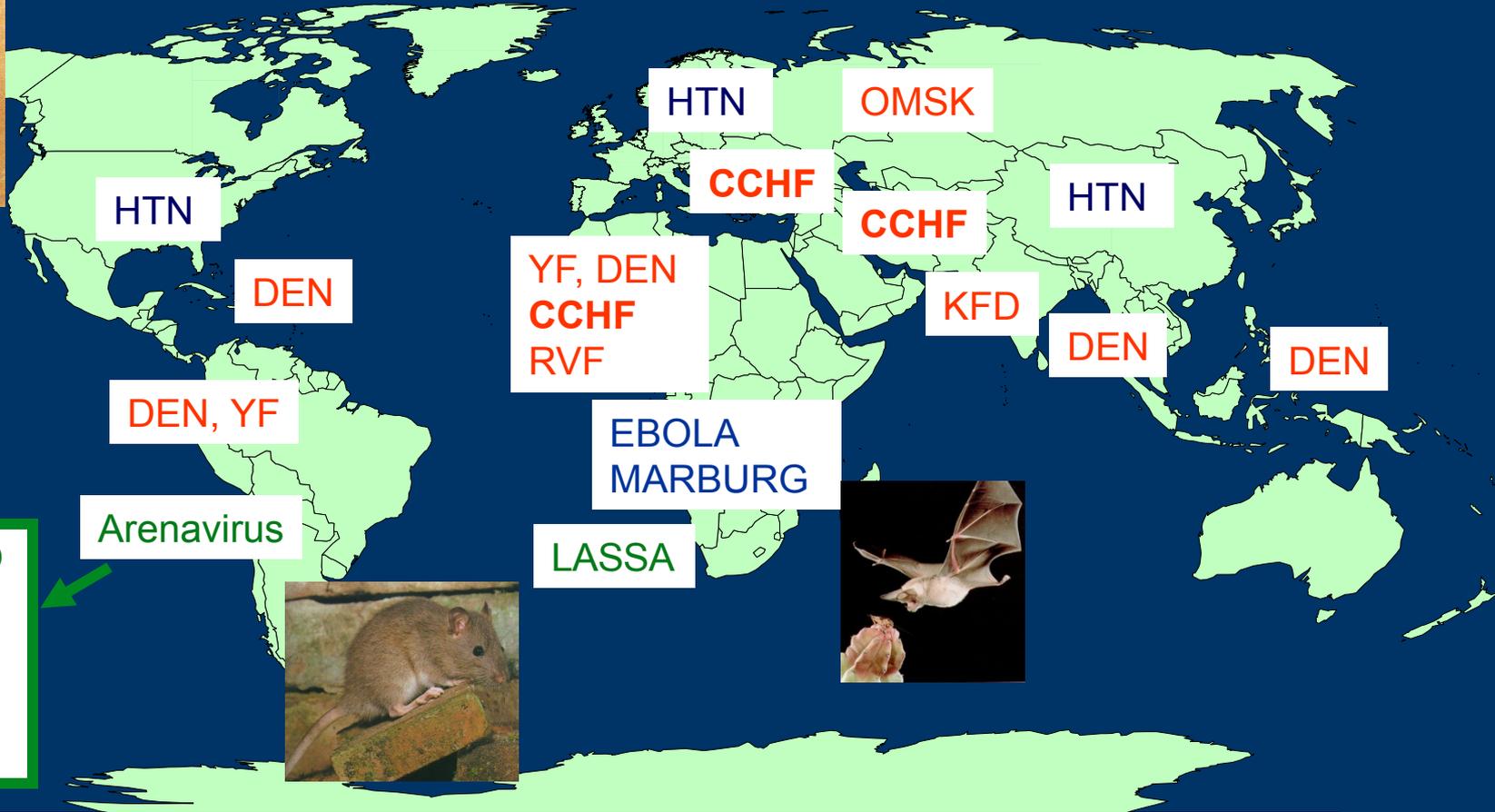
- **Sida** = 1 500 000 morts en 2013
- **Paludisme** = entre 600 000 et 1,2 millions de morts/an
- **Rougeole** = 1,2 millions d'enfants morts par an
- **SRAS 2003** = 700 morts
- **Corona MERS 2013** = 185 décès

- **Ebola : 2015**

20 000 cas 10 000 morts

Principal Viral Hemorrhagic Fevers :

Arbovirus, *Filovirus*, *Arenavirus*

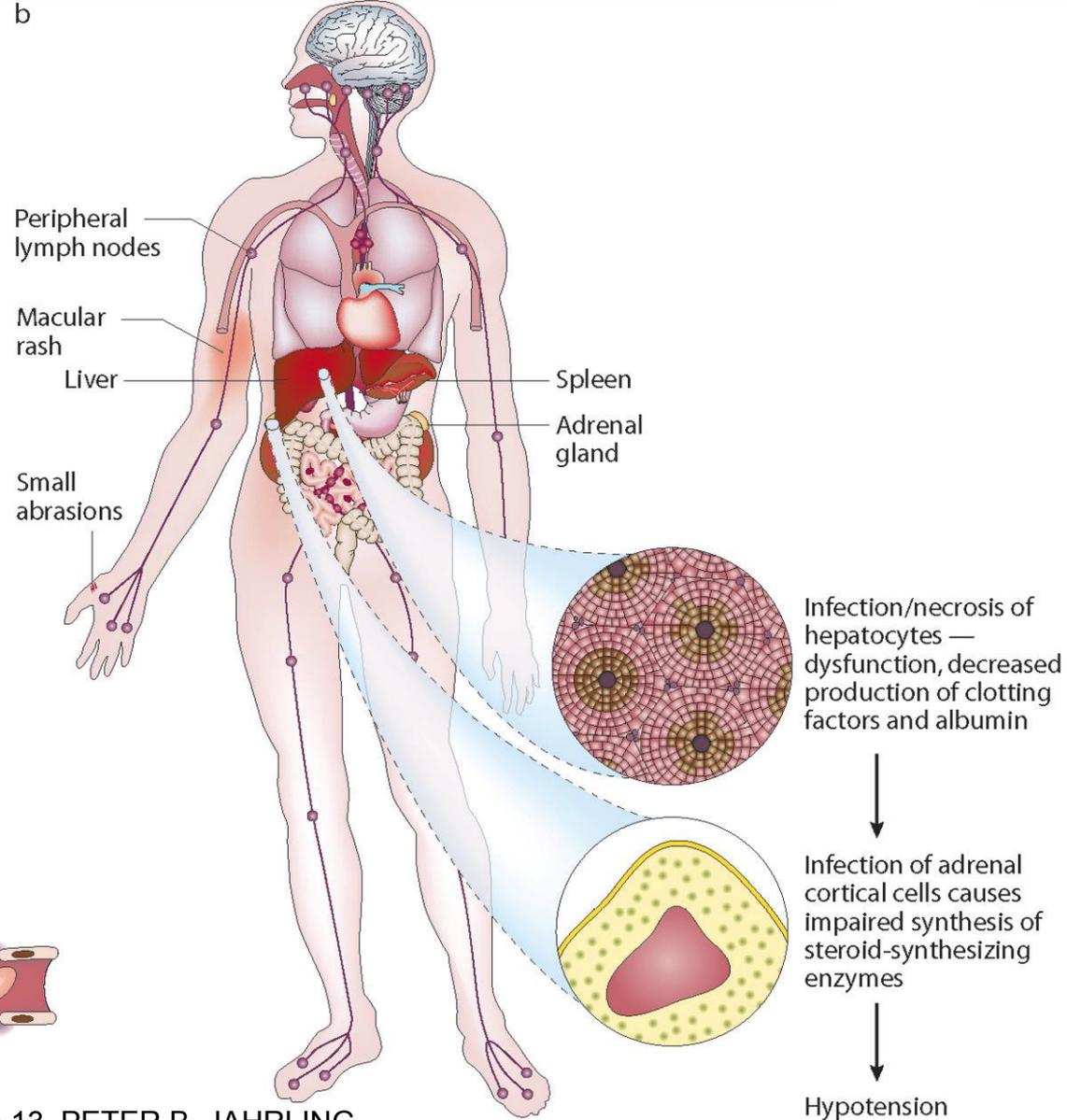
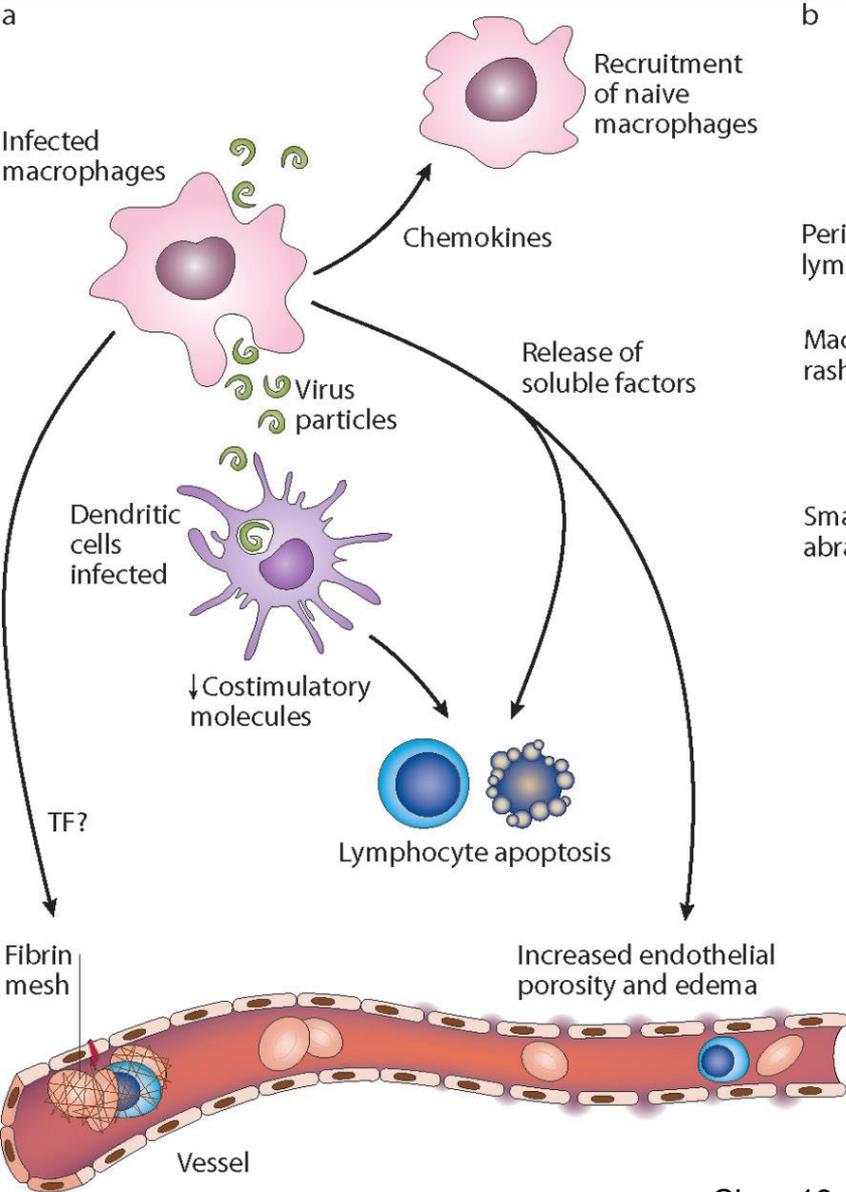


CCHF : Crimean Congo Hemorrhagic fever, **DEN** : dengue, **YF** : Yellow fever, **RVF** : Rift valley fever, **KFD** : Kyasanur Forest disease, **OMSK**: FH d'Omsk
HTN : Hantavirus

FHV : les symptômes

Virus Maladie symptômes	Filo Ebola	RVF Fièvr rift	CCHF Crime congo	Fièvr Jaune	Deng hémor	Lassa	Arena sud	Hanta HFRS	Hanta HPS
Incubation J	3-21	2-7	3-7	3-7	7-10	>7	>7	>7	>7
Mortalité %	80%	1%	30%	40%	0,5%	15%	5-50%	10%	50%
hémorragie	++	++	+++	++	+	+	++	+	
Rash	++		+++	+	++		+	++	
Pétéchies	++	+	+++		++		++	++	
Echymose		+	+	++		+			
melena	++		++	+			+		
Choc	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++
Foie		++	+++	+++	++	+	+		
Reins	+	+	+	++			+	+++	+
Syst Nx Cent	+	++	+	++		++	+++		
Oedemes			+++			++	+++	++	+++

Fièvres Hémorragiques Virales

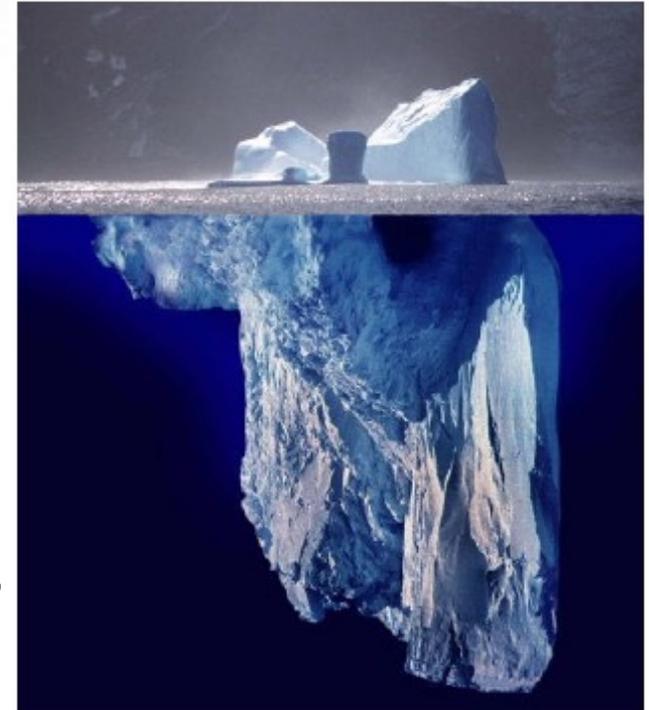


Fièvres Hémorragiques Virales

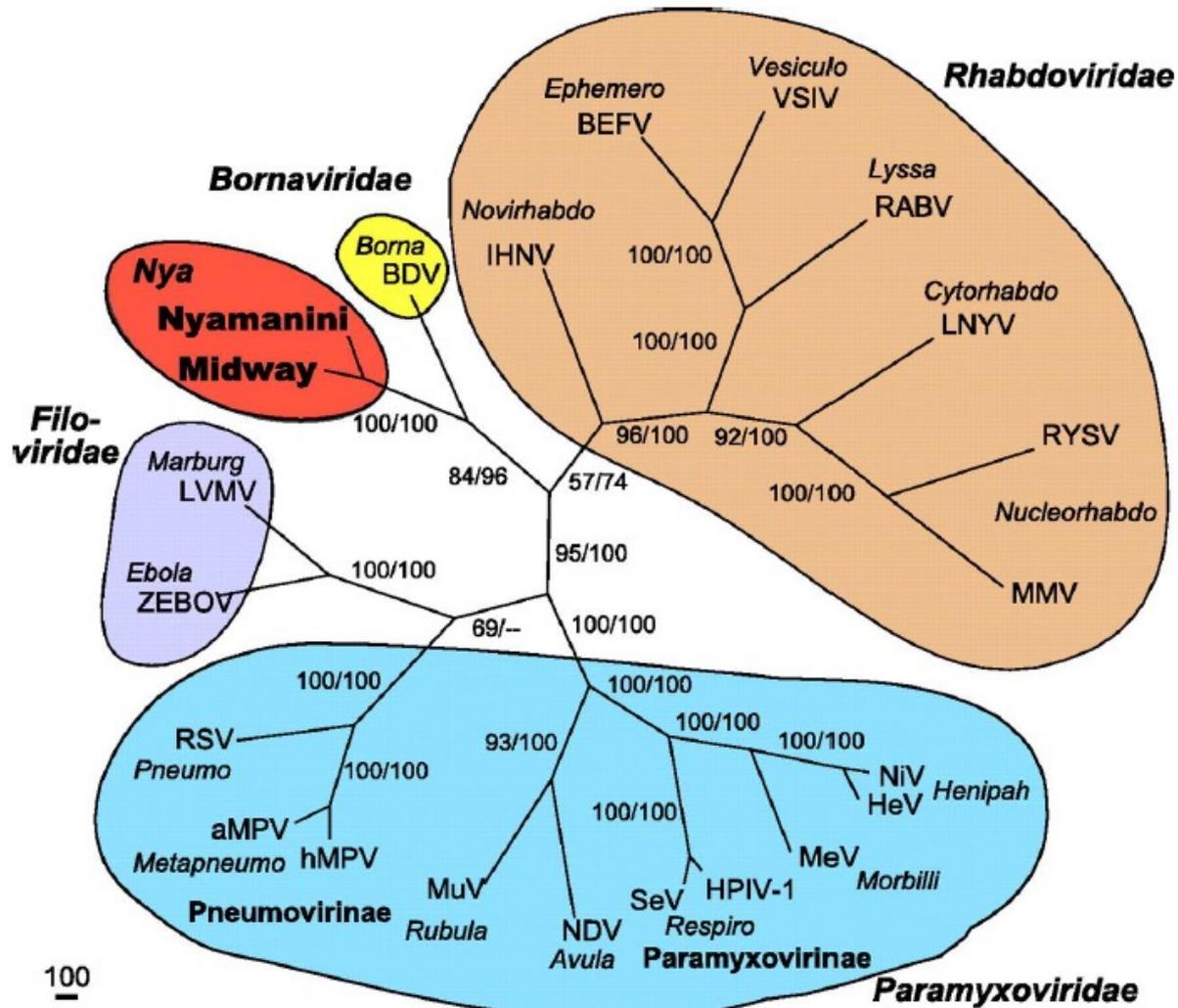


présentation

- Asymptomatique
- Fébrile associée arthralgie, asthénie
- Hémorragique
 - Mineure : gingivorragie, épistaxis,
 - Sévère : méléna, hématomèse
- Mortalité 1% - 80% des patients hospitalisés



Classification des Mononegavirales



Classification des Filovirus



• **Ordre** : Mononegavirales : *Filoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Rhabdoviridae* et *Bornaviridae*
virus enveloppé, ARN non segmenté de polarité négative

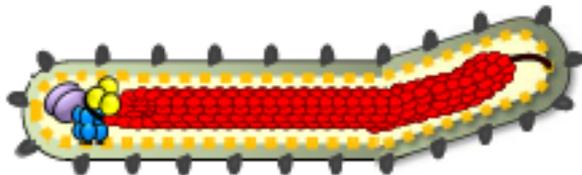
Famille : *Filoviridae* : Virus filiforme

Genre Cuevavirus (Lloviu virus)

Genre Marburgvirus (Marburg et Ravn virus)

Genre Ebolavirus

Espèces : – Zaïre-ebolavirus
– Soudan-ebolavirus
– Taï Forest-ebolavirus
– Bundibugyo
– Reston-ebolavirus



STRUCTURE VIRALE DES FILOVIRUS



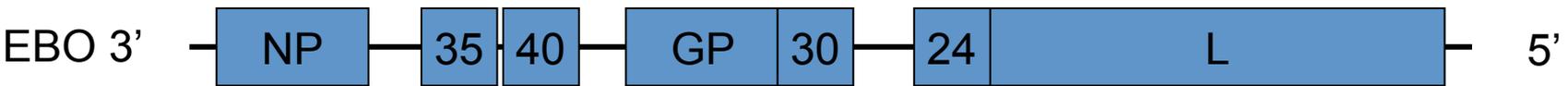
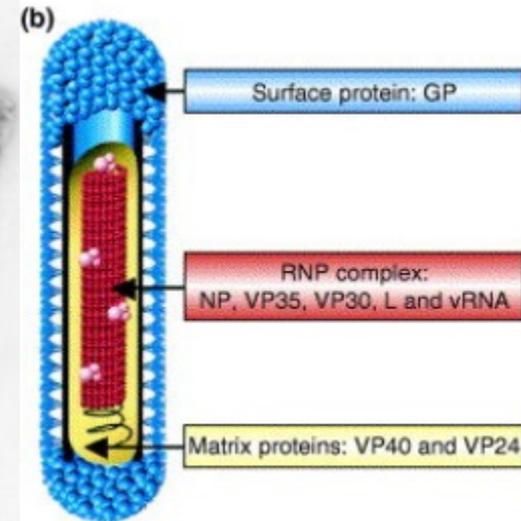
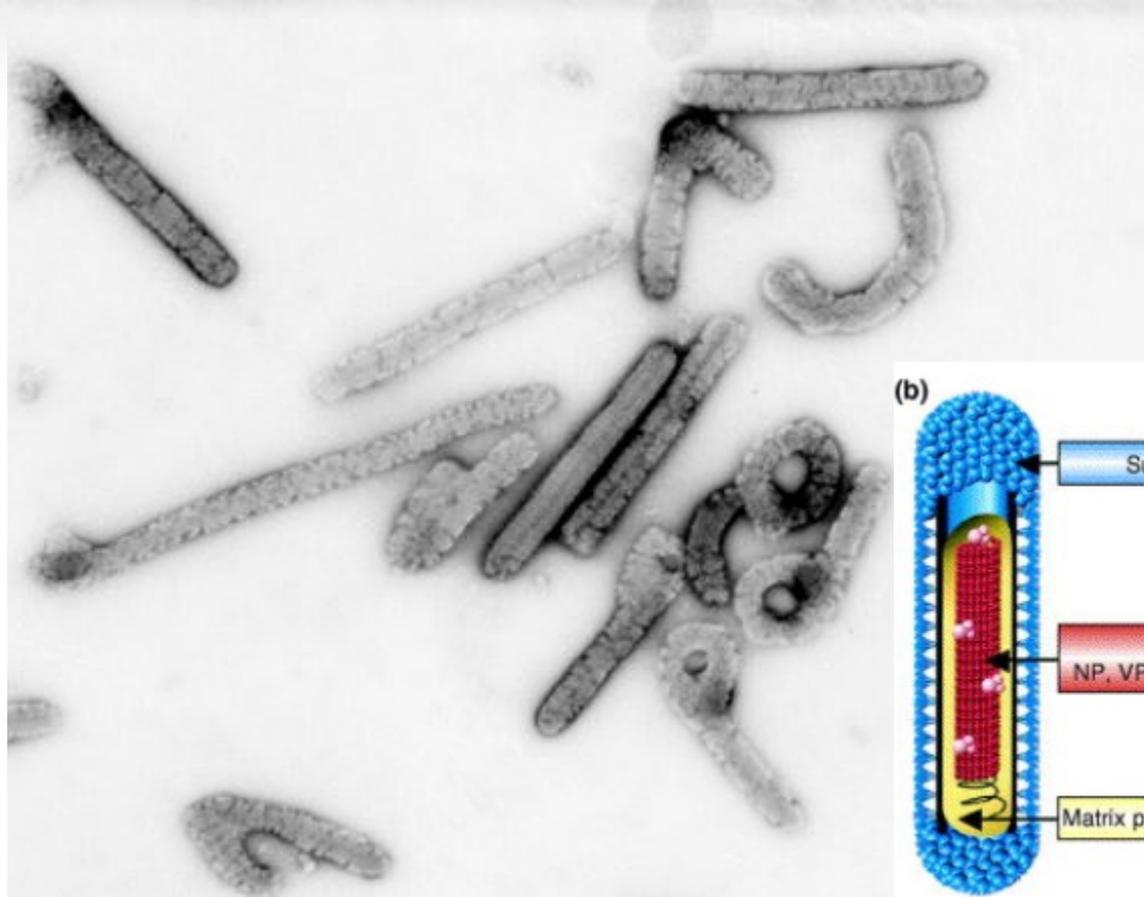
Filaments

L : 130 - 14 000 nm

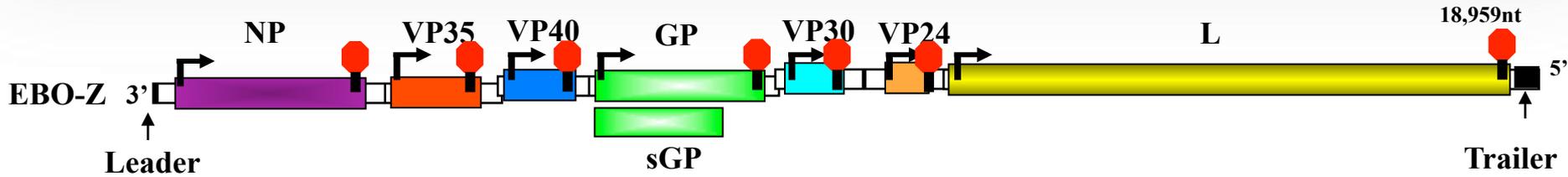
D : 80 nm

Enveloppe lipidique
spicules glycoprotéine
(GP)

ARN- 19 kDa



Organisation et structure du virus Ebola



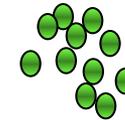
- : Nucleoprotéine
- : Polymerase L
- : VP30
- : VP35

Protéines
de
nucléocapside

- : Glycoprotéine de surface
8A editing

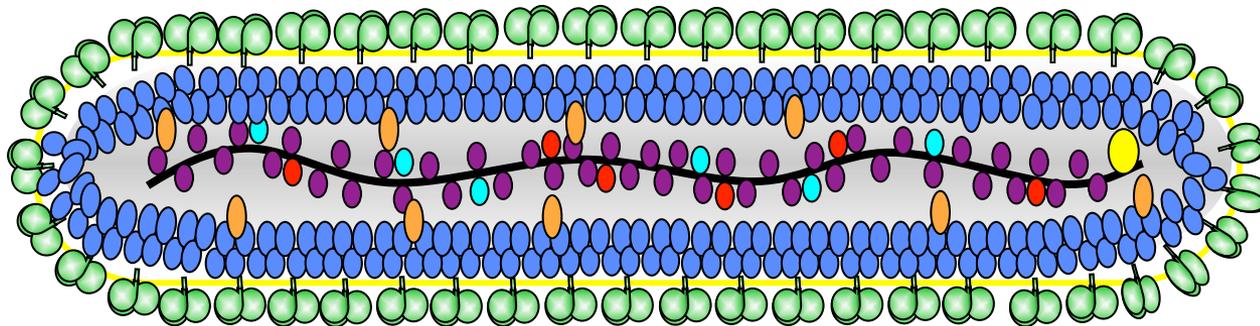
- : VP40
- : VP24

Protéines de matrice

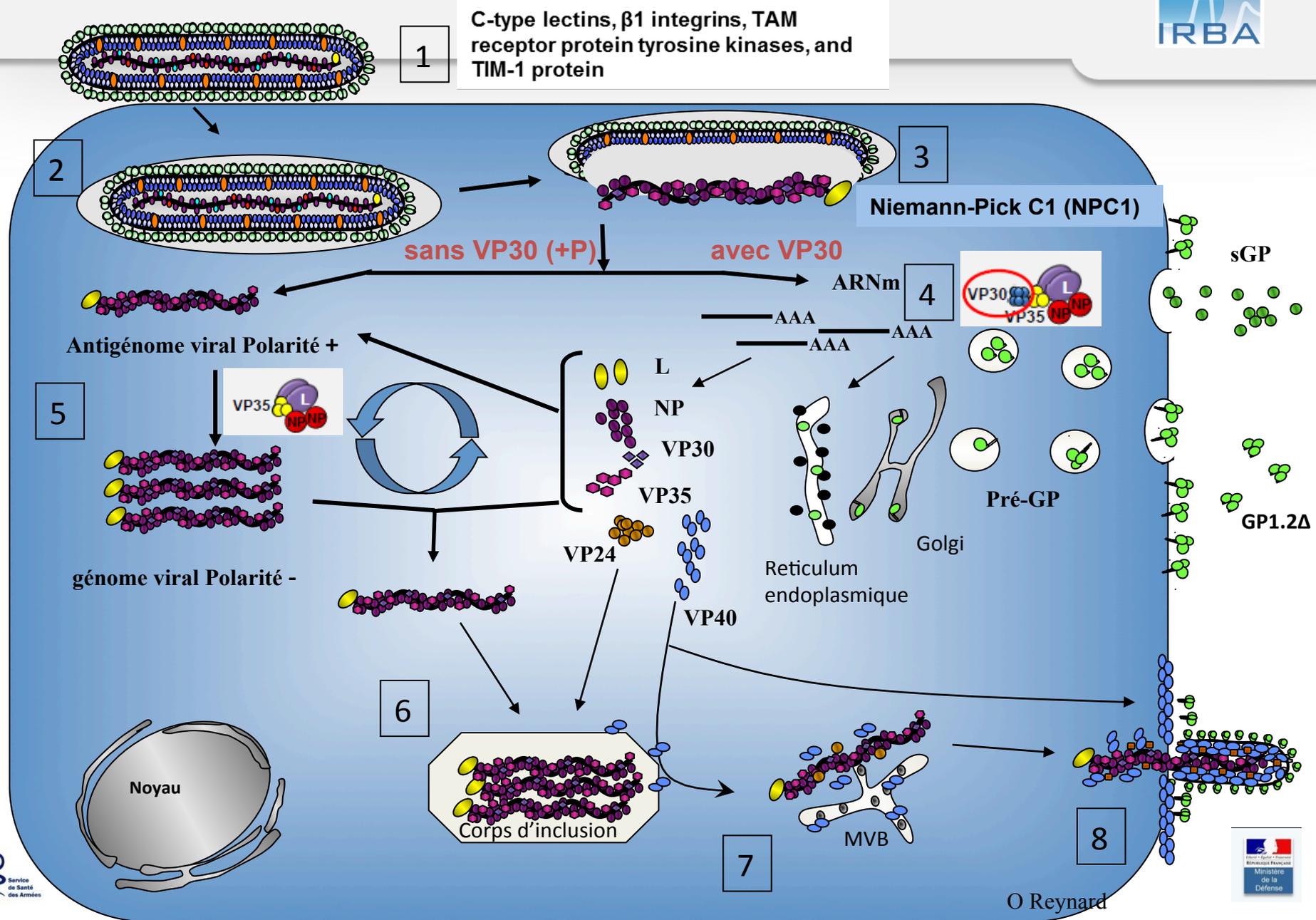


sGP : protéine non structurale
7A pas d'editing

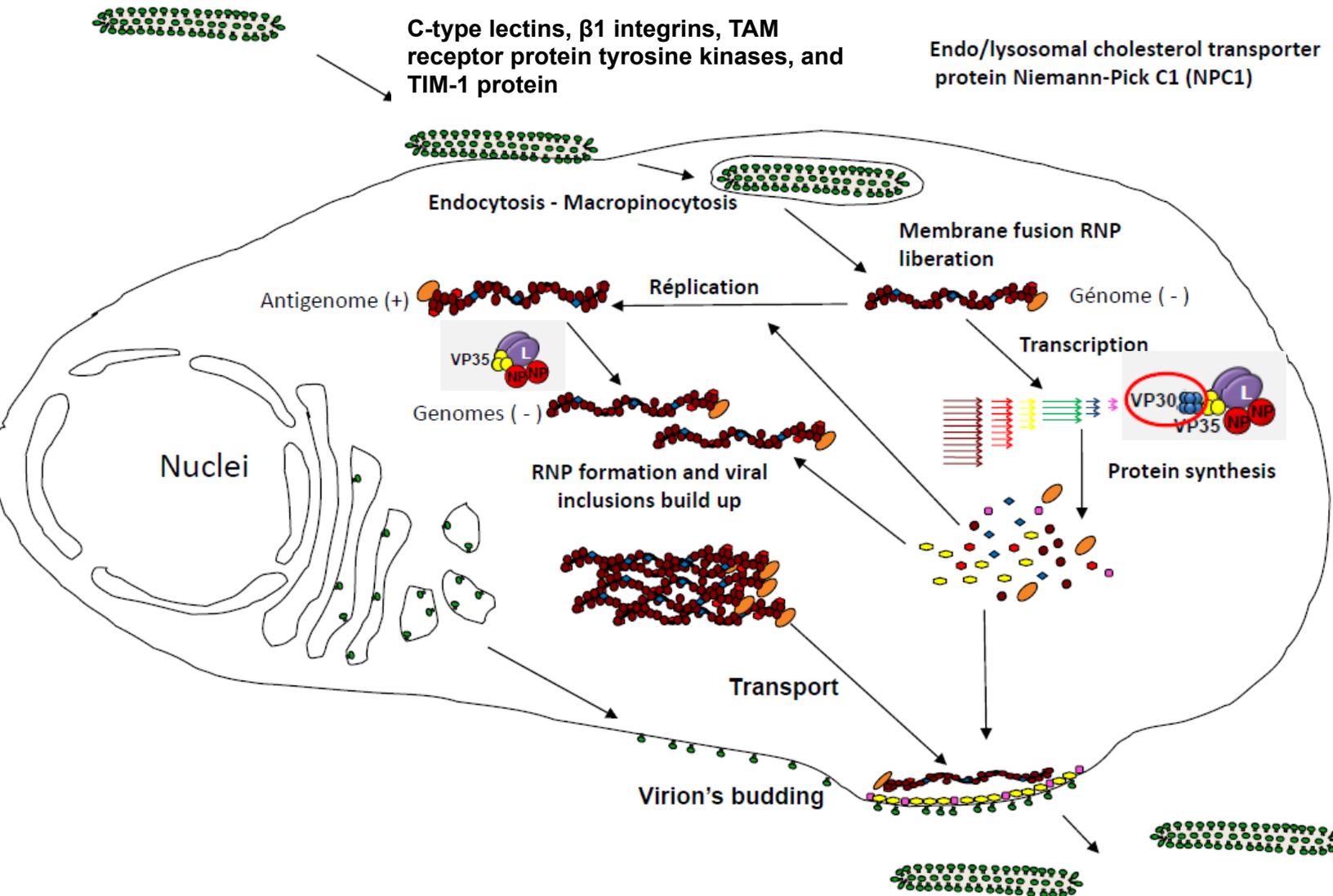
Organisation structurale du virion



Cycle viral du virus Ebola

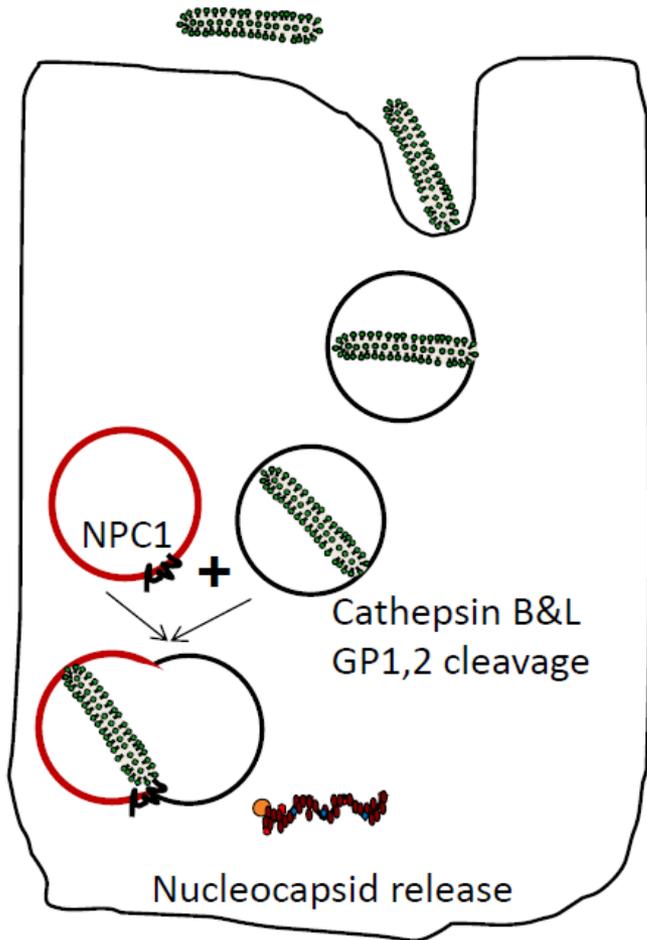


Cinétique



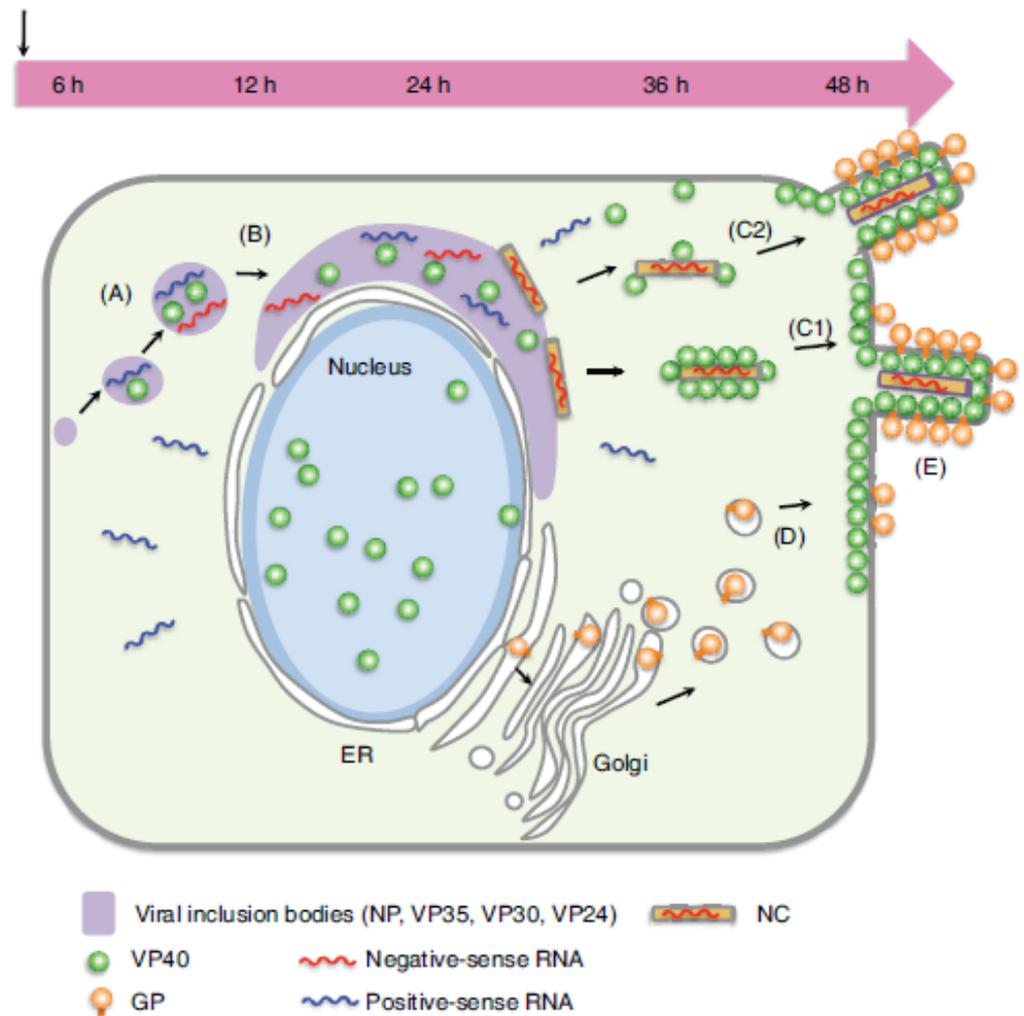
Cinétique

Pantropism (rec)



Viral Entry

Infection

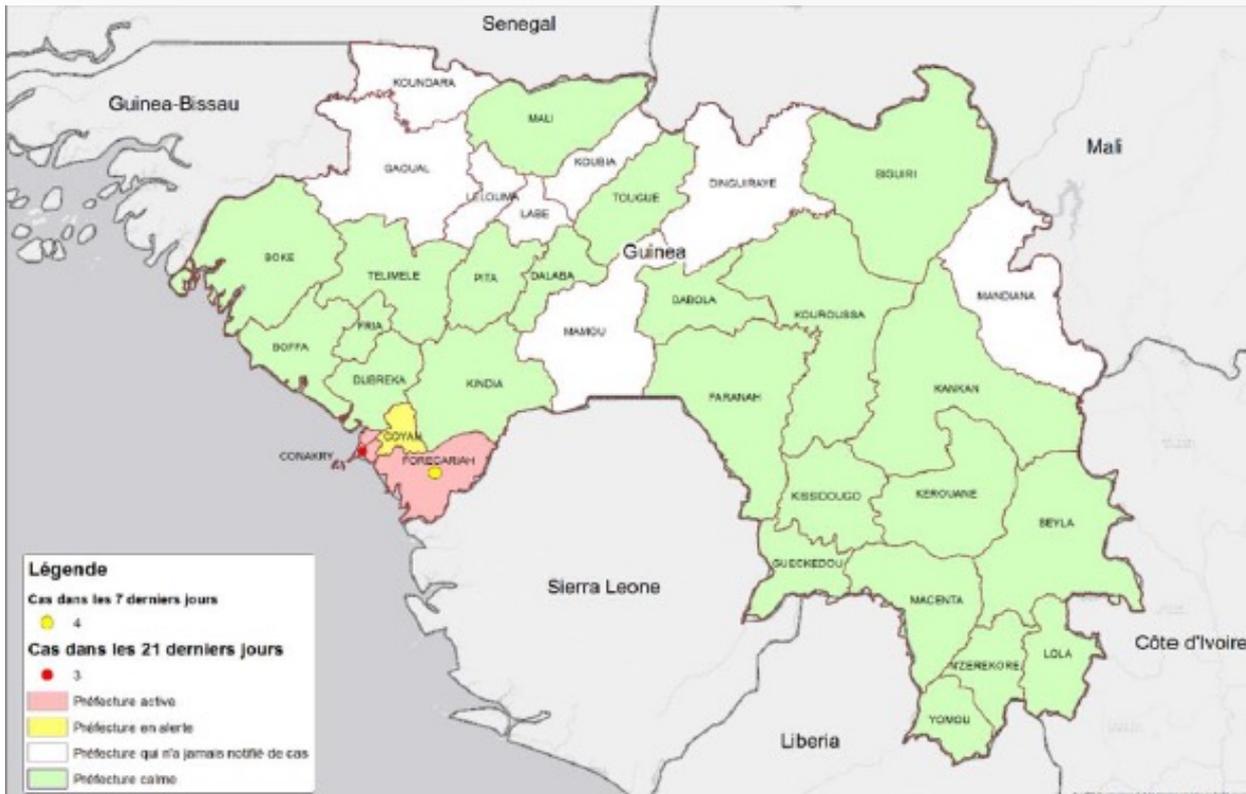


Au départ en Guinée

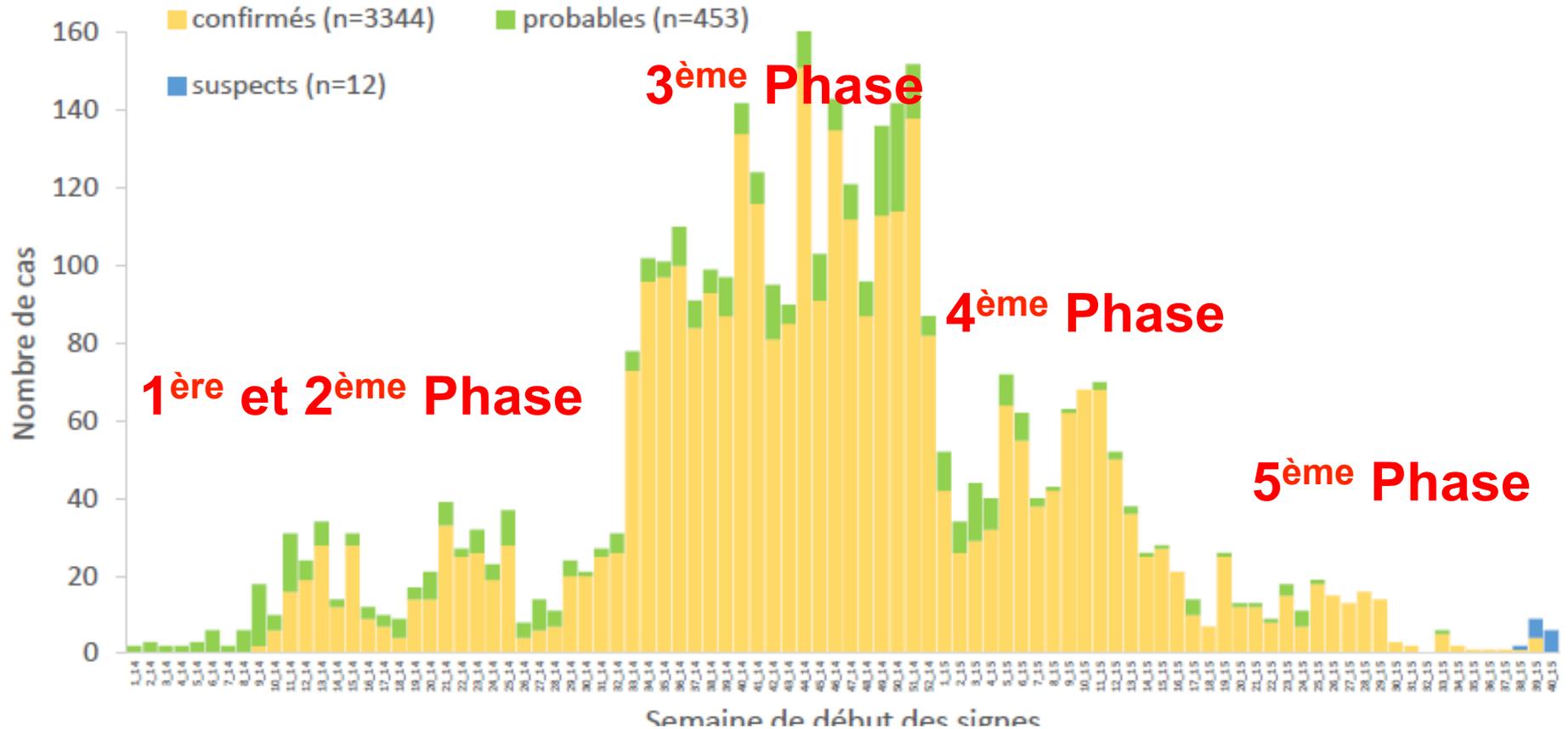


Situation au 30 septembre 2015

IRBA

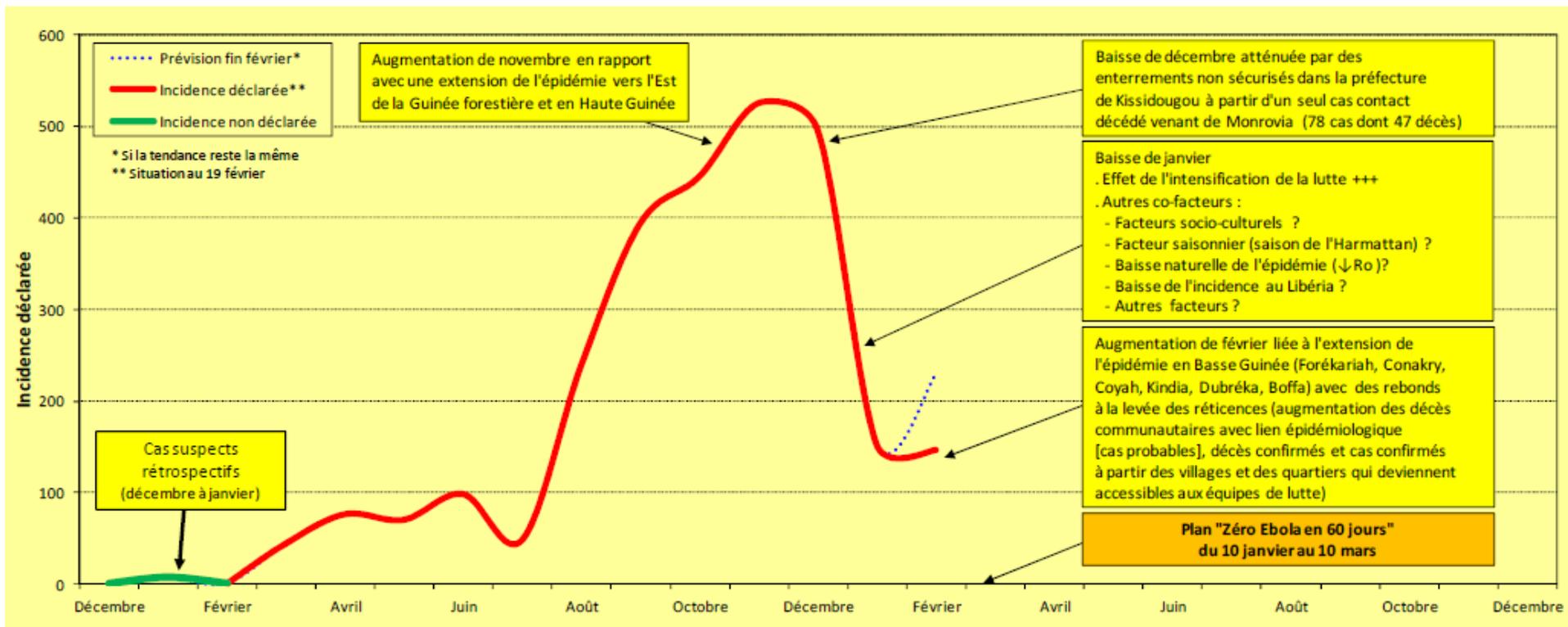


En Guinée : Morbidité mortalité

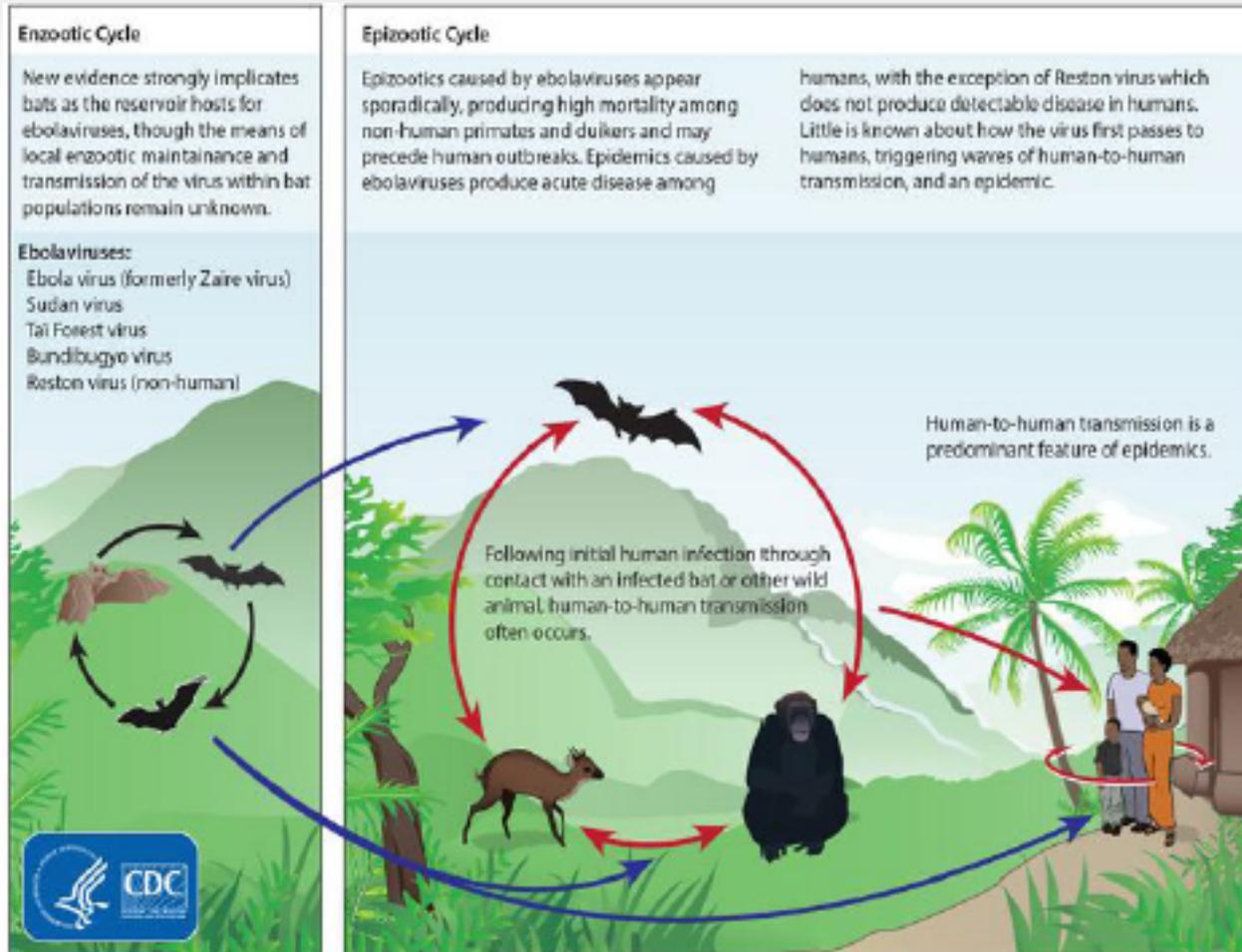


30 septembre: 3356 cas suspect/confirmés, 2080 décès

Evolution de l'épidémie en Guinée



Cycle épidémiologique



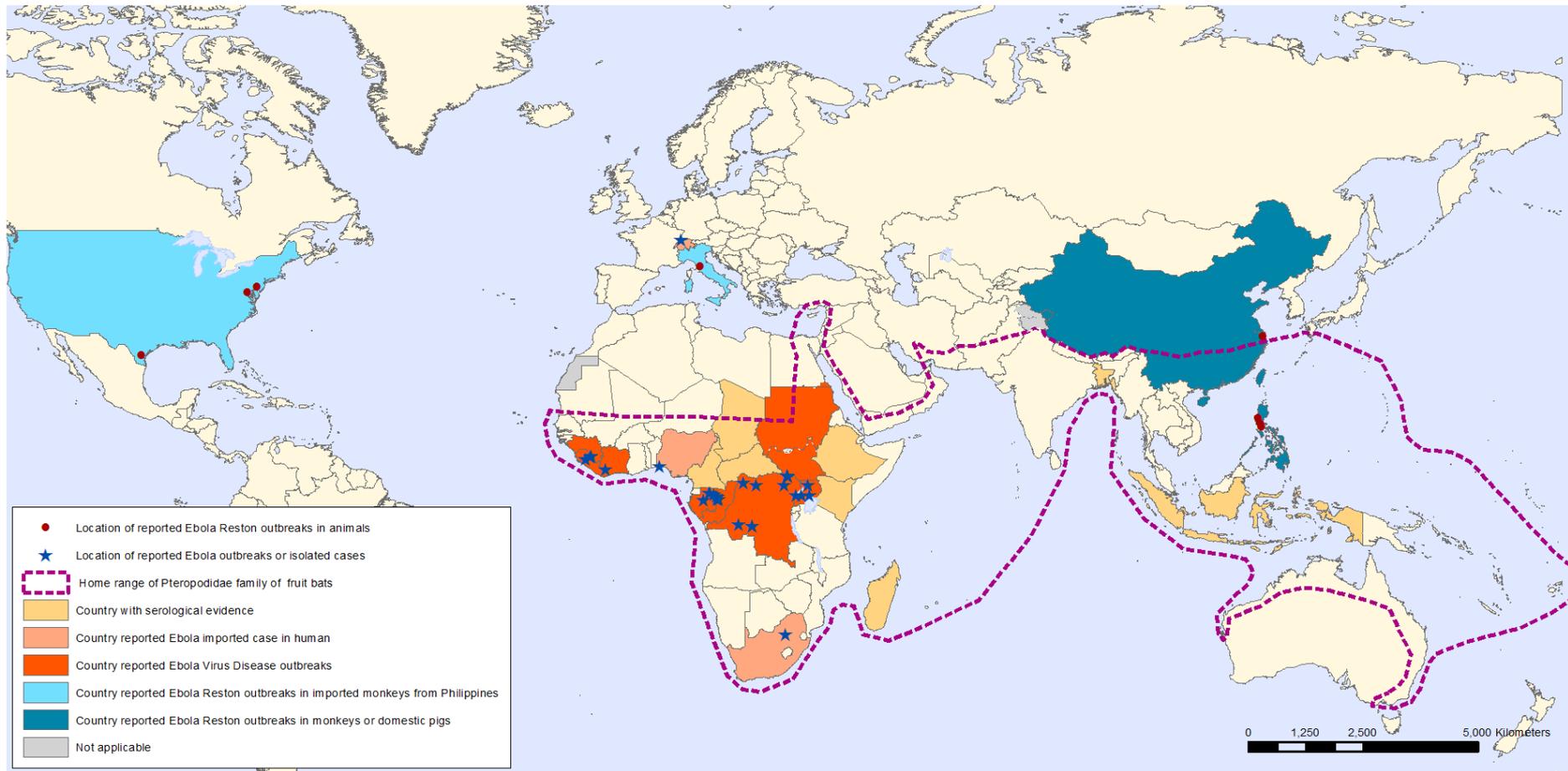
Transmission primaire



- Contact étroit avec du sang, des sécrétions, des organes ou des liquides biologiques d'animaux infectés chassés, retrouvés malades ou morts dans la forêt tropicale.
- chauves-souris frugivores, singes, antilopes des bois, porcs-épics, chimpanzés, gorilles
- Viande de brousse



Geographic distribution of Ebola virus disease outbreaks in humans and animals



1976 Yambuku (RDC) et Nzara (Soudan) Rivère Ebola (RDC)

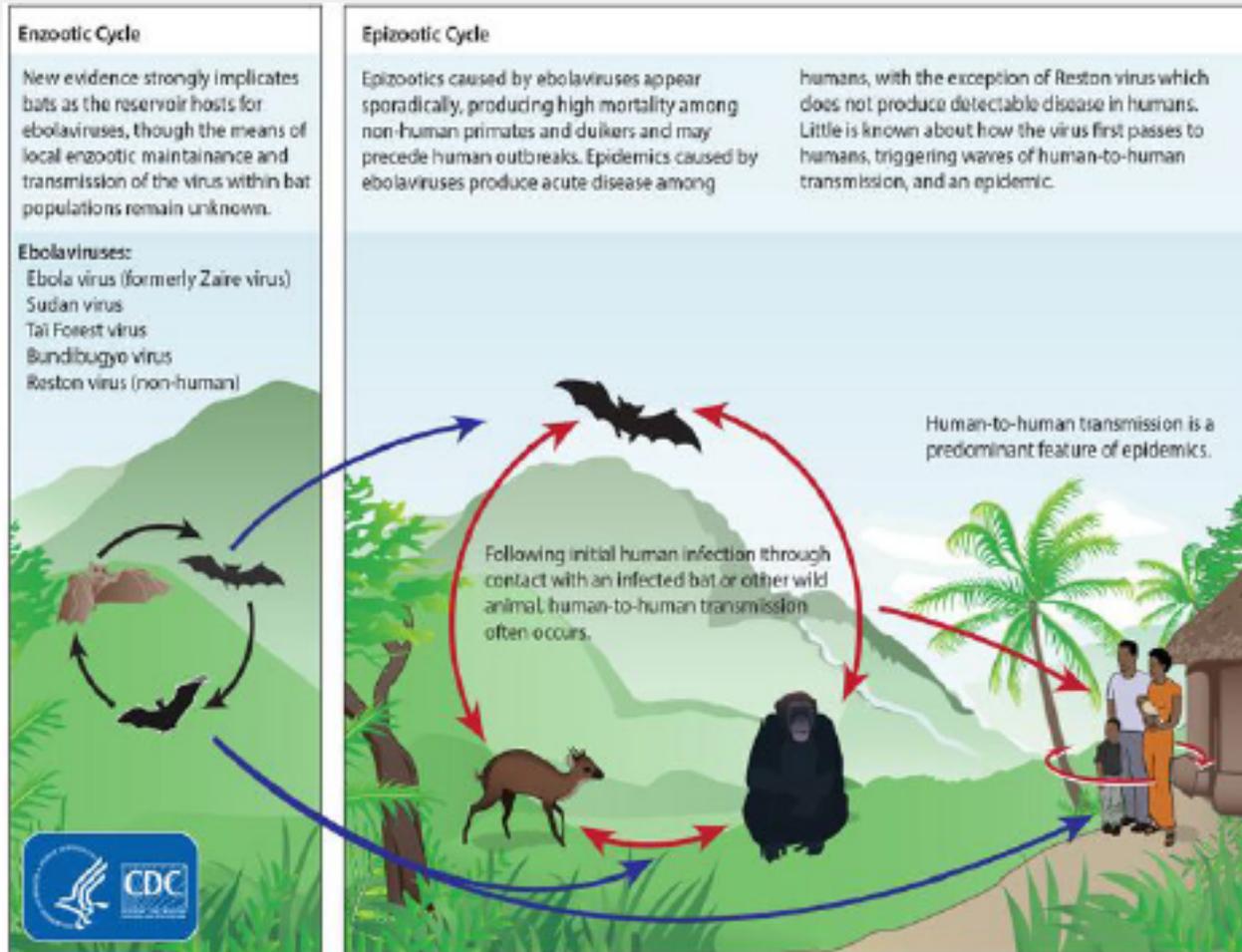
> 5000 cas dont 3000 décès

ization
and

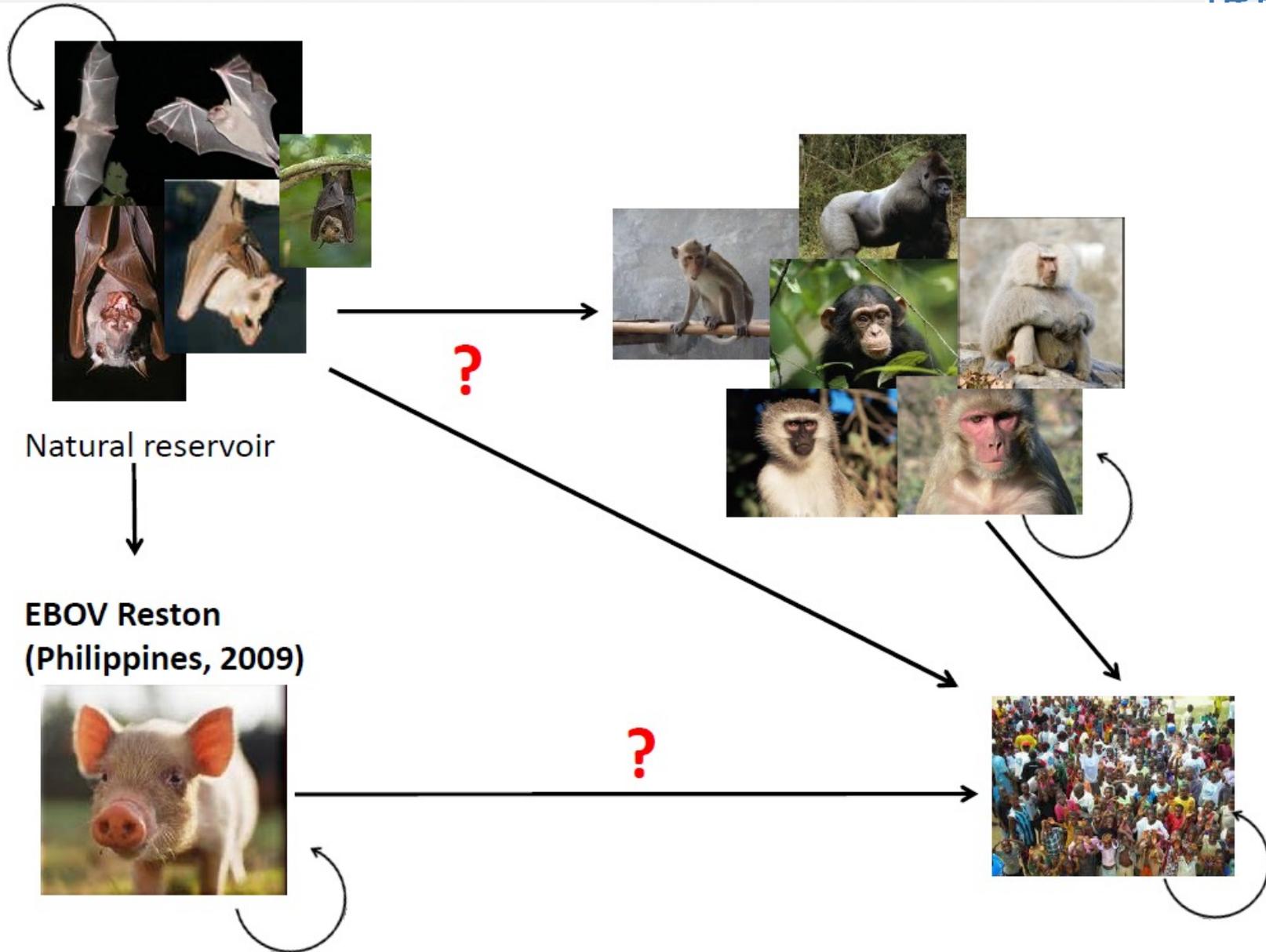


© WHO 2014. All rights reserved.

Cycle épidémiologique



Cycle épidémiologique

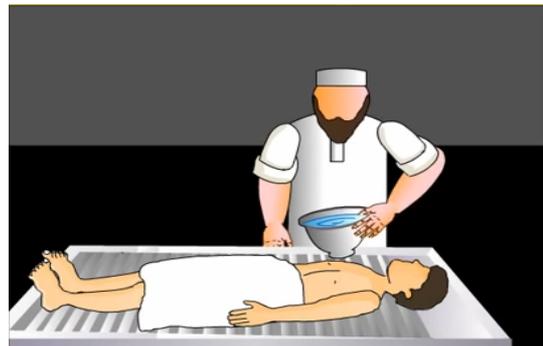


Transmission interhumaine

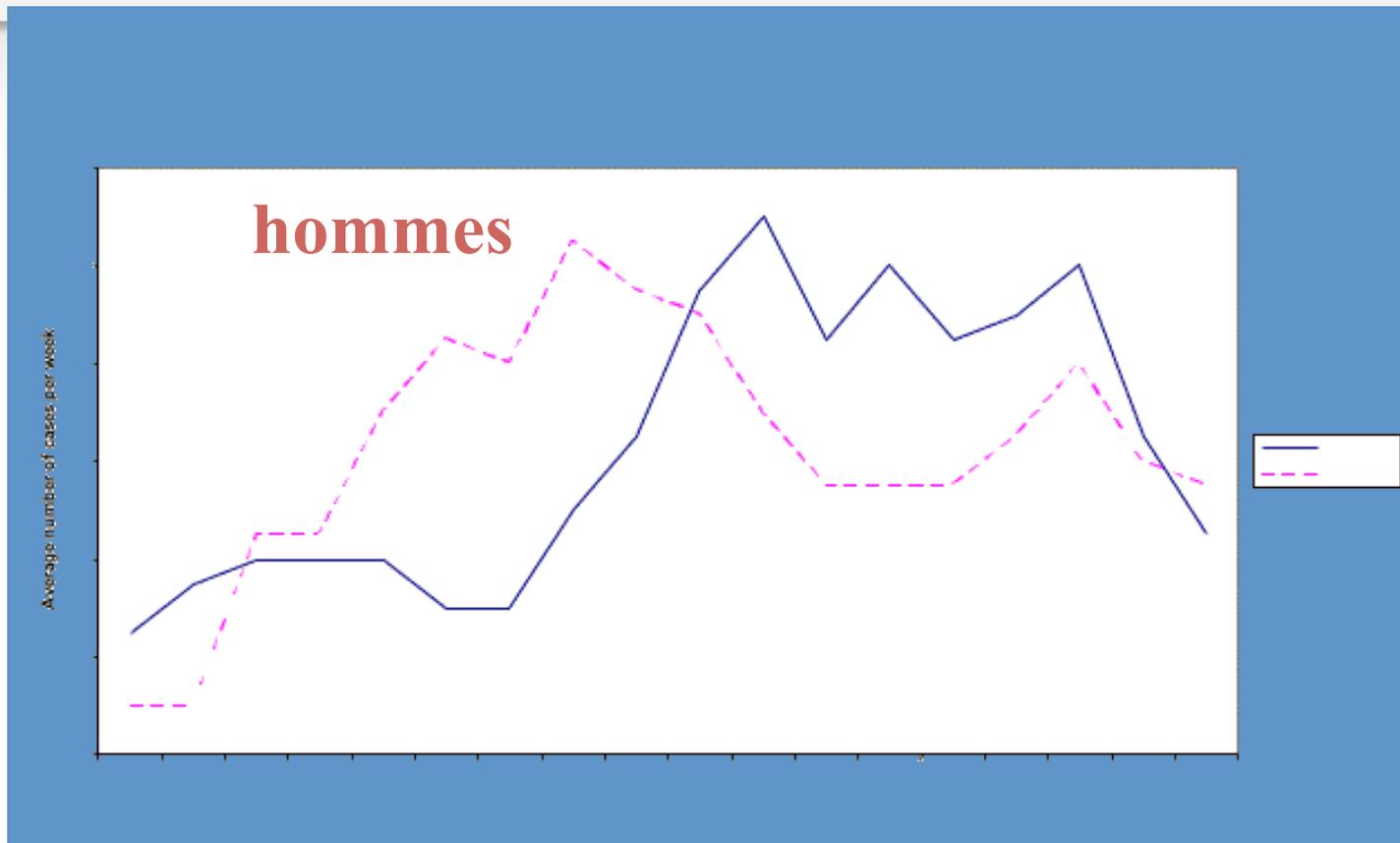
= contact direct avec liquides biologiques



- Liquides biologiques = sang, selles, vomissements, urines, salive, crachats, larmes, sperme
- Peau lésée, organes et muqueuses
- Contact associé à :
 - **stades avancés de la maladie** (pas de transmission en phase d'incubation ou au stade précoce avec fièvre isolée)
 - **circonstances d'exposition**
 - direct proches / soins / toilette funéraire
 - indirect / matériel de soins contaminé
 - **pas de transmission interhumaine par voie aérienne**



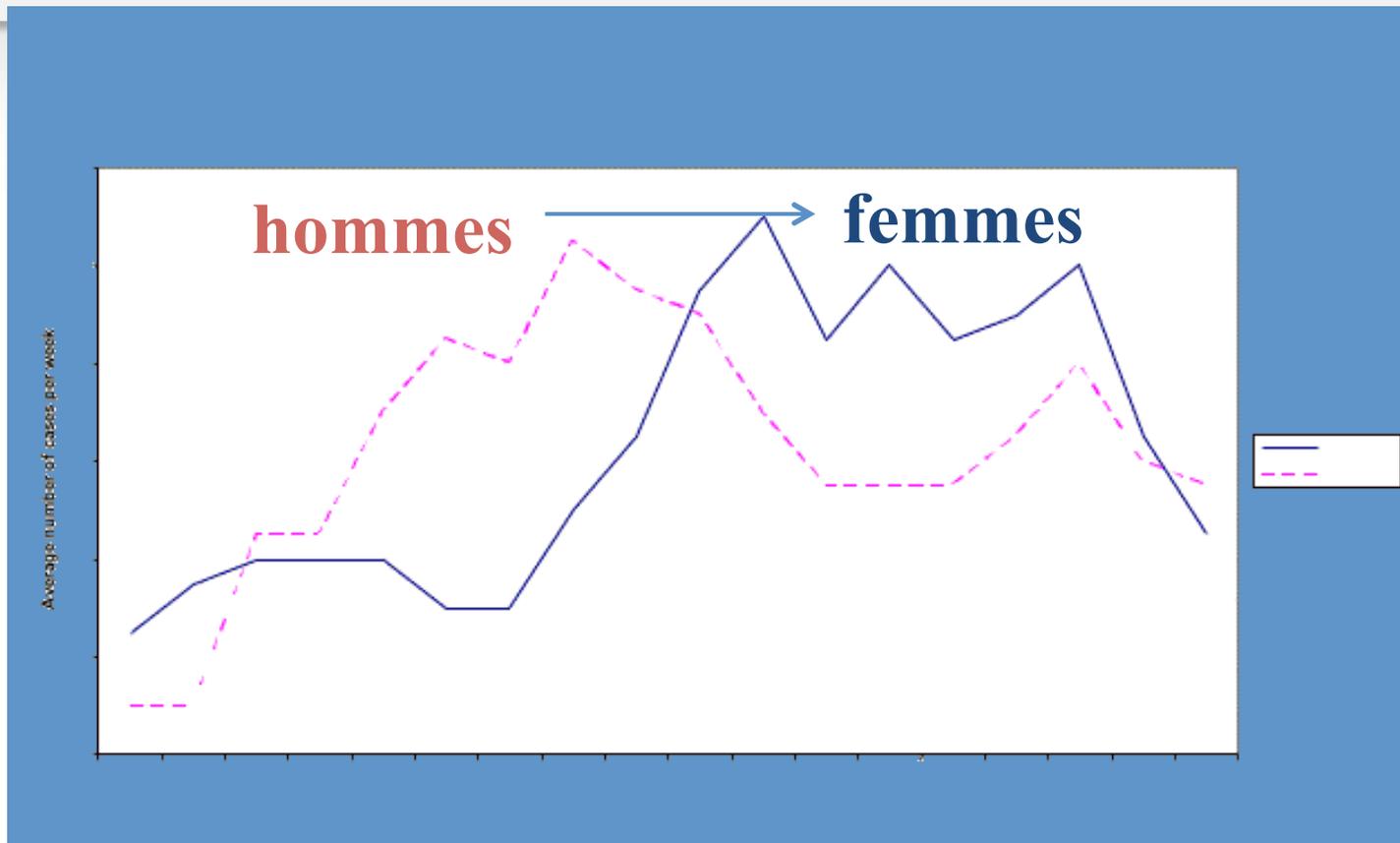
Epidémie FHVE



Les hommes sont infectés au début de l'épidémie par contact avec la faune sauvage

Les femmes sont infectées lors des soins aux malades de la famille

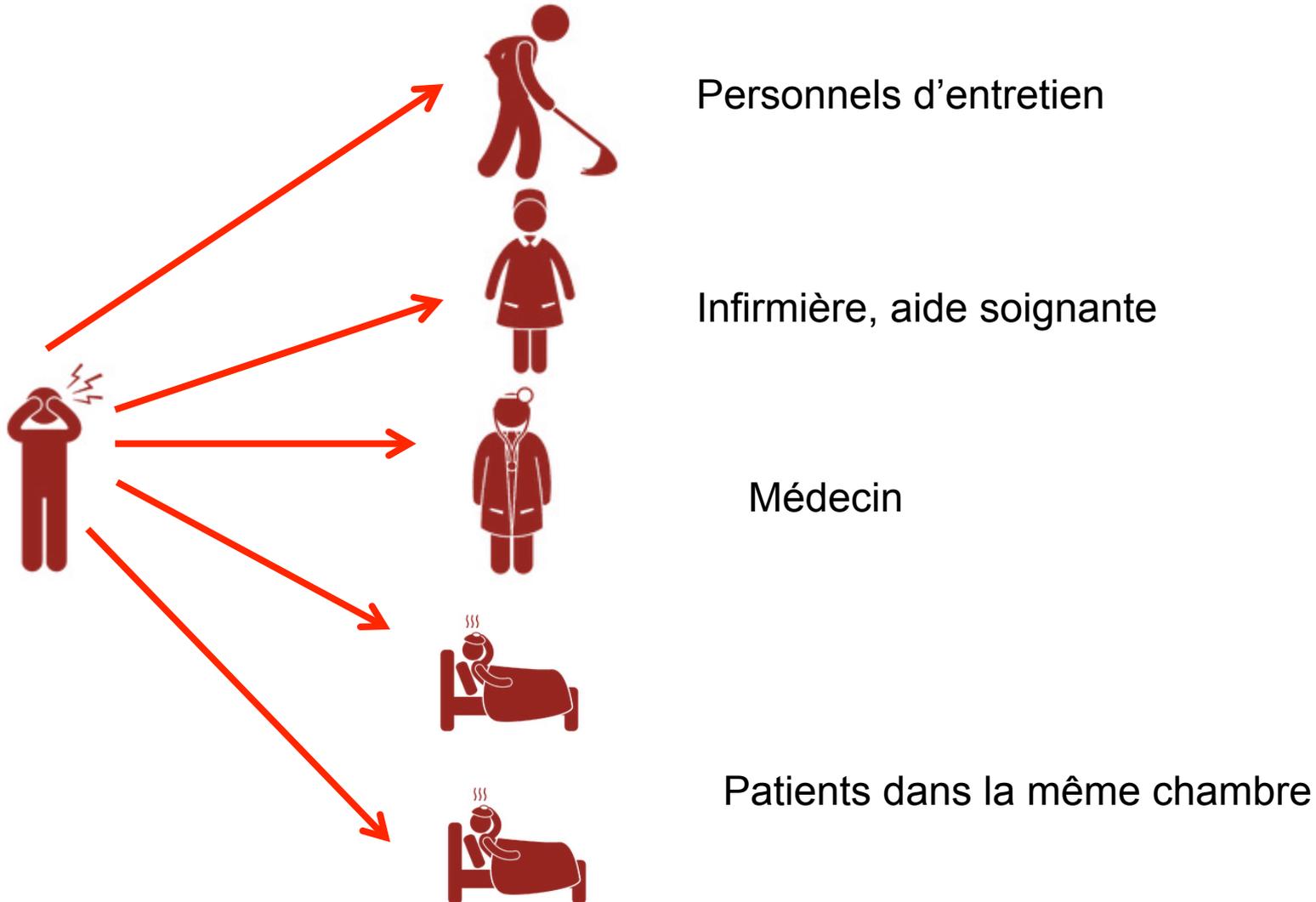
Epidémie FHVE



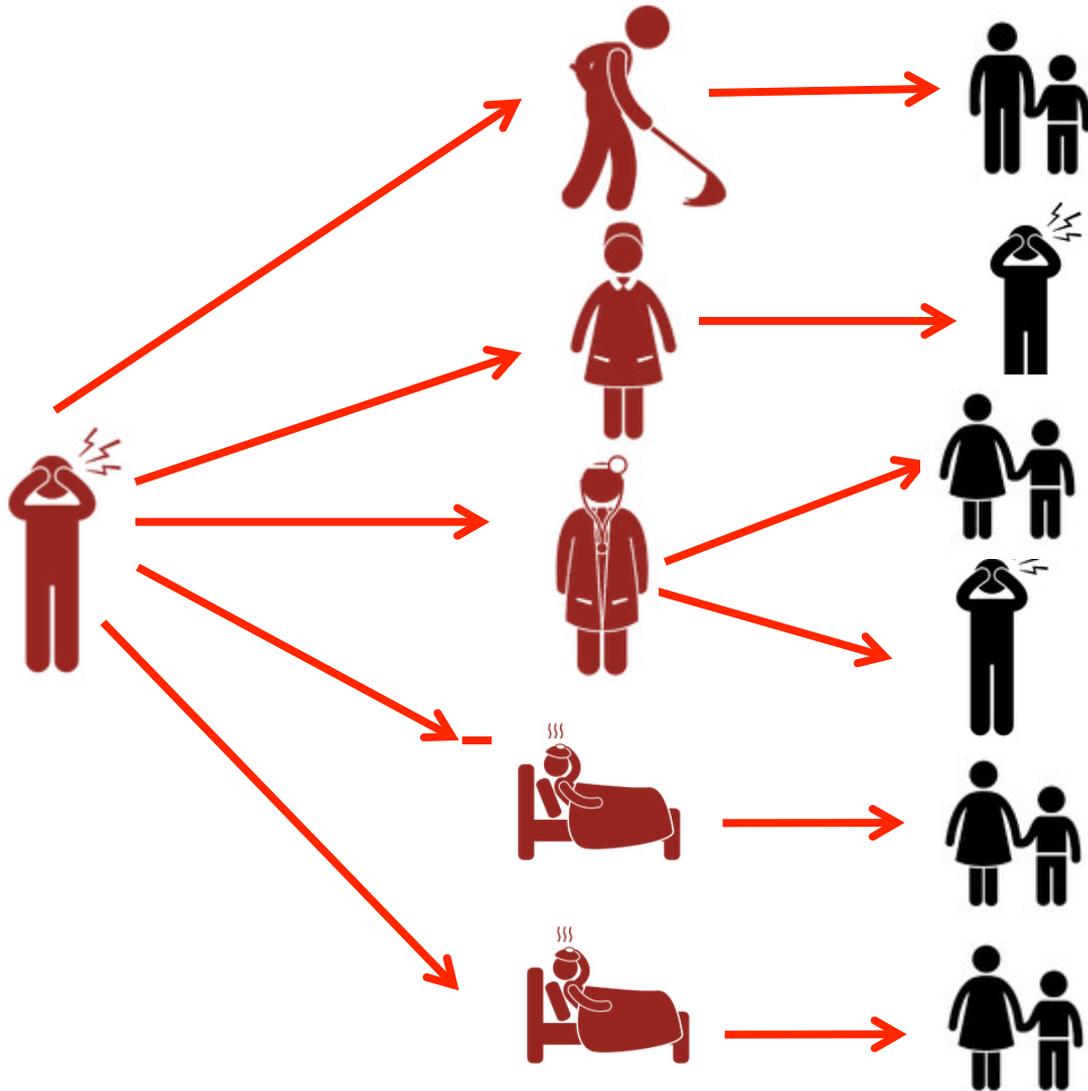
Les hommes sont infectés au début de l'épidémie par contact avec la faune sauvage

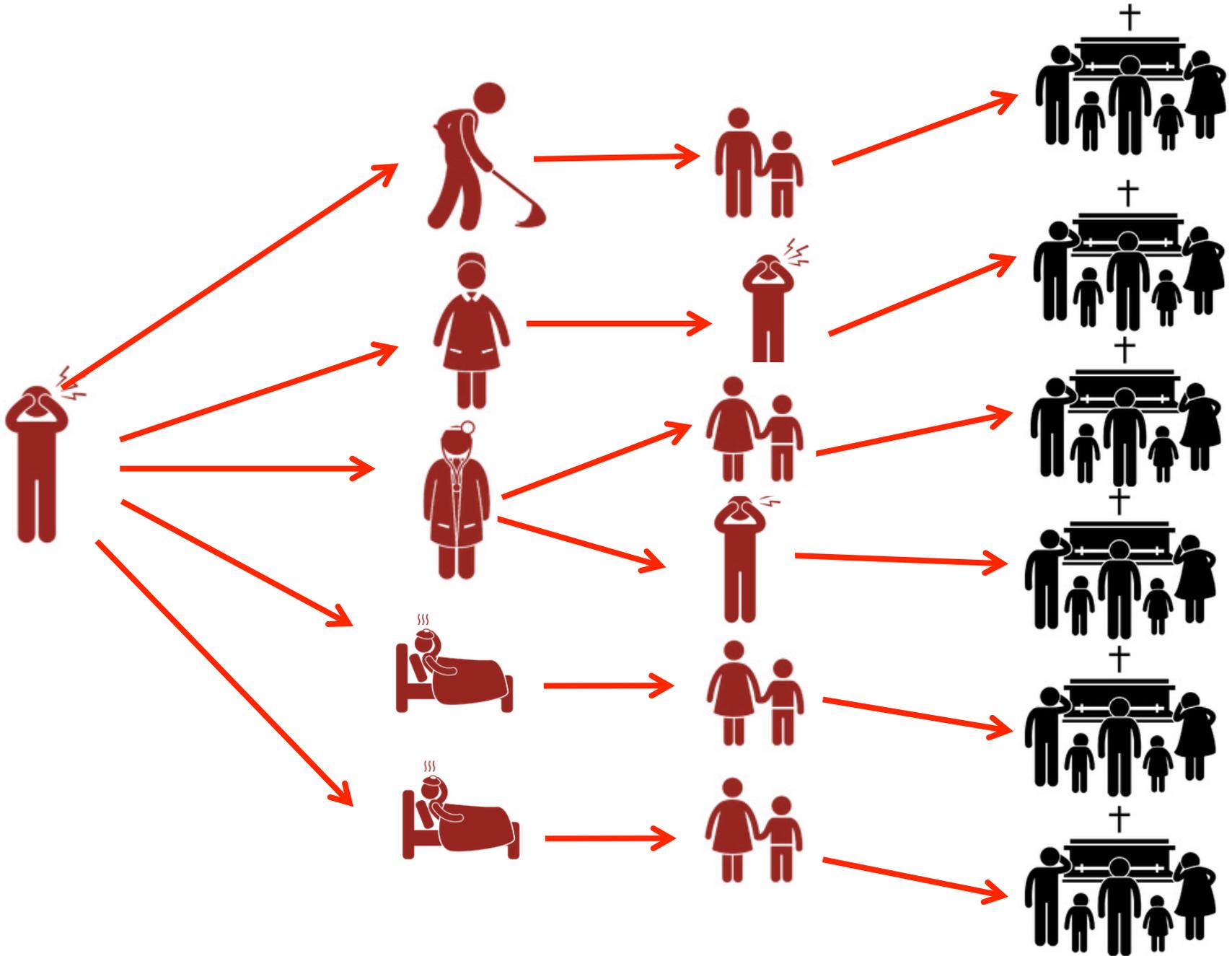
Les femmes sont infectées lors des soins aux malades de la famille

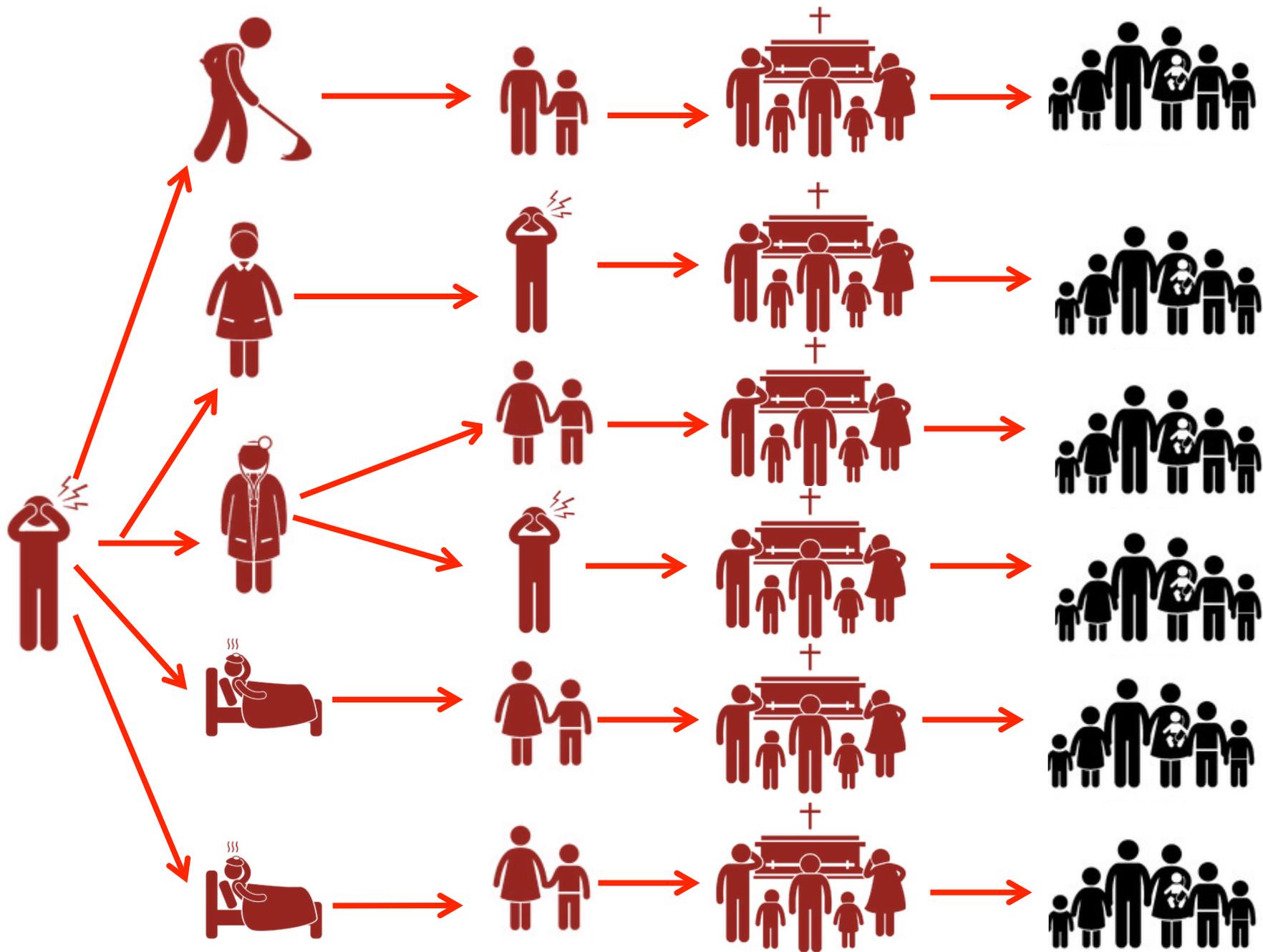
Un Patient Infecté par le virus Ebola peut Infecter plusieurs personnels de santé



Les personnels de santé peuvent en infecter d'autres personnes



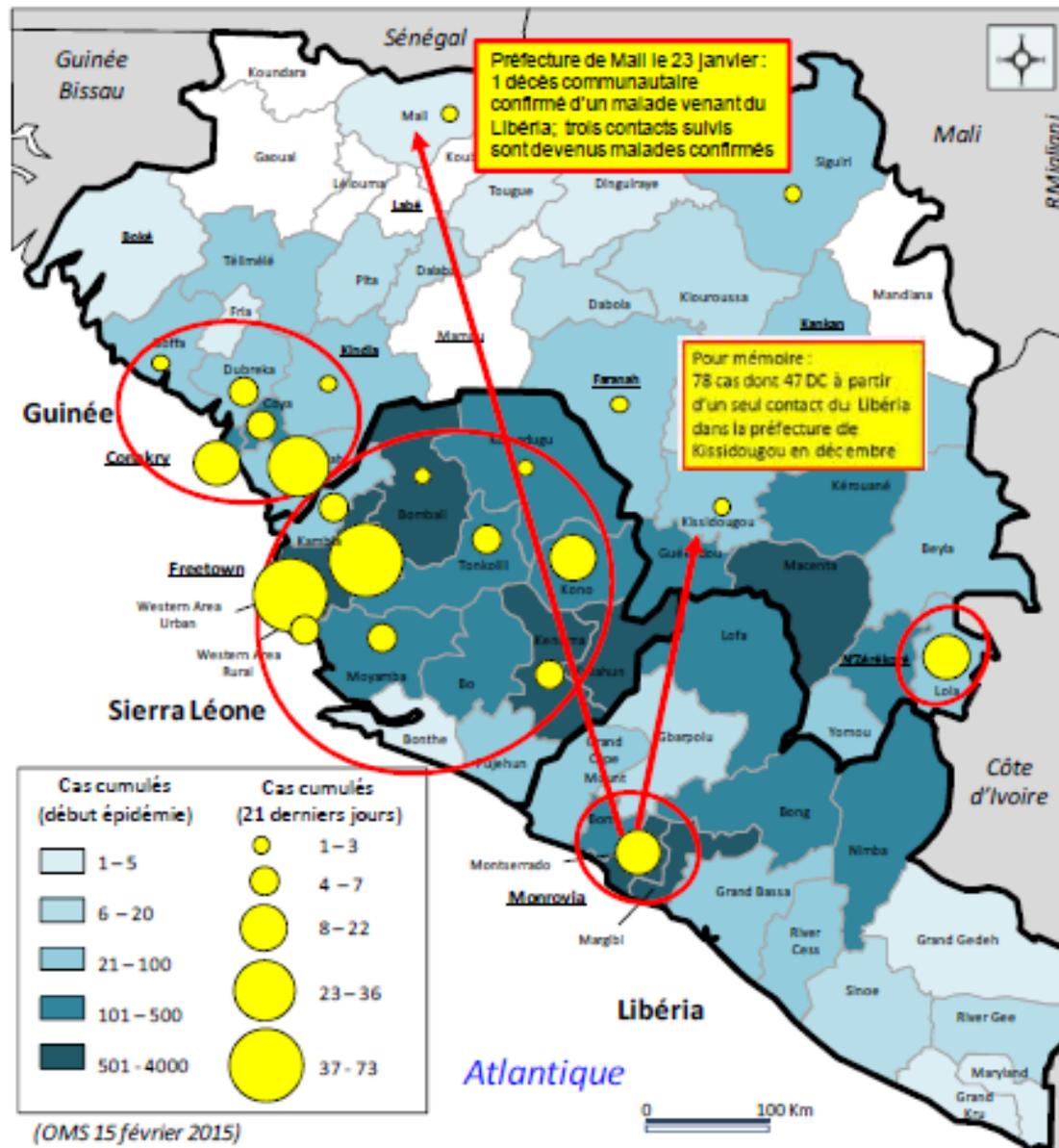




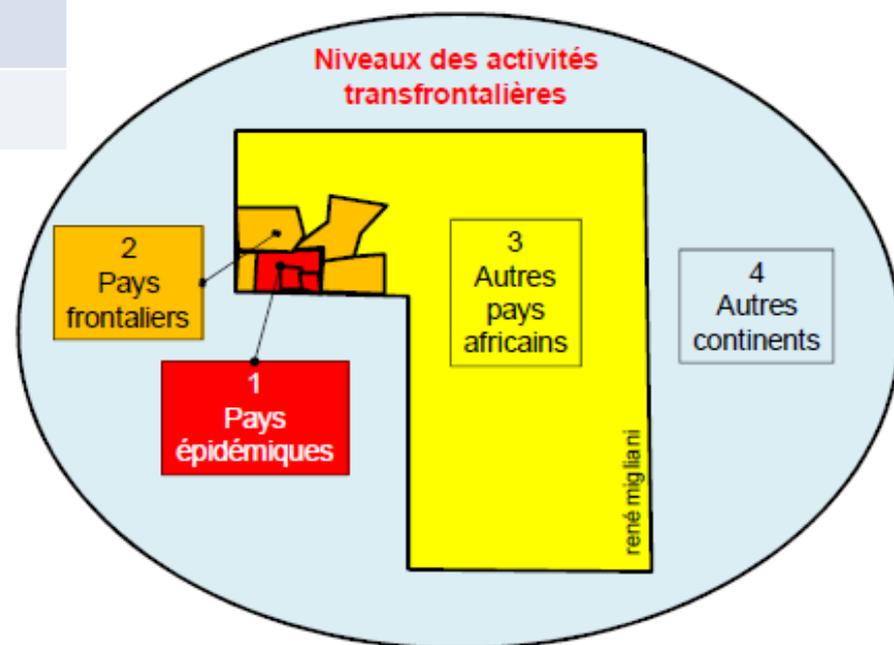
Extension de l'ÉPIDÉMIE



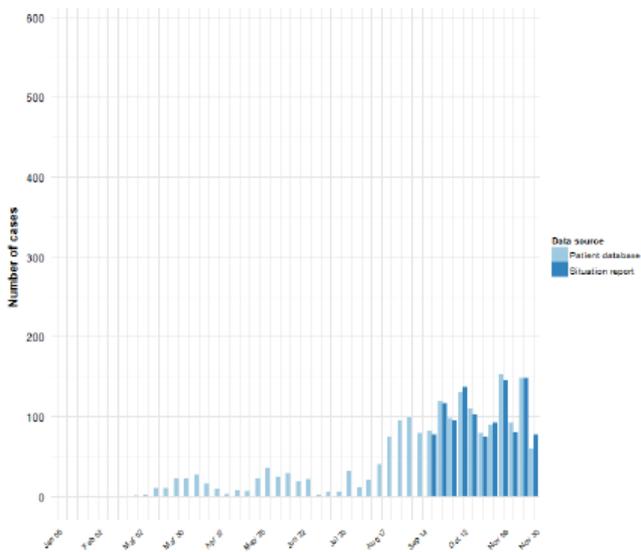
Extension de l'ÉPIDÉMIE D'EBOLA



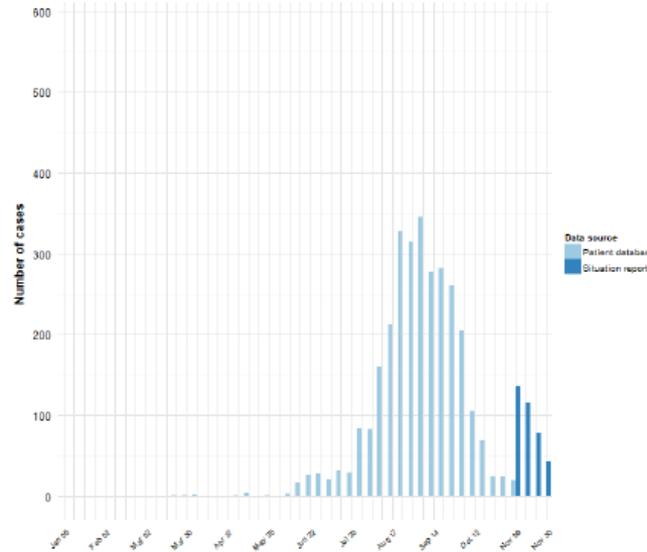
	Cas	Décès	%
Guinée	3805	2533	66,57
Sierra Léone	13911	3955	28,43
Libéria	10666	4806	45,06
Nigeria	20	8	40
Mali	8	6	75
Sénégal	1	0	0
Espagne	1	0	0
Grande Bret.	1	0	0
Etats-Unis	4	1	25
Total	28417	11309	39,8



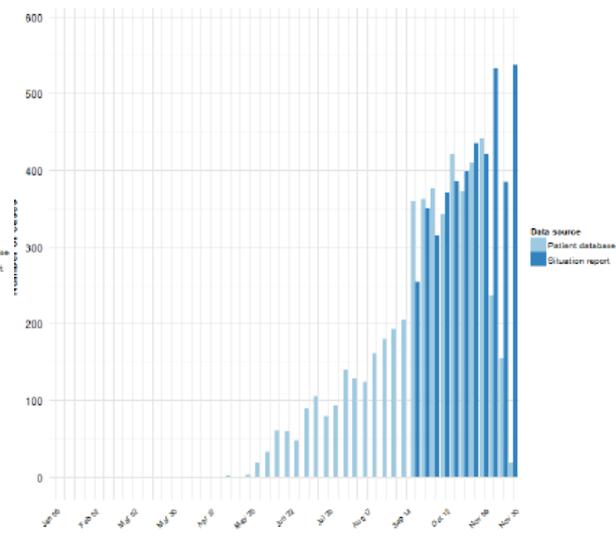
Evolution de l'épidémie dans les trois pays



Guinée



Libéria



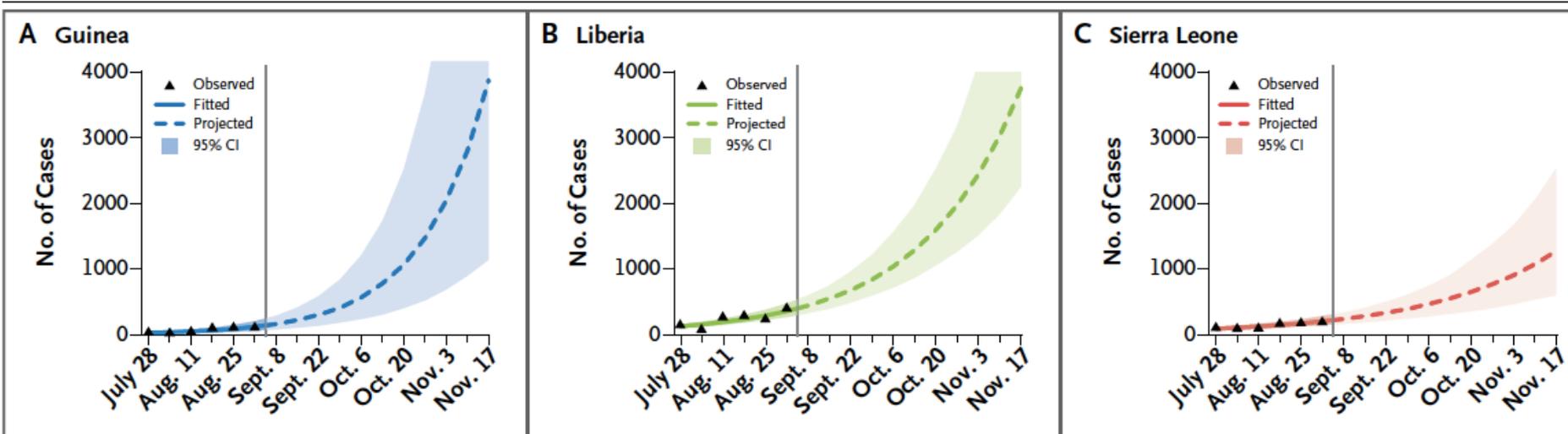
Sierra Leone

ORIGINAL ARTICLE

Ebola Virus Disease in West Africa — The First 9 Months of the Epidemic and Forward Projections

WHO Ebola Response Team*

Projections au 2/11/2014



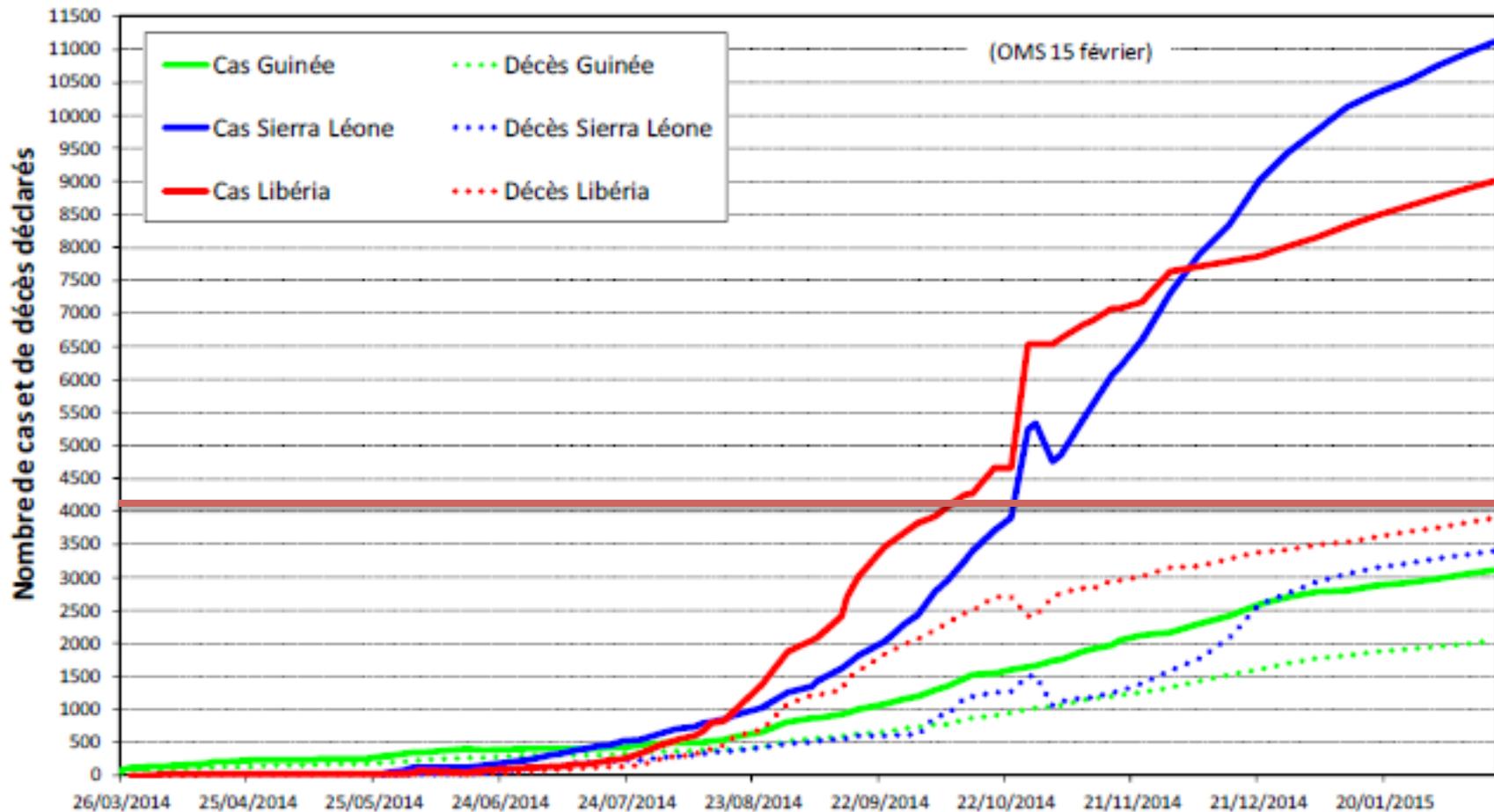
Guinée: 2283

Libéria: 7719

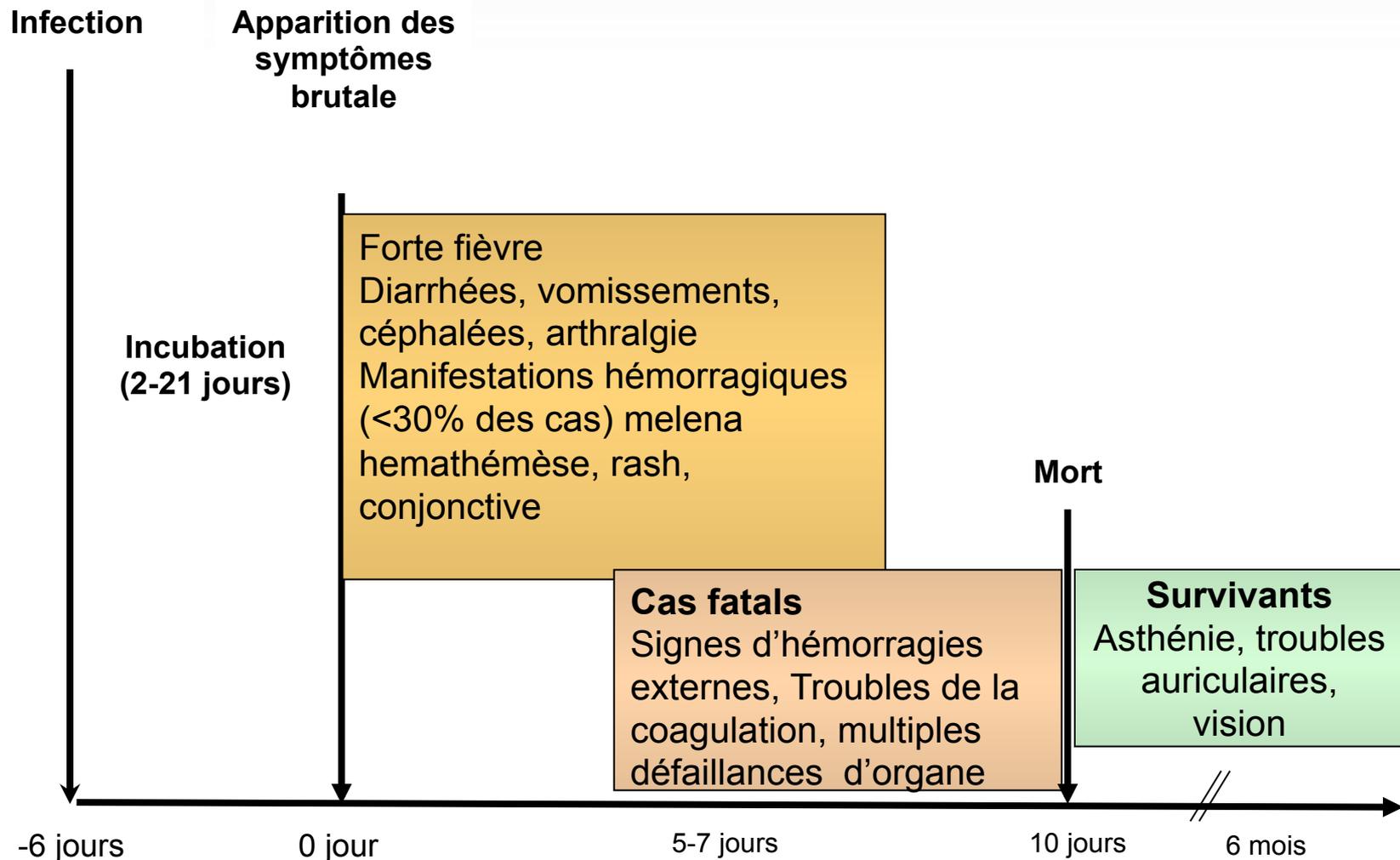
Sierra Leone: 7798

Données au 10 décembre 2014, source OMS

Evolution dans les trois pays



Evolution de la maladie



Modèles animaux

- Non-human primate



- Guinea pig



- Mouse

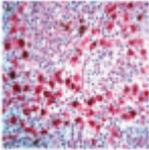
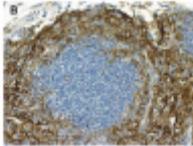
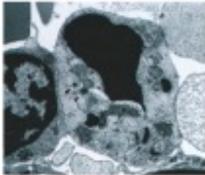
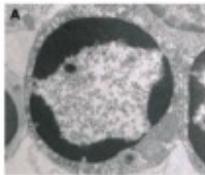
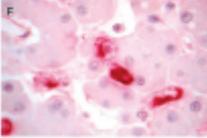
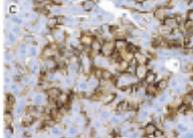
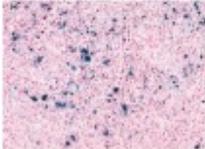
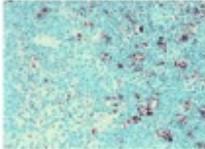
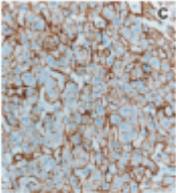
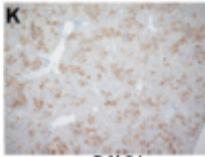
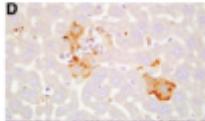


- Syrian hamster



Adaptation nécessaire

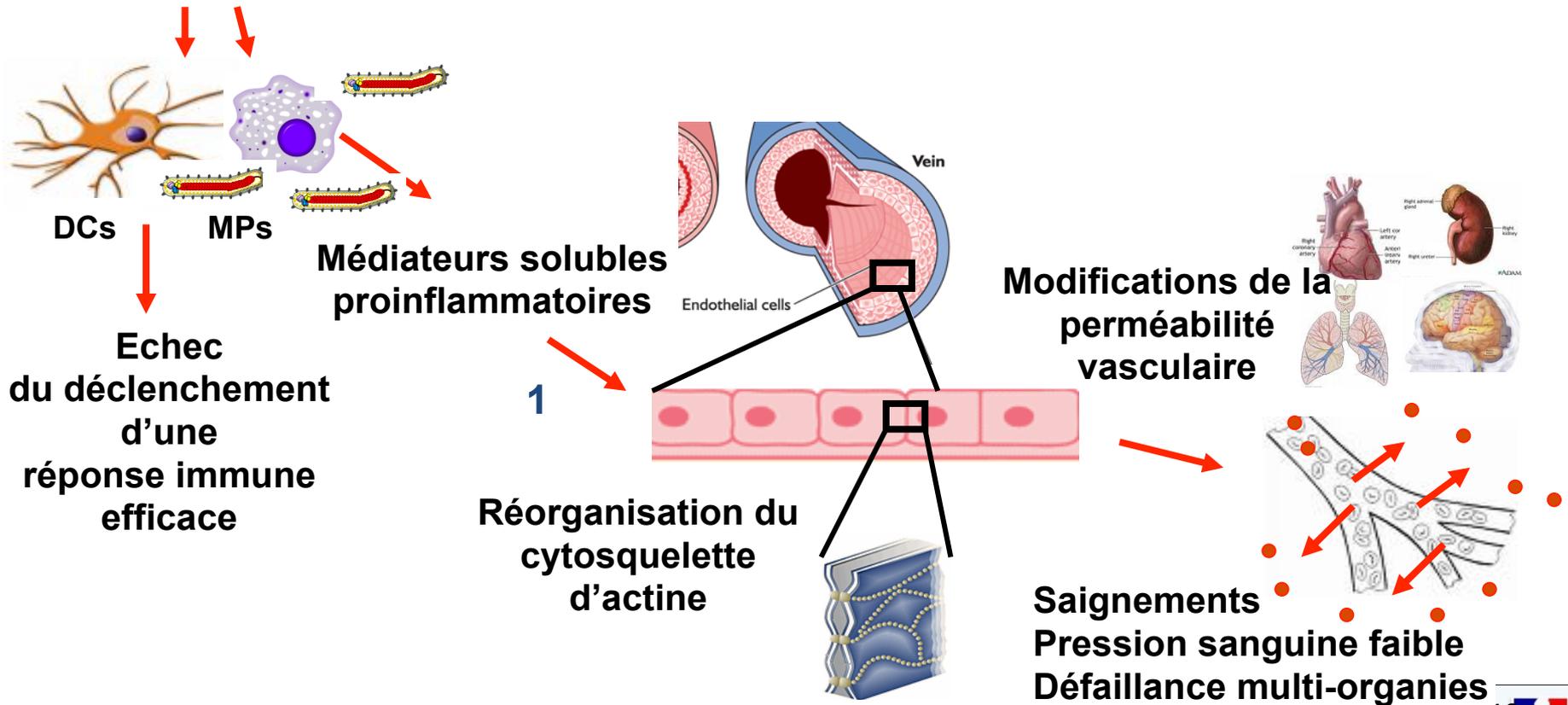
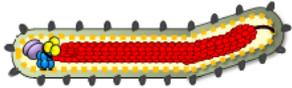
Modèles animaux

NHP	Mice	NHP	Mice	
				EBOV antigen in lymph node
				EBOV antigen in liver
				MARV/RAVV antigen in liver
WT MARV	maRAVV			Lymphocyte apoptosis by EM
				Lymphocyte apoptosis by TUNEL
	MARV in STAT1 mouse			
				
	saMARV in SCID mouse			

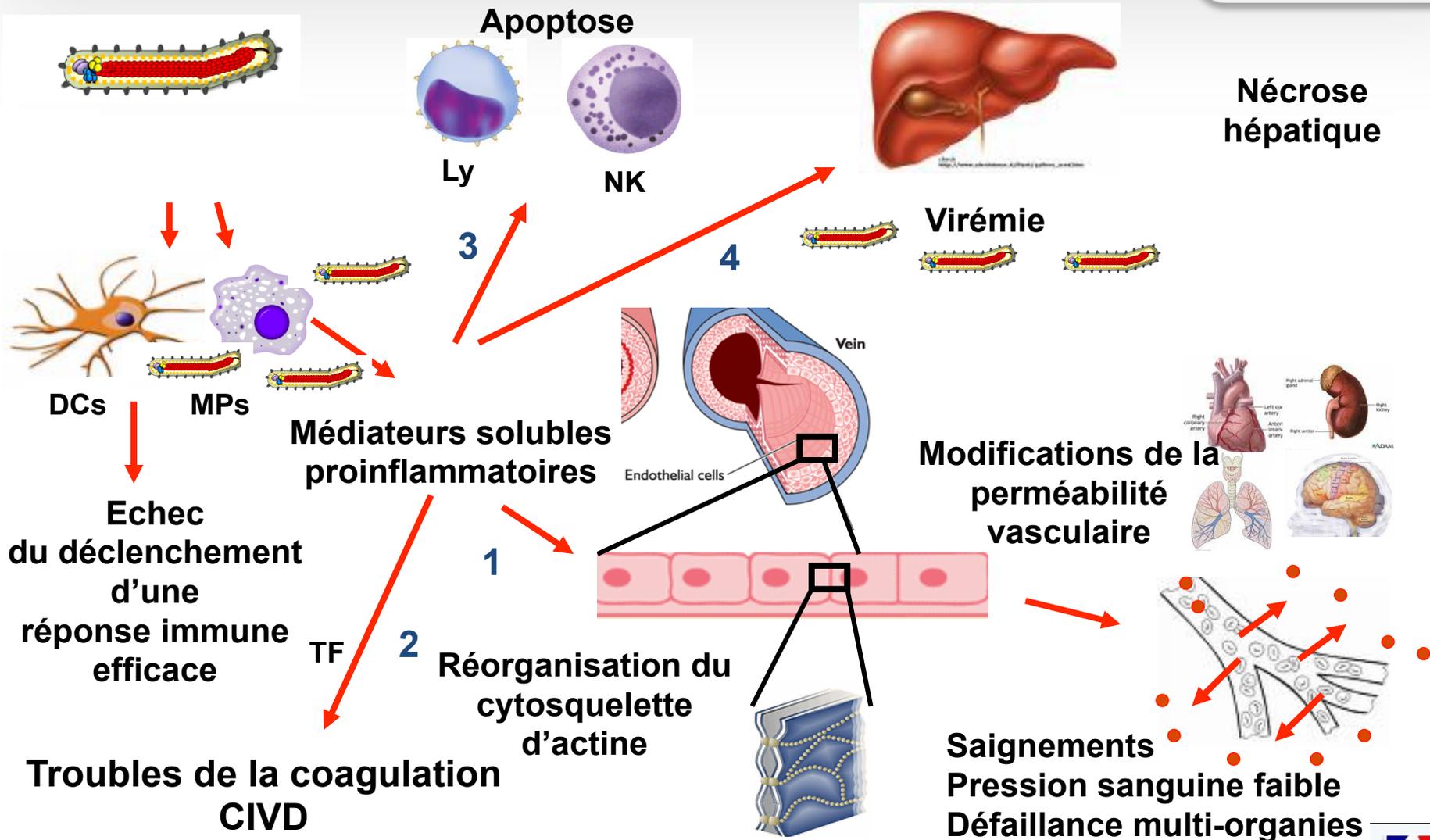
Mouse Models for Filovirus Infections

Steven B. Bradfute^{1,*}, Kelly L. Warfield² and Mike Bray³

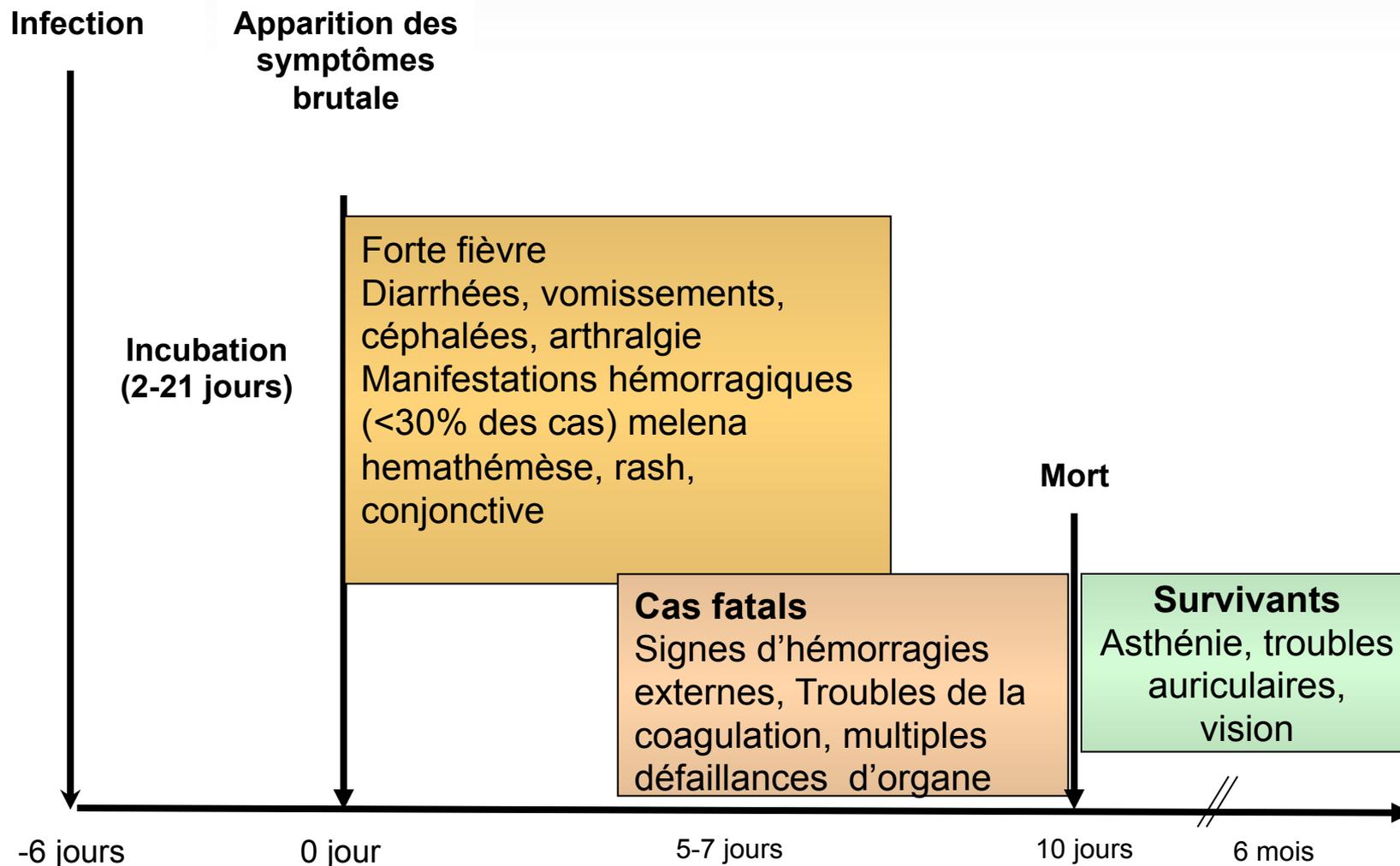
Pathogenèse du virus Ebola



Pathogenèse du virus Ebola



Diagnostic..... rapide



FHV : diagnostic différentiel



- Très proche de
 - **Paludisme +++**
 - Rickettsiose, Erlichioses, Leptospirose
 - Fièvre récurrente, Typhus
 - Shigelloses, Peste
 - Fièvre typhoïde
 - Septicémie Gram négative avec CIVD
- Autres viroses
 - **Autre virus de fièvres hémorragiques +++**
 - **Lassa, FH de Crimée-Congo, Marbourg, ...**
 - Arboviroses
 - Rougeole, LCMV
 - Hépatites virales fulminantes
- Envenimations

Diagnostic des VFH

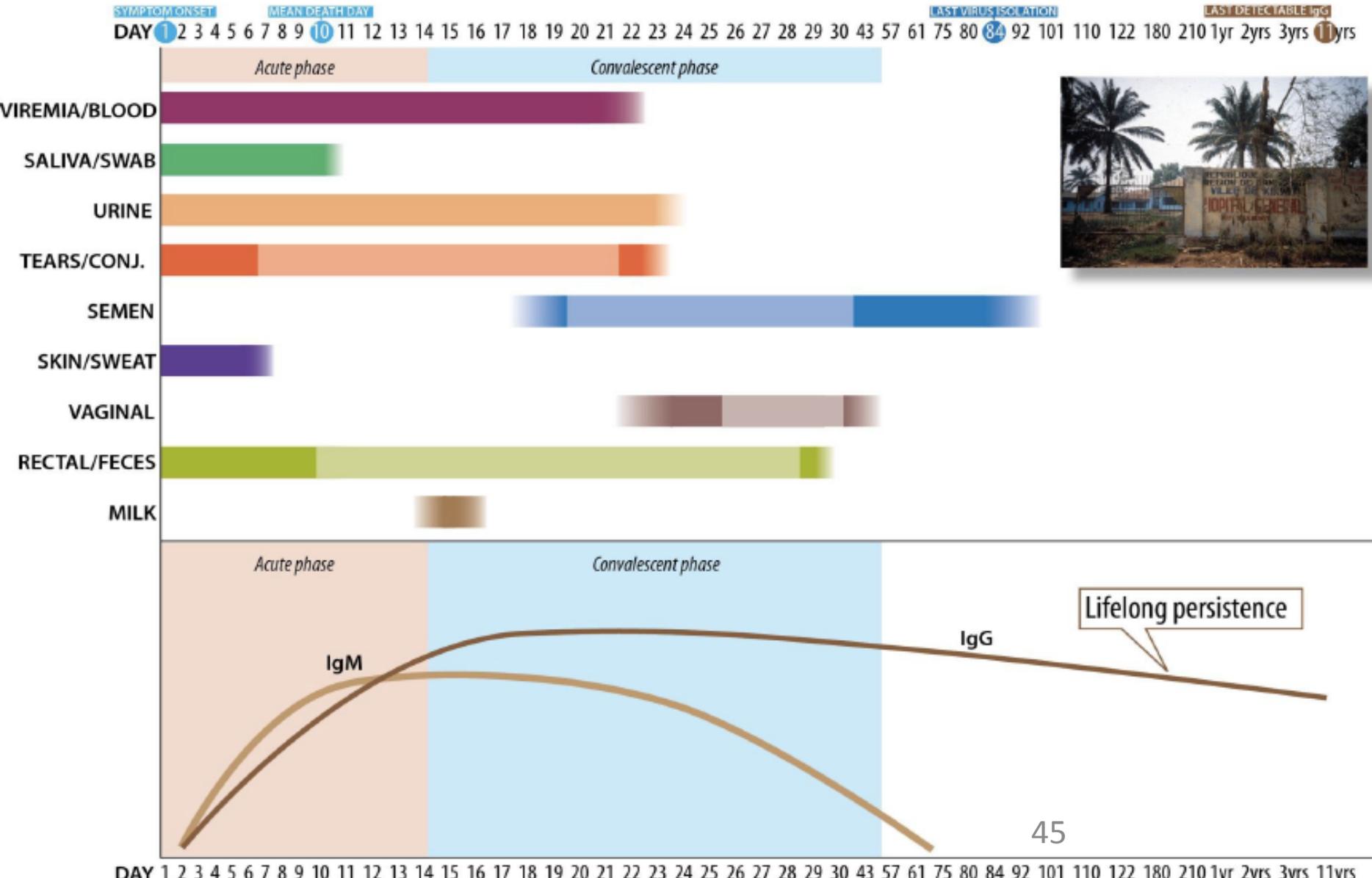
- Type d'échantillons

- Sang
- Total, plasma ou sérum
- Urine
- Salive (E-Swab)
- Biopsie peau, rein, foie, poumons
 - paraformaldéhyde à 10%

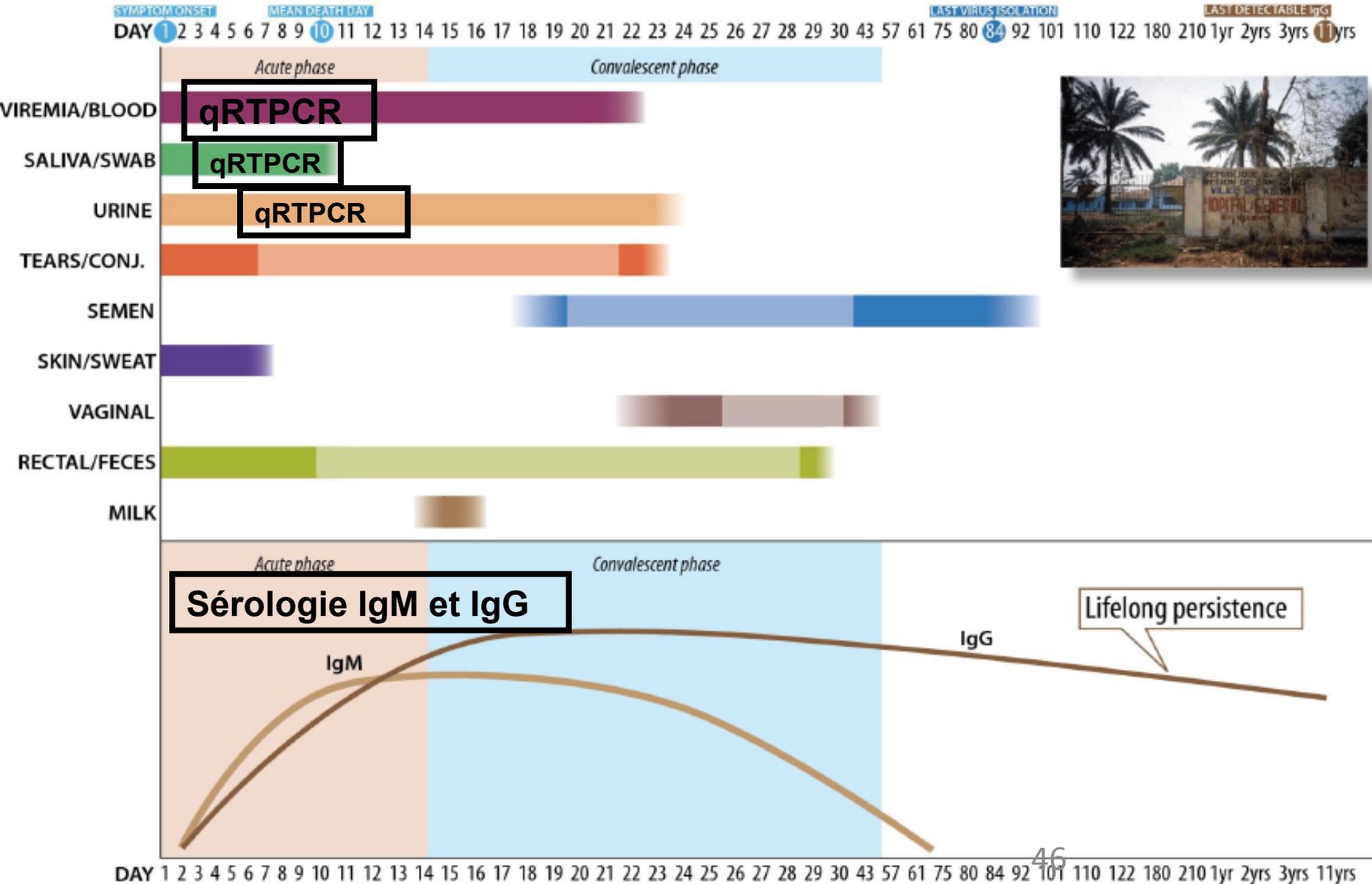


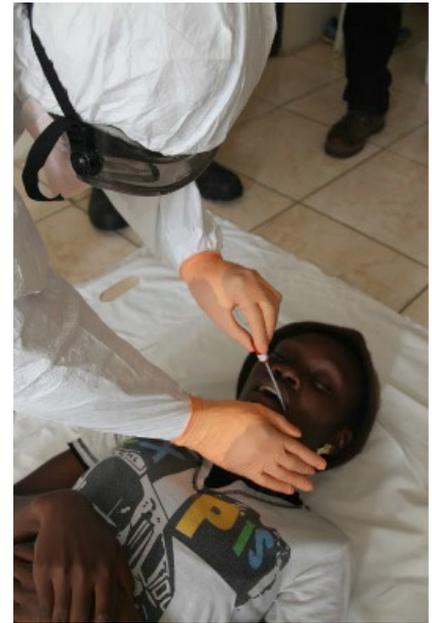
- Transport à +4°C, ou **ambiante** (Pas de congélation)
- **dans les boîtes de transport**
 - UN 3373 ou UN 2814

Virus Ebola dans les liquides biologiques



Virus Ebola dans les liquides biologiques

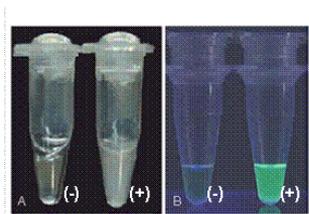
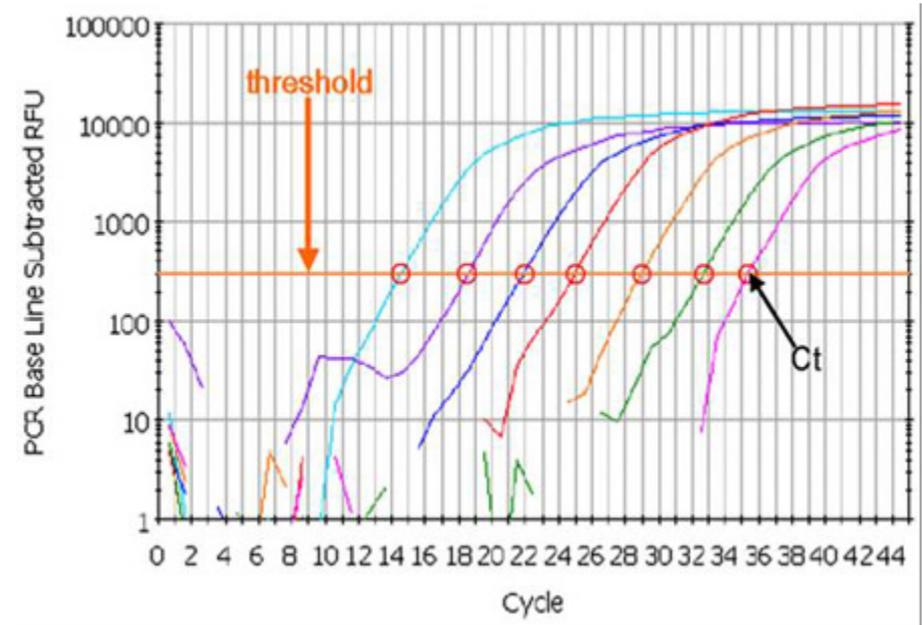
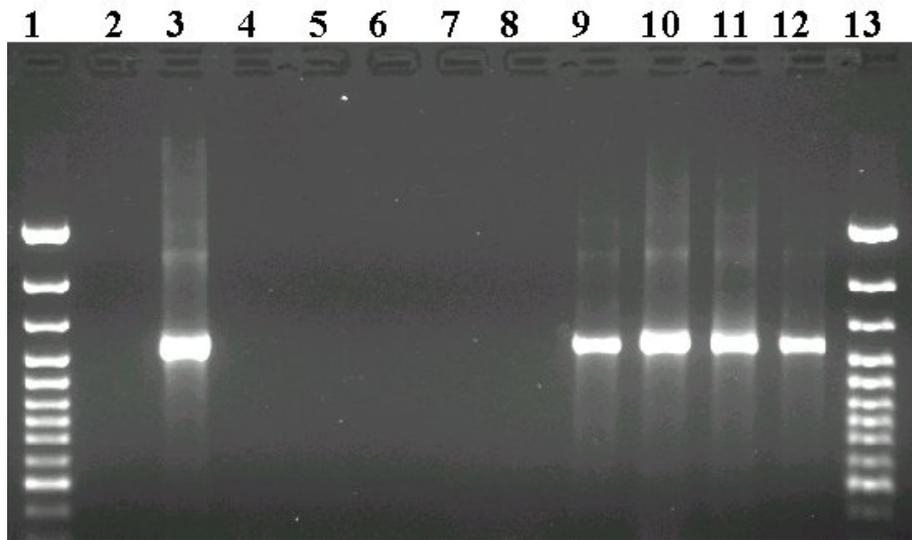




Diagnostic de certitude



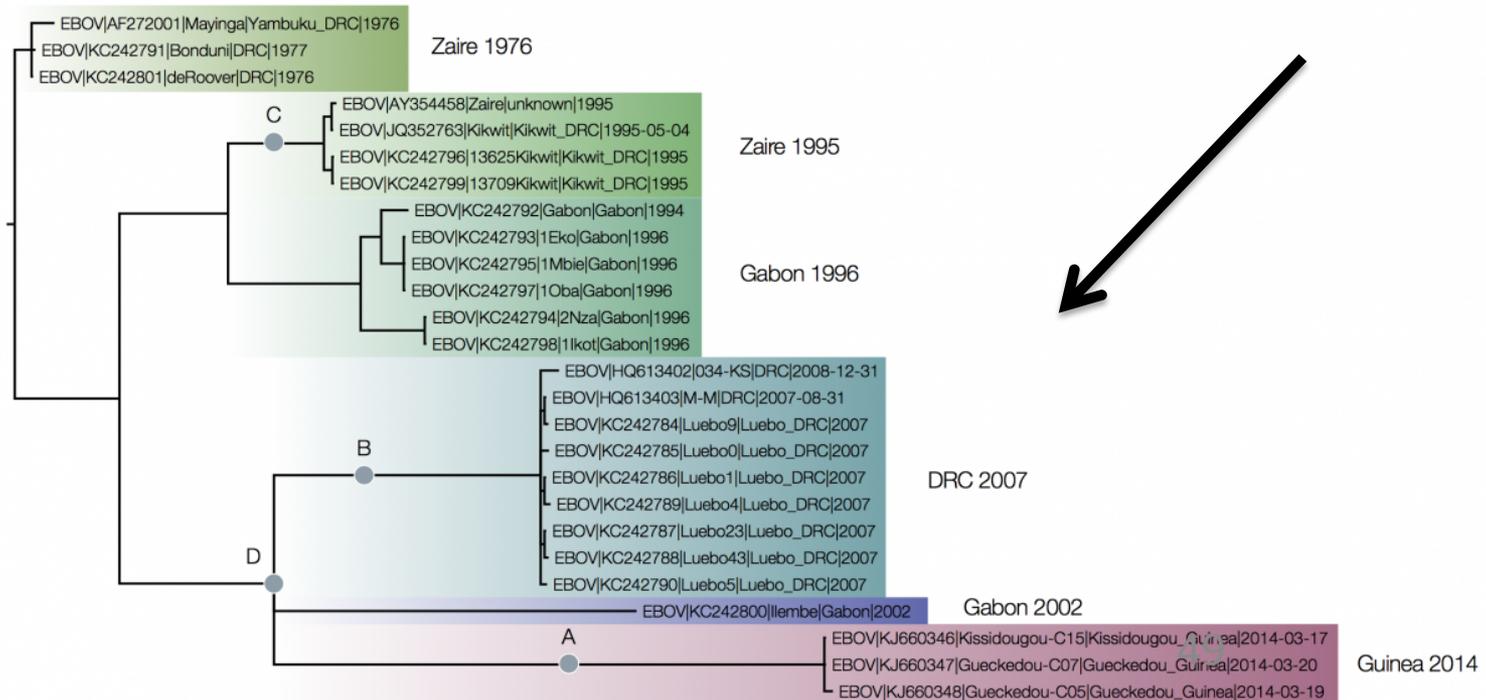
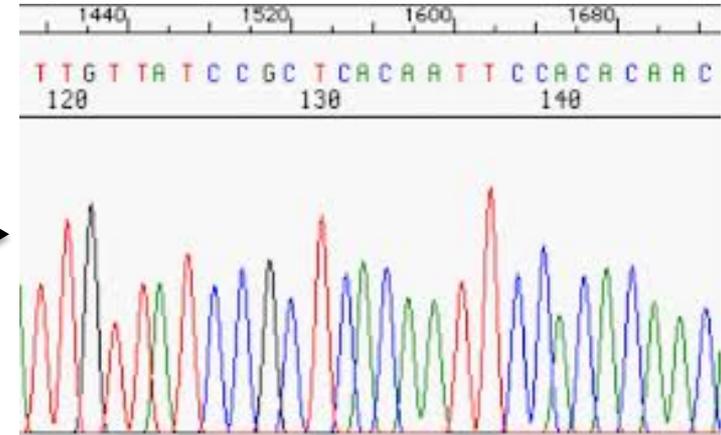
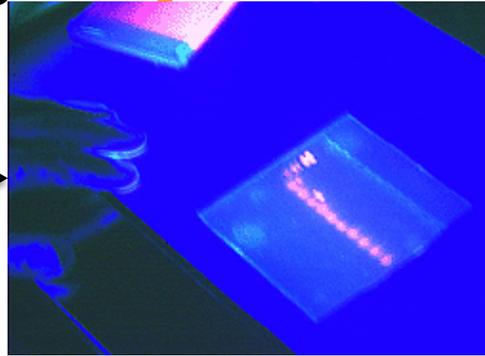
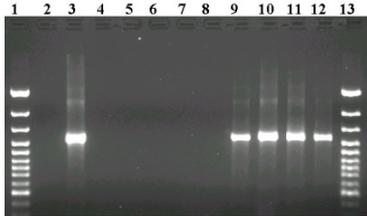
- Identification directe du virus
 - Amplification génique (RT-PCR, qRT-PCR, LamPCR) ½ jour



Diagnostic de certitude

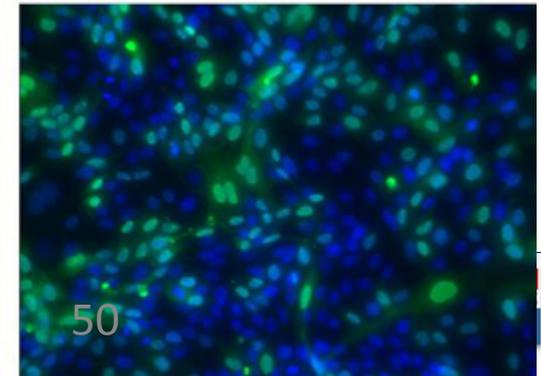
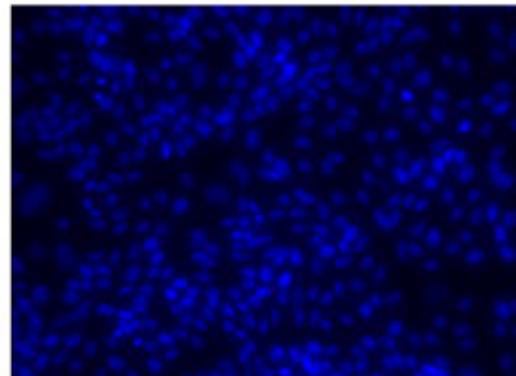
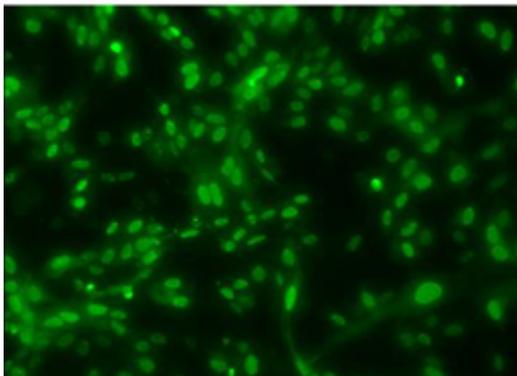
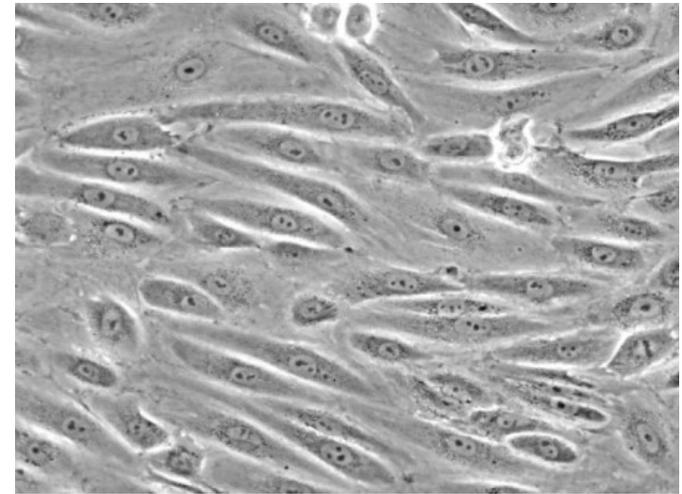
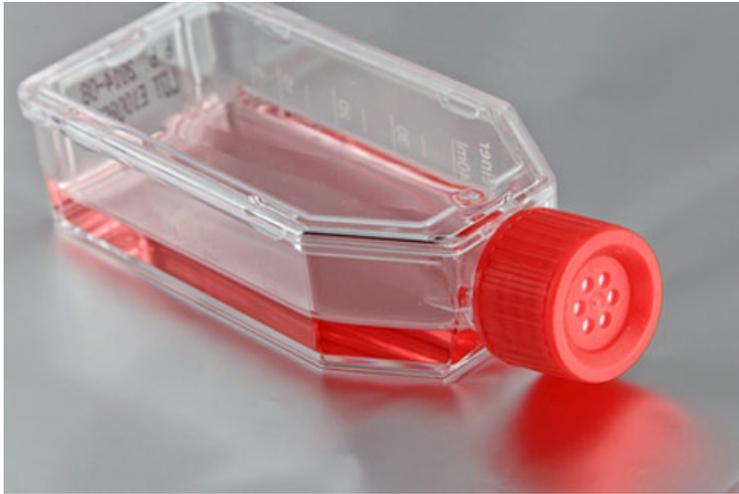


• Séquençage 3 jours



Diagnostic de certitude

- Isolement en culture cellulaire nécessite un P4 **10 jours**
 - Immunofluorescence indirecte (IFI) ou PCR



- Identification indirecte
 - Sérologie IgM, IgG **1 jour** N'est jamais une confirmation

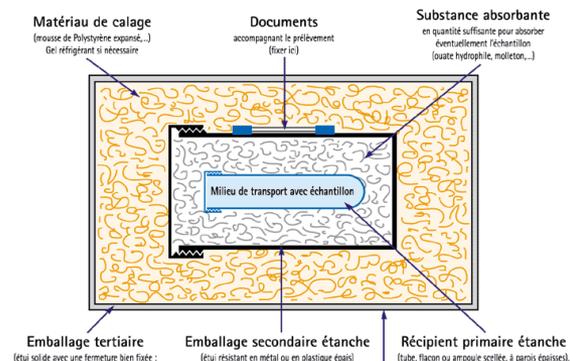


Prélèvements

Triple emballage aux normes de la classe 6. 2 ou 3373



Schéma simplifié d'un triple emballage
(selon normes de la classe 6.2. de l'O.N.U.)



Mentionner à l'extérieur du paquet l'adresse du laboratoire destinataire ainsi que les coordonnées de l'expéditeur (avec n° de téléphone et de télécopie)
Utiliser une étiquette selon le modèle ci-dessous

tte

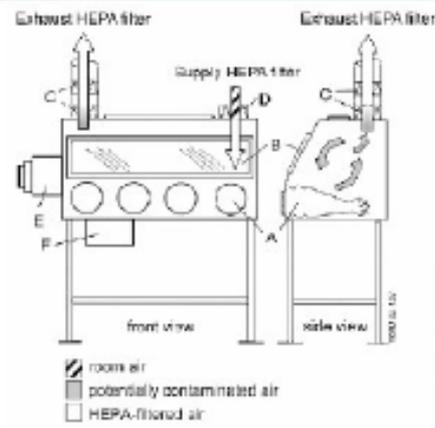
N°52



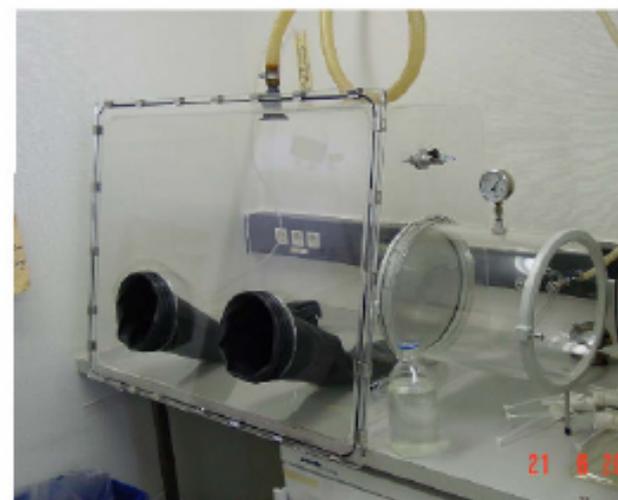
BSL 4



BSL 3



Lyse dans un PSM-3 pour diagnostic moléculaire par RTPCR



Ce que l'on connaissait sur le terrain



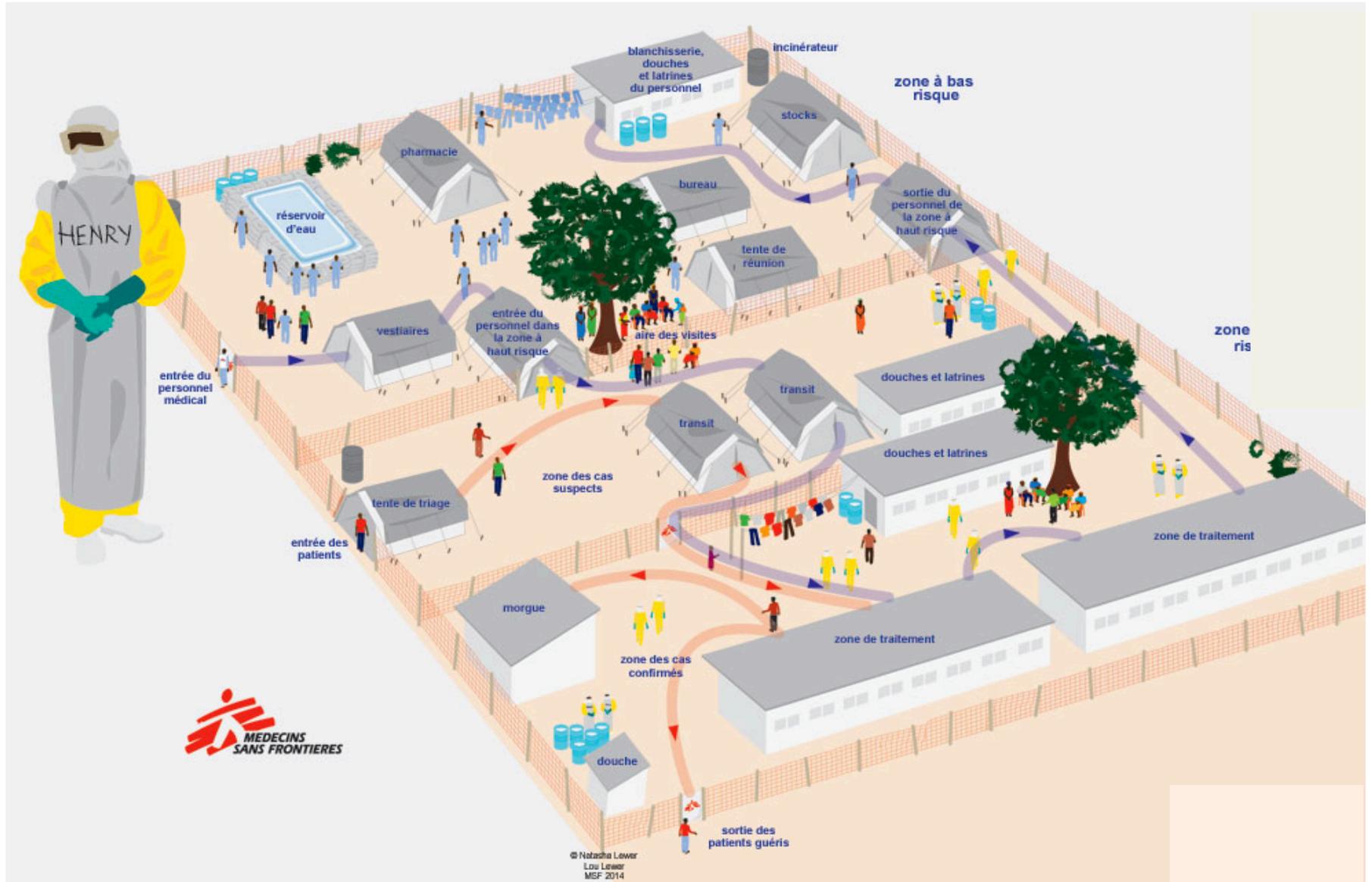
- Recherche du réservoir du virus Ebola

Cas d'importation : H1A Bégin



Photos: Wolfgang Preiser, University of Frankfurt

Centre de traitement d'Ebola [MSF]





Reconnaissance à Macenta



Octobre 2015

°57

Passage du Centre de transit vers le Centre de traitement



Le CTE de la Croix Rouge à Macenta



Isolement des patients +++



Octobre 2015

Christophe Peyrefitte

N°60

Equipement de Protection Individuel

Ecran facial



ou

Masque de protection



Respirateur



Charlotte



Gants



Blouse



Bottes



Tablier



Respecter le protocole d'habillement



Isolement des patients +++



Gueckédou



Pr C Peyrefitte



Pr C Peyrefitte



Décontamination eau de javel 0,5%

Equipement de protection individuel



Après tout contact ou passage en zone patients

- **Lavage des mains**
 - **Savon + eau claire**
 - Toujours se laver les mains au savon et eau claire
 - **Ou Hydrogel**
 - **Puis solution chlorée 0.05% (javel)**



Décontamination eau de javel 0,5%



Incinération et enfouissement des déchets désinfectés



Traitement



- Symptomatique
 - Sang et fluides de remplacement
- Etiologique
 - Pas de vaccin
 - Pas de molécules antivirales



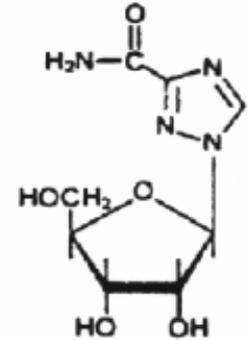
Octobre 2015



Christophe Peyrefitte

N°70

Espoir proche : Molécules inhibitrices



Compound/Drug	Mouse	Guinea Pig	NHP
S-adenosylhomocysteine hydrolase inhibitors	Yes	NT	No
rIFN- α 2b	NT	NT	Delay to death
Convalescent blood	NT	NT	No
Monoclonal Antibodies	Yes ¹	Yes	Partial ²
Polyclonal antibody/sera	Yes ¹	Yes	Yes ³
PMO Antisense	Yes	Yes	Yes
siRNA	Yes	Yes	Yes
rNAPc2	NT	NT	3/9
rhAPC	NT	NT	2/11
FGI-103, 104, 106	Yes	NT	NT

Espoirs futurs : Candidats vaccins



Vaccine	Mouse	Guinea Pig	NHP	Human
DNA	Yes	Yes	Partial	Immunogenic
VRP	Yes	Yes	Yes	NT
Adenovirus	Yes	Yes	Yes	Immunogenic
DNA/Adenovirus prime-boost	NT	Yes	Yes	NT
Virus-like particle	Yes	Yes	Yes	NT
Parainfluenza	NT	Yes	Yes	NT
VSV	Yes	Yes	Yes	NT
Vaccinia	NT	Yes	No	NT
Purified protein	Yes	Yes	Partial with DNA boost	NT
Inactivated virus	Mixed results (partial to complete protection)	Mixed results (partial to complete protection)	Mixed results (no to partial protection)	NT

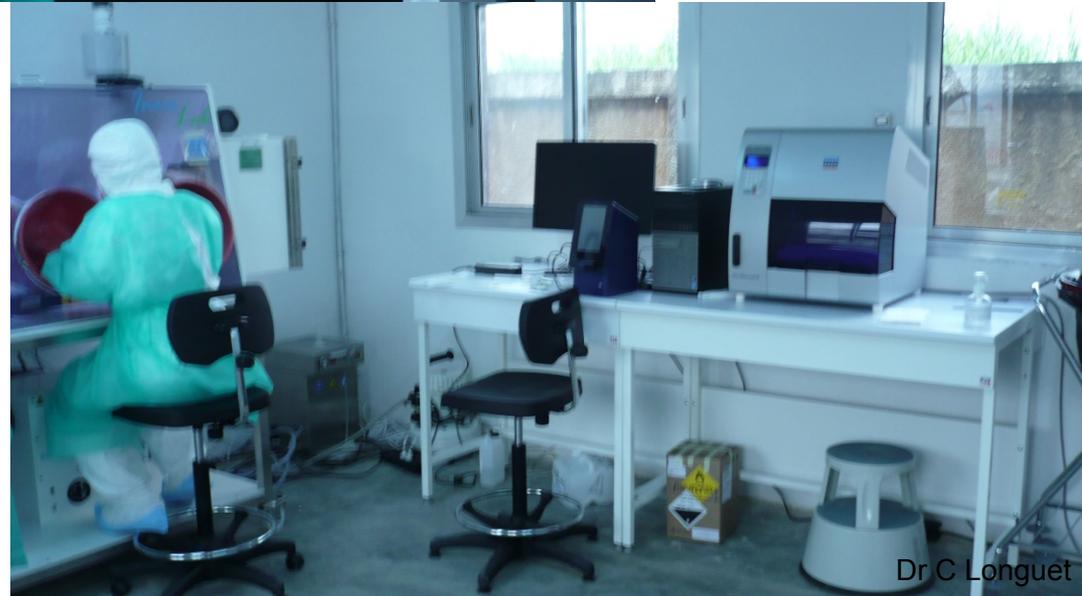
Laboratoire de Macenta





Dr C Longuet

qRTPCR et Biochimie



Dr C Longuet

EMLab : laboratoire mobile européen

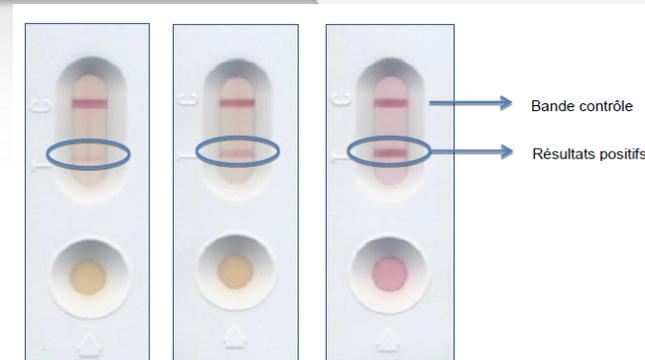




Vers un Diagnostic rapide



Détection des antigènes viraux
Immuno-chromatographie 15 min
Très rapide et peu sensible



Vue des kits testés au Laboratoire P4 Jean Mérieux. Résultats obtenus en 10 à 15 minutes sur des plasmas. Le test affiche un résultat positif quand deux bandes apparaissent. Les échantillons n°2, 3 et 4 sont surchargés avec la souche Ebola épidémique. (Crédit photo F.Gallais, CEADSV/LICB)

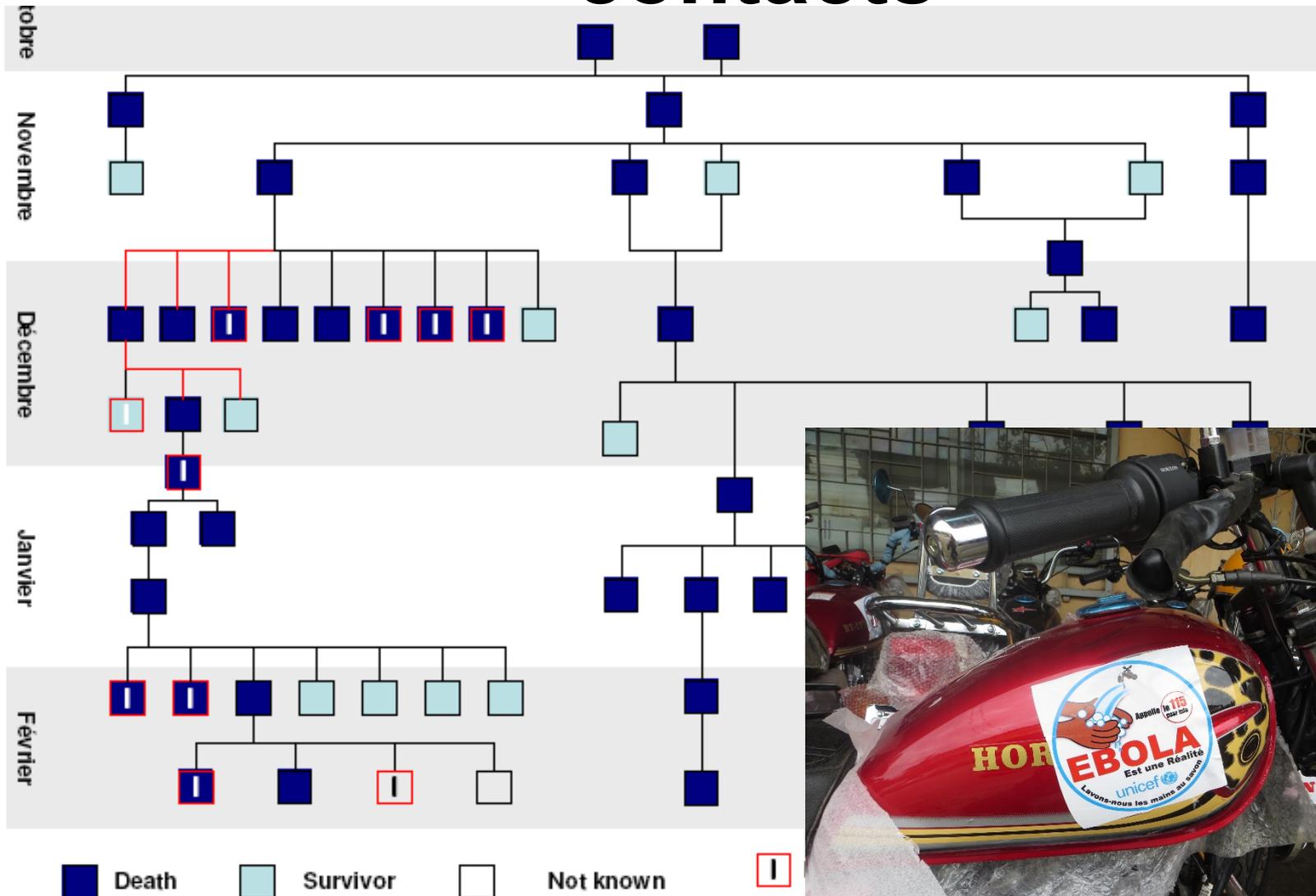
RT-PCR Biofire (BioMérieux) 1h05



FilmArray RP Pouch



Identifier et surveiller les cas contacts



Octobre 2015



Pratiques mortuaires



Formation ici et ailleurs



Manœuvre logistique complexe

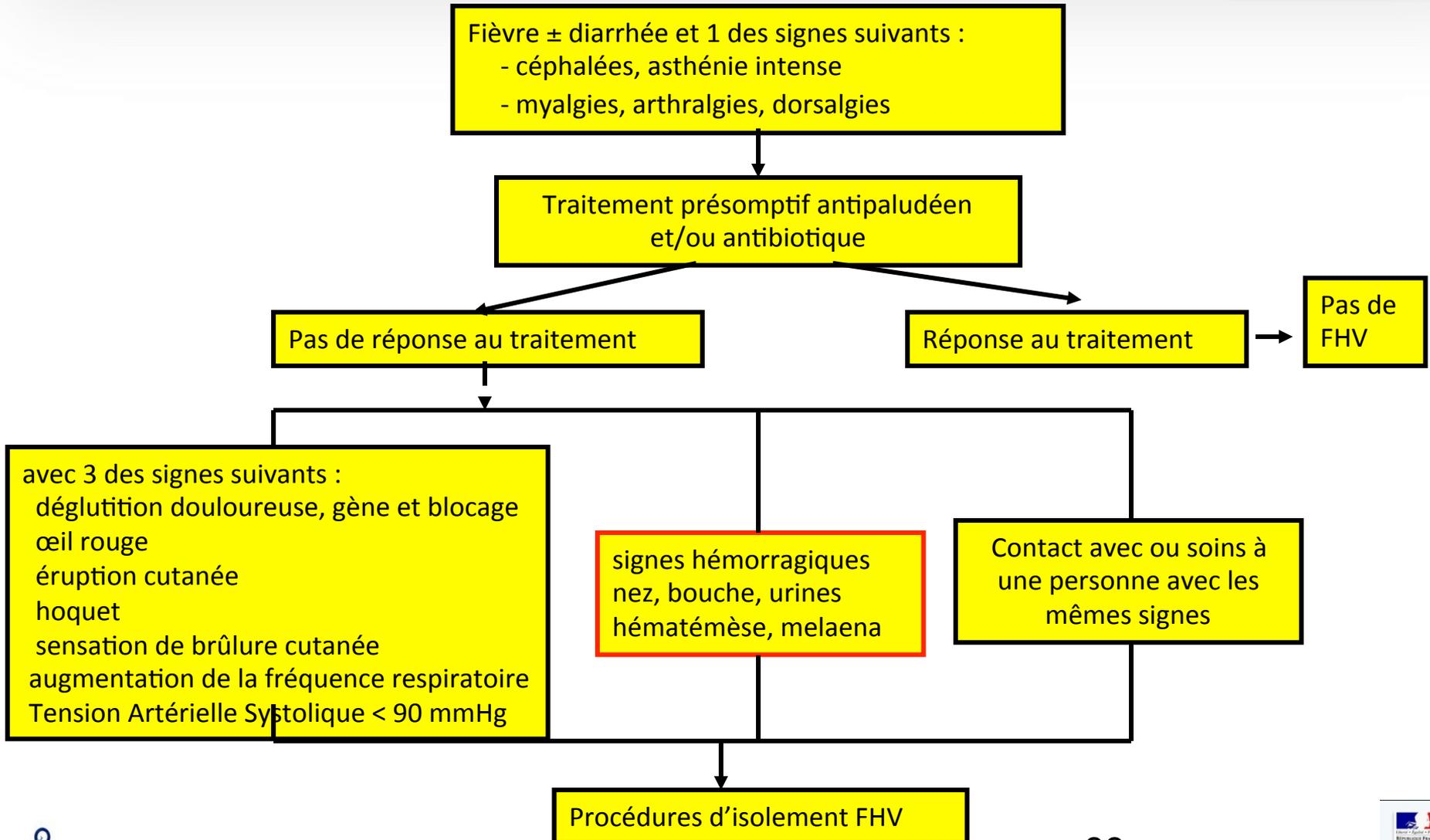




MERCI



Suspicion de FHV, conduite à tenir



Prévention

- Vaccins
 - Fièvre jaune, 17D vivant atténué
 - Junin (Machupo ?), candid 1
 - Hantavirus
 - CCHF (?)
- En développement : dont recherche IRBA
 - Ebola
 - Marbourg
 - Arenavirus
 - CCHF



Lutte sur le terrain

- Antivectorielle
 - Moustiques : insecticides adulticides et larvicides
 - Tiques : insecticides
 - Rongeurs : pièges

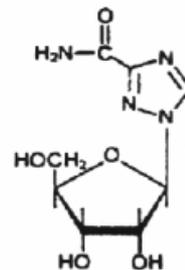


Traitement

- Symptomatique : Réanimation
 - Solutés massifs, transfusion, plaquettes
- Etiologique : Ribavirine
 - Large spectre : Lassa, Junin, Machupo, Guanarito, Sabia, CCHF
 - 2g dose de charge, 1g/6h/4j, 0,5g/6h/6j
 - Doit être administré très précocement car inhibiteur de la réplication virale
 - Effets indésirables : hémolyse, toxicité rénale
- IRBA recherche de molécules



Octol



le Peyrefi



Traitement curatif des virus de FH



- traitement anti-viral : **ribavirine**
active sur les virus Lassa, **Crimée-Congo**, vallée du Rift
efficacité liée à **la précocité** du traitement
- recommandée par l'OMS et utilisable
par voie IV (Virazole[®]), **ATU nominative**
par voie orale (Rébétol[°])

Articles

🕒 Treatment of Ebola virus infection with a recombinant inhibitor of factor VIIa/tissue factor: a study in rhesus monkeys

Thomas W Gelsbert, Lisa E Hensley, Peter B Jahrling, Tom Larsen, Joan B Gelsbert, Jason Paragas, Howard A Young, Terry M Fredeking, William E Rote, George P Vlasuk

Keshtkar M et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: current and future prospect of vaccines and therapies anti-vir Res 2011;90:85-92. **Christophe Peyrefitte**

Octobre 2015

N°87

Traitement curatif des virus de FH



- **ribavirine injectable (Virazole°)**, en traitement curatif
 - dose de charge : 30 mg/kg (sans dépasser 2 g) en 15-20 mn
 - 6 h plus tard : 16 mg/kg (sans dépasser 1 g) toutes les 6 h pendant 4 j
 - 8 h après la dernière dose précédente : 8 mg/kg (sans dépasser 500 mg) toutes les 8 h pendant 6 j
- **ribavirine orale (Rébétol°)**,
 - en traitement curatif
 - dose de charge de 2g, puis 1,2 g/j en 2 prises (> 75kg) ou 1g/j en 2 prises (< 75kg), pendant 10j

Transmission primaire



Moustiques



Tiques

DENGUE, YELLOW FEVER,
RIFT VALLEY FEVER

CRIMEAN CONGO HEMORRHAGIC FEVER

KYANASUR FOREST, ALKURHMA
OMSK



Rongeurs



Chauve-souris

LASSA

JUNIN MACHUPO GUANARITO SABIA

SEOUL HANTAAN

ANDES

EBOLA MARBURG

Isolement des patients +++

