

joué un rôle majeur dans l'organisation de la réponse à l'épidémie et pour les projets de recherche. Leur financement a été assuré par le gouvernement français avec un effet levier majeur des financements de la Commission européenne, qui a été très réactive dans la réponse à Ebola.

Suite à l'émergence du virus Zika en octobre 2015, comme pour les virus Chikungunya et Ebola, REACTing s'est rapidement mobilisé, avant les premiers cas aux Antilles françaises, pour déterminer quelles pourraient être les pistes de recherche autour de ce virus, de la maladie et de son vecteur, et quelles actions pourraient être entreprises par les équipes françaises. Plus de vingt-cinq projets de recherche sont actuellement menés dans le cadre de REACTing, dont certains vont modifier profondément notre vision des interactions entre hôte-

virus et environnement dans le cadre d'une vision *one health*. Les notions de « réservoirs » sexuels du virus ou de « super contaminateurs » sont en particulier issues de cette épidémie.

Au-delà de ces mobilisations en situation d'urgence sanitaire, la préparation à de futures émergences infectieuses continue et doit se renforcer pour le consortium REACTing.

Conclusion

La prochaine crise arrivera plus tôt que nous le pensons – utilisons la tragédie d'Ebola pour faire en sorte d'être mieux préparés à y faire face. Il est impossible de prévoir l'avenir mais il est plus facile de s'y préparer. La notion de crise sanitaire doit être intégrée dans la réflexion des politiques dans l'échelle des crises en général. 📌

Le diagnostic de l'infection dans le cadre de la surveillance des cas d'importation en France

Diagnostiquer une infection par le virus Ebola (EBOV), ou par un autre virus du groupe à risque (GR) 4, n'est pas une activité de routine. En effet, le nombre limité de prélèvements, leur dangerosité et leur classement sur la liste des micro-organismes et toxines hautement pathogènes, le faible nombre de tests validés et commercialisés, et l'impérieuse nécessité de rendre un résultat absolument fiable sont autant de difficultés à prendre en compte pour cette activité. C'est la raison pour laquelle ce type de diagnostic reste l'apanage du Centre national de référence des fièvres hémorragiques virales (CNR FHV) en dehors d'un contexte épidémique. En revanche, lorsqu'une épidémie de grande ampleur survient, le plus souvent dans un des pays endémiques pour ces virus, et que le risque d'importation de personnes infectées sur le territoire français est important et nécessite de réaliser un grand nombre de tests, une délocalisation spécifique et temporaire du diagnostic vers les établissements de soins de référence (ESR) devient justifiée et nécessaire. Cela a été justement le cas lors de l'épidémie de maladie à virus Ebola d'Afrique de l'Ouest (2014-2015) [94].

Un diagnostic complexe et primordial

Le diagnostic de l'infection par EBOV repose principalement sur la mise en évidence du matériel viral, génétique ou protéique. Les IgM et IgG spécifiques du virus n'apparaissant que plusieurs jours après l'apparition des symptômes et pas chez tous les patients,

notamment chez ceux qui décèdent ; leur détection est surtout utile pour le diagnostic tardif ou rétrospectif et en complément de la mise en évidence du matériel viral. Ce dernier est quant à lui présent dès l'apparition des symptômes et permet donc un diagnostic relativement précoce. Jusqu'à la fin des années 1990, le gold standard pour la détection du matériel viral était la capture d'antigènes par ELISA sandwich, méthode très spécifique et sensible. Cette technique a été remplacée par la détection de l'ARN viral par RT-PCR, qui présente une robustesse équivalente en termes de délai de positivité et de sensibilité/spécificité [49]. Aujourd'hui, la RT-PCR en temps réel a supplanté toutes les autres techniques et constitue donc la méthode de référence pour le diagnostic de la maladie à virus Ebola. Réalisée à partir d'un échantillon sanguin obtenu entre 48 h et dix jours après l'apparition des symptômes, cette technique permet seule d'exclure ou de confirmer une infection par EBOV, à condition bien sûr que la souche incriminée soit amplifiée par les amorces utilisées. Si le prélèvement est réalisé plus précocement et qu'un résultat négatif est obtenu, il faudra réitérer le diagnostic sur un échantillon prélevé au moins 48 h après l'apparition des symptômes pour exclure l'infection. Les sérologies IgM et IgG sont également utilisées, et associées à la RT-PCR sur urine, permettent de diagnostiquer l'infection plus de dix jours après l'apparition des symptômes. Nous disposons au CNR FHV de différentes RT-PCR permettant de détecter ces virus. Ainsi, une RT-PCR

Sylvain Baize
Delphine Pannetier
Centre national de référence des fièvres hémorragiques virales (CNR FHV), Institut Pasteur, Inserm Lyon

Les références entre crochets renvoient à la Bibliographie générale p. 52.



consensus, capable de détecter l'ensemble des filovirus (Ebola et Marburg), est utilisée systématiquement lorsqu'un échantillon est à tester en dehors d'une épidémie [66]. Ensuite, en cas de positivité ou lorsque l'on connaît l'espèce de filovirus incriminée, des RT-PCR spécifiques de chacune des espèces (Ebola Zaïre, Ebola Soudan, Ebola Taï Forest, Ebola Bundibugyo ou Marburg) sont mises en œuvre. C'est ainsi que le CNR FHV a pu diagnostiquer l'épidémie de maladie à virus Ebola d'Afrique de l'Ouest en mars 2014 : d'abord grâce à la RT-PCR consensus, confirmée ensuite par une RT-PCR spécifique d'EBOV [7].

Lorsque l'épidémie s'est disséminée dans toute la sous-région d'Afrique de l'Ouest, le risque d'importation de cas de maladie à virus Ebola en France est devenu prégnant, et des patients fébriles de retour des pays touchés étaient régulièrement classés comme cas possibles de maladie à virus Ebola, nécessitant une prise en charge dans un établissement de soins de référence incluant un isolement en chambre à dépression et pour lesquels l'offre de soin était très limitée dans l'attente de l'exclusion de l'infection par EBOV. Afin d'éviter un débordement des capacités du CNR FHV si l'épidémie progressait davantage et dans le but de réduire le délai entre le classement d'un cas et le résultat du laboratoire (particulièrement vrai pour les établissements de soins de référence des DOM), il a été décidé de délocaliser au sein des ESR une technique de diagnostic par RT-PCR de la souche d'EBOV incriminée. Le CNR FHV a supervisé cette délocalisation et a établi un cahier des charges pour les laboratoires appelés à mettre en œuvre le diagnostic. Ainsi, avoir à disposition un laboratoire P3 équipé d'un poste de sécurité microbiologique de classe III et faire valider par le CNR les procédures mises en œuvre étaient un prérequis. La validation des procédures, et notamment des étapes d'inactivation de l'échantillon, était importante pour assurer une biosécurité optimale. Afin de transférer un test diagnostic facile à mettre en œuvre et validé, il a été décidé d'utiliser exclusivement le kit Altona RealStar Filovirus Screen® RT-PCR V1.0 (Altona Diagnostics, Hambourg, Allemagne), qui présentait l'avantage d'avoir été validé avec la souche d'Afrique de l'Ouest (label CE) et permettait une détection de tous les filovirus [70]. Ce dernier point était très important, car on ne connaissait pas à ce moment le potentiel d'évolution du virus au sein de la population humaine, étant donné qu'une transmission interhumaine aussi massive et durable d'EBOV n'avait jamais été observée auparavant. Disposer d'un test à large spectre de détection était donc impératif.

Le CNR FHV restait présent aux niveaux pré et postanalytiques pour : 1) déterminer au vu des éléments cliniques et épidémiologiques si la RT-PCR EBOV était suffisante ou si des sérologies IgM et IgG EBOV étaient également nécessaires, voire un diagnostic d'autres virus de FHV comme les virus Lassa ou de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo, la délocalisation du diagnostic étant impossible dans les deux cas ; 2) confirmer la validation et l'interprétation du résultat obtenu au sein de l'ESR, et notamment la possibilité d'exclure définitivement le cas. En effet, contrairement à d'autres pathologies, la maladie à virus Ebola ne peut souffrir d'aucune erreur de diagnostic, un résultat faussement négatif aurait évidemment des conséquences dramatiques en termes de transmission secondaire.

Une délocalisation du diagnostic vers les établissements de soins de référence réussie

Cette délocalisation du diagnostic de la maladie à virus Ebola a globalement donné des résultats satisfaisants, même si elle n'a pas toujours permis de gagner du temps. En effet, les établissements de soins de référence n'étaient souvent pas en mesure, pour des questions organisationnelles, de réaliser un diagnostic en dehors des heures ouvrées, ce qui nécessitait de transférer l'échantillon en dehors de l'établissement. De même, réaliser un diagnostic très rapidement n'a pas toujours permis d'exclure l'infection immédiatement, la détection très sensible et précoce des cas suspects ayant eu souvent pour conséquence d'obtenir des échantillons dans un délai trop rapide après l'apparition des symptômes.

Il est important de garder à l'esprit que ce type de délocalisation n'est raisonnable que dans un contexte épidémique particulier, où la souche virale est bien connue. En effet, en dehors d'un tel contexte, la diversité des virus du groupe à risque 4 responsables de ces syndromes et leur dangerosité, la multiplicité et le côté artisanal des techniques nécessaires pour leur détection, leur mise en œuvre peu fréquente, et l'expertise virologique et épidémiologique nécessaire rendraient une délocalisation pour le moins hasardeuse, voire dangereuse. Enfin, le déploiement de la RT-PCR EBOV au sein des laboratoires des établissements de soins de référence a permis de montrer qu'une réponse coordonnée et équilibrée était possible dans le cadre d'une surveillance due à un événement tout à fait exceptionnel. L'expérience tirée de cet exercice constitue un apport de valeur pour l'avenir et pourra être mise à profit lors d'autres épidémies. 🦋