

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR (UCAD)
ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
(E.I.S.M.V.)



ANNEE: 2011

N° 01

CONTRIBUTION A LA RECHERCHE DES VIRUS APPARTENANT AUX
FAMILLES DES *CORONAVIRIDAE* ET DES *PARAMYXOVIRIDAE* DANS
LES ORGANES DE GIBIER ABATTU POUR LA CONSOMMATION
HUMAINE AU GABON.

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 23 Mars 2011 à 16 heures
à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE VETERINAIRE (DIPLOME D'ETAT) par :

Bertrand MVE ONDO

Né le 19/01/1983 à Bitam (Gabon)

JURY

Président :

M. Bernard Marcel DIOP,
Professeur à la Faculté de Médecine, de
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar

**Directeur et
apporteur de thèse :**

M. Justin Ayayi AKAKPO
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Membres :

M. Yalacé Yamba KABORET
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Mme Rianatou ALAMBEDJI
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

**Co-directeur
de thèse :**

Dr. Eric M LEROY
Directeur scientifique de l'IRD et
responsable de l'unité des maladies
émérgentes du CIRMF-GABON

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERNAIRES DE DAKAR

**BP 5077 - DAKAR (Sénégal)
Tél. (221) 33 865 10 08 - Télécopie (221) 825 42 83**



COMITE DE DIRECTION

LE DIRECTEUR

- **Professeur Louis Joseph PANGUI**

LES COORDONNATEURS

- **Professeur Germain Jérôme SAWADOGO**

Coordonnateur des Stages et de la Formation Post – Universitaires

- **Professeur Moussa ASSANE**

Coordonnateur des Etudes

Année Universitaire 2010 - 2011

PERSONNEL ENSEIGNANT

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT EISMV**

☞ **PERSONNEL VACATAIRE (PREVU)**

☞ **PERSONNEL EN MISSION (PREVU)**

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV**

PERSONNEL ENSEIGNEMENT (EISMV)

A. DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PRODUCTIONS

ANIMALES

CHEF DE DEPARTEMENT : Ayao MISSOHOU, Professeur

S E R V I C E S

1. ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Serge Niangoran BAKOU	Maître de conférences agrégé
Gualbert Simon NTEME ELLA	Assistant
Mr Bernard Agré KOUAKOU	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Claire Fabrice SENIN	Moniteur

2. CHIRURGIE –REPRODUCTION

Papa El Hassane DIOP	Professeur
Alain Richi KAMGA WALADJO	Maître-Assistant
Mr Abdoulaye SOUMBOUNDOU	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Mouhamadou KONE	Moniteur

3. ECONOMIE RURALE ET GESTION

Adrien MANKOR	Assistant
Bruno PUEJEAN	Assistant technique
Mr Sionfoungo Daouda SORO	Moniteur

4. PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE

Moussa ASSANE	Professeur
Rock Allister LAPO	Maître-Assistant
Mr Adama FAYE	Moniteur

5. PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur
Adama SOW	Assistant
Mr Kalandi MIGUIRI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Dieudonné TIALLA	Moniteur

6. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION

Ayao MISSOHOU	Professeur
Simplex AYSSIWEDE	Assistant
Mr Jean de Capistan ZANMENO	Moniteur

B. DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE ET ENVIRONNEMENT

CHEF DE DEPARTEMENT : Rianatou BADA ALAMBEDJI, Professeur

S E R V I C E S

1. HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)

Serigne Khalifa Babacar SYLLA	Maître-Assistant
Bellancille MUSABYEMARIYA	Assistante
Mr Abdoulaye DIEYE	Moniteur
Mr Luc LOUMBABA	Moniteur

2. MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Rianatou BADA ALAMBEDJI	Professeur
Philippe KONE	Maître-Assistant
Mr Passoret VOUNBA	Moniteur
Mr Mathias Constantin YANDIA	Moniteur

3. PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE APPLIQUEE

Louis Joseph PANGUI	Professeur
Oubri Bassa GBATI	Maître-Assistant
Mr Ziekpoho COULIBALY	Moniteur

4. PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE-CLINIQUE AMBULANTE

Yalacé Yamba KABORET	Professeur
Yacouba KANE	Maître de conférences
Mireille KADJA WONOU	Assistante
Mr Karamoko Abdoul DIARASSOUBA	Moniteur
Mr Mathioro FALL	Moniteur
Mr Médoune BADIANE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Omar FALL	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Alpha SOW	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Abdoulaye SOW	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Ibrahima WADE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Charles Benoît DIENG	Docteur Vétérinaire Vacataire

5. PHARMACIE-TOXICOLOGIE

Dr Gilbert Komlan AKODA	Maître-Assistant
Dr Assiongbon TEKOU AGBO	Chargé de recherche
Dr Abdou Moumouni ASSOUMY	Assistant

C. DEPARTEMENT COMMUNICATION

CHEF DE DEPARTEMENT : Professeur Yalacé Yamba KABORET

S E R V I C E S

1. BIBLIOTHEQUE

Mme Mariam DIOUF

Documentaliste

2. SERVICE AUDIO-VISUEL

Bouré SARR

Technicien

3. OBSERVATOIRE DES METIERS DE L'ÉLEVAGE (O.M.E.)

D. SCOLARITE

Mlle Aminata DIAGNE

Assistante

Mr Théophraste LAFIA

Vacataire

Mr Ainsley LICKIBI

Moniteur

PERSONNEL VACATAIRE (Prévu)

1. BIOPHYSIQUE

Boucar NDONG

Assistant
Faculté de Médecine et de Pharmacie
(UCAD)

2. BOTANIQUE

Dr Kandioura NOBA

Maître de Conférences (**Cours**)

Dr César BASSENE

Assistant (**TP**)
Faculté des Sciences et
Techniques (UCAD)

3. AGRO-PEDOLOGIE

Fary DIOME

Maître -Assistant
Institut de Science de la Terre (I.S.T.)

4. ZOOTECHNIE

Abdoulaye DIENG

Docteur, Ingénieur (ENSA-THIES)

Alpha SOW

Docteur vétérinaire vacataire
PASTAGRI

El Hadji Mamadou DIOUF

Docteur vétérinaire vacataire
SEDIMA

5. H I D A O A

Malang SEYDI

Professeur
EISMV – DAKAR

6. PHARMACIE-TOXICOLOGIE

Amadou DIOUF

Professeur
Faculté de Médecine et de Pharmacie

PERSONNEL EN MISSION (Prévu)

1. TOXICOLOGIE CLINIQUE

Abdoulaziz EL HRAIKI

Professeur
Institut Agronomique et Vétérinaire
Hassan II (Rabat) Maroc

2. REPRODUCTION

Hamidou BOLY

Professeur
Université de BOBO-DIOULASSO
(Burkina Faso)

3. PARASTILOGIE

Salifou SAHIDOU

Professeur
Université Abovo- Calavy (Bénin)

PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV

1. MATHEMATIQUES

Abdoulaye MBAYE

Assistant

Faculté des Sciences et Techniques
(UCAD)

2. PHYSIQUE

Amadou DIAO

Assistant

Faculté des Sciences et Techniques
(UCAD)

⌘ Travaux Pratiques

Oumar NIASS

Assistant

Faculté des Sciences et Techniques
(UCAD)

3. CHIMIE ORGANIQUE

Aboubacary SENE

Maître-assistant

Faculté des Sciences et Techniques
(UCAD)

4. CHIMIE PHYSIQUE

Abdoulaye DIOP

Maître de Conférences

Mame Diatou GAYE SEYE

Maître de Conférences

Faculté des Sciences et Techniques
(UCAD)

⌘ Travaux Pratiques de Chimie

Assiongbon TECKO AGBO

Assistant (EISMV-DAKAR)

⌘ Travaux Dirigés de Chimie

Momar NDIAYE

Maître - Assistant

Faculté des Sciences et Techniques
(UCAD)

5. BIOLOGIE VEGETALE

Dr Aboubacry KANE

Maître-Assistant (**Cours**)

Dr Ngansomana BA

Assistant Vacataire (**TP**)

Faculté des Sciences et Techniques

	(UCAD)
6. BIOLOGIE CELLULAIRE	
Serge Niangoran BAKOU	Maître de conférences agrégé (EISMV-DAKAR)
7. EMBRYOLOGIE ET ZOOLOGIE	
Malick FALL	Maître de Conférences Faculté des Sciences et Techniques (UCAD)
8. PHYSIOLOGIE ANIMALE	
Moussa ASSANE	Professeur (EISMV-DAKAR)
9. ANATOMIE COMPAREE DES VERTEBRES	
Cheikh Tidiane BA	Professeur Faculté des Sciences et Techniques (UCAD)
10. BIOLOGIE ANIMALE (Travaux Pratiques)	
Serge Niangoran BAKOU	Maître de conférences agrégé (EISMV-DAKAR)
Oubri Bassa GBATI	Maître-assistant (EISMV-DAKAR)
Gualbert Simon NTEME ELLA	Assistant (EISMV-DAKAR)
11. GEOLOGIE	
⌘ Formations sédimentaires	
Raphaël SARR	Maître de Conférences Faculté des Sciences et Techniques (UCAD)
⌘ Hydrogéologie	
Abdoulaye FAYE	Maître de Conférences Faculté des Sciences et Techniques (UCAD)
12. CPEV	
⌘ Travaux Pratiques	
Mr Ainsley LICKIBI	Moniteur

DEDICACE

Merci Seigneur de m'avoir permis d'affranchir les différents obstacles rencontrés tout au long de ma formation et d'arriver au bout de ce travail que je dédie à mes parents :

Mon père, feu **ONDO BELUI Salomon** : merci papa pour l'éducation que tu as donné à tes enfants, tu n'es plus parmi nous, mais tes sages conseils me guident tous les jours de ma vie. Repose en paix papa.

A ma mère, **NTONGONO ONDO Madeleine** : Merci maman pour m'avoir mis au monde, les mots me manquent pour exprimer tout mon amour et ma reconnaissance. J'espère que par ma conduite j'arrive à combler les attentes d'une mère.

A mes grands frères et sœurs : **NFONO ONDO Marie, OVA'A ONDO Gèneviève, MEZUI ONDO Joseph, AKOUE ONDO Ferdinand, NDO ONDO Daniel, BELUI ONDO Benjamin, MBA ONDO Nicaise, NTONGONO ONDO Chimène**. Vous avez remplacé papa et maman dès mon entrée au secondaire, grâce à votre soutien financier et moral je suis arrivé au bout de ma formation, merci.

A ma petite sœur et mon petit frère : **NTONGONO ONDO Pélagie** et **OKE ONDO Firmin**. Merci d'être venu au monde après moi, ça fait du bien d'être grand frère. Je vous encourage à consacrer du temps à vos études et vous souhaite bonne chance.

A mes nièces et neveux : **NSOUROU MEZUI Potamiène, ONDO MEZUI Constant, NTONGONO MEZUI Guilène, MEZUI NKOGHE Anicet,**

NKOGHE NKOGUE Wilfride, Audréol, Franz, Melisa, Mélissa, Freddy, Princia, Grèche, Franz, Daniela, Darcisse, Sabrina, Grace, Eddy, Gerry....

A mes oncles : **MOTO'O ONDO Joseph, NKIZOGUE OBIANG.** Vous représentez actuellement notre défunt père. Soyez rassuré de notre profonde reconnaissance.

Seigneur tu m'as permis d'appartenir à une si grande famille. Je prie que tu nous aide à demeurer toujours unis comme les doigts de la main et de raffermir l'esprit de fraternité.

A ma très chère **Gisèle PARE NAKIE**, merci pour ton affection et ton soutien. Les moments passés ensemble sont inoubliables. Je prie Dieu qu'il exauce nos souhaits.

A mes amis de l'AEVEGA, **Léonce, Stéphanie, Bertony, Thierry, Parfait, Ivana et Géraldine.** Les moments passés avec vous durant toutes ces années resteront pour moi un souvenir inoubliable. Puisse notre amitié perdurer le plus longtemps possible.

A mes aînés, les Docteurs **Morgan, Gualbert, Billadress, Philippe, Gaël, Patrice, Lionel, Natacha et Clara.**

A mes nièces de Dakar, **Marcelle, Noëlla, Fridia.**

A mes amis de l'amicale des étudiants gabonais de l'UCAD, **Zouga Edmiaune, IVELET Philia, NDONG Junior, Dr NZAMBA Stéphane, Nouratou, Karl, Cédric, Boris, Letitia, Jean-Gilbert...**

A mes camarades de la 37^{ème} promotion. Que nous puissions garder nos relations.

A mes frères et amis de Dakar, **Bongo Ardyl, Paterne, Gaël, Ramone.** Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi durant mes premiers mois à Dakar.

REMERCIEMENTS

Nos très sincères remerciements

- ❖ A Dieu le tout puissant pour tous ses bienfaits, son amour, sa miséricorde et pour m’avoir gardé en bonne santé tout au long de ma formation.
- ❖ Au CIRMF à travers son Directeur, le **Dr Jean Paul Gonzalez**, pour l’apport technique et financier dans la réalisation de ce travail.
- ❖ Au professeur **Justin Ayayi AKAKPO**, qui malgré ses multiples occupations a accepté avec spontanéité d’encadrer ce travail. merci professeur que le Dieu tout puissant vous accorde santé et longue vie.
- ❖ A tout le personnel de l’unité des maladies virales émergentes du CIRMF (UMVE) :
 - ✓ Le **Dr Eric LEROY**, chef de l’UMVE, merci pour votre disponibilité. Les moments passés à vos coté ont permis de découvrir vos qualités humaines, scientifiques et votre sens de la communication ;
 - ✓ les Docteurs **Xavier POURRUT**, **Dieudonné NKOGHE**, **Gaël MAGANGA**. Merci pour vos conseils et les corrections apportées à ce document ;
 - ✓ **Mélanie, Gilda, Emilie, Fabrice, Gislain**. Merci pour les échanges au laboratoire ;
 - ✓ A **Philippe EGANDJA** et **André DELICAT**, techniciens de laboratoire à l’UMVE.
- ❖ A ma très chère patrie, le Gabon pour m’avoir donné l’opportunité de poursuivre mes études à l’EISMV de Dakar.

- ❖ A **Mr Babacar NGOM** et **Mme Rianatou BADA ALAMBEDJI**, respectivement Parrain et Professeur accompagnateur de la 37^{ème} promotion qui est la mienne. Merci pour le service rendu.
- ❖ Aux chauffeurs du CIRMF, **Blaise, Christophe, Alain** et le chef du Garage, **Mr Adjo**. Merci de m’avoir conduit à travers les 8 provinces du Gabon sans incident, que Dieu vous bénisse.

A mes amis internes en médecine et stagiaire au CIRMF, **Fabrice, Hervé, Tomi**. Merci pour les samedi soir à potos et surtout pour la petite monnaie

- ❖ A mes amis de Franceville, Dr **Gaël**, Dr **Barthélemy** et Mme **Sandra NSE**, je me suis sentis en famille et en sécurité à vos coté.
- ❖ A mes frères de Franceville, **AKUE Daniel, AKUE Bertrand, Cédric**. Merci pour les Week-end de joie à potos.
- ❖ A mes amis Sénégalais, **Dr Robane FAYE, Dr Malick, Dr Rosalie SECK, Dr DIARRA, Dr SANE, Fatou SARR, HADIDJA, Ndeye**.
- ❖ A tous mes amis de l’EISMV : Béninois, Burkinabé, Camerounais, Centrafricains, Congolais, Djiboutien, Français, Gabonais, Ivoiriens, Nigériens Rwandais, Sénégalais, Togolais.
- ❖ Au Sénégal, pays de la Téranga pour l’accueil chaleureux. Dieuredieuf.
- ❖ A tous ceux de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, ainsi que tous ceux m’ont accompagné et soutenu tout au long de ma formation. Je vous adresse mes sincères remerciements.

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président du Jury, Monsieur Bernard Marcel DIOP,
Professeur à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie de
Dakar,

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de présider notre jury de thèse, et
cela malgré vos multiples occupations, nous a profondément marqué.

Nous vous prions de bien vouloir croire en l'assurance de notre profonde
gratitude.

**A notre Maître, Directeur et Rapporteur de Thèse, Monsieur Justin Ayayi
AKAKPO,**

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar,

Nous sommes très heureux et satisfaits d'avoir effectué sous votre encadrement
ce travail. Vos qualités intellectuelles et humaines ont guidé notre choix sur
votre service pour la soutenance de notre thèse.

Votre amour du travail bien fait et votre rigueur scientifique ont forcé notre
admiration. Que Dieu vous accorde santé et une longue vie. Profonde
reconnaissance.

A notre Co-directeur de thèse Monsieur Eric M. LEROY,

Docteur vétérinaire, Directeur scientifique de l'IRD et chef de l'unité des
maladies virales émergentes du CIRMF au Gabon,

Vous nous avez accueilli avec bienveillance, initié ce travail et vous nous avez
guidé tout au long de sa réalisation. Vos qualités humaines, vos connaissances
scientifiques et votre disponibilité nous ont profondément fascinés.

Veillez croire à l'assurance de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et juge, Monsieur Yamba Yalacé KABORE,

Professeur à l'IEISMV de Dakar,

Nous vous remercions d'avoir spontanément accepté de juger ce travail. Votre grande disponibilité et vos enseignements nous ont profondément marqué.

Vive admiration et sincère remerciement.

A notre Maître et juge, Madame Rianatou BADA ALAMBEDJI,

Professeur à l'IEISMV de Dakar,

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail de thèse malgré vos multiples occupations. Vos qualités intellectuelles et humaines forcent respect et admiration.

Profonde gratitude, respectueuse considération et vive admiration.

« Par délibération, la faculté et l'école ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation, ni improbation »

LISTE DES ABREVIATIONS

ABL	: Australian Bat Lyssavirus
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ADNc	: ADN complémentaire
AR	: Avulavirus/Rubulavirus
ARN	: Acide ribonucléique
AVU	: <i>Avulavirus</i>
Bat-CoV	: Bat Coronavirus
BCoV	: Bovine Coronavirus
BET	: Bromure d'éthidium
BSA	: Bovine serum albumin
CCoV	: Canine Coronavirus
CDC	: Center for Disease Control and Prevention
CHIKV	: Virus Chikungunya
CIRMF	: Centre International de Recherche Médical de Franceville
CML	: Chorioméningite lymphocytaire
CRCoV	: Canine Respiratory Coronavirus
DCoV	: Duck Coronavirus
dNTP	: désoxy Nucléosides Triphosphates
EBL	: European Bat Lyssavirus
EST	: Estuaire
FECoV	: Feline Coronavirus
FECV	: Feline Enteritic Coronavirus
FHCC	: Fièvre Hémorragique Crimée Congo
FHA	: Fièvre hémorragique d'argentine
FIPV	: Feline Infectious Peritonitis Virus
FVR	: Fièvre de la Vallée du Rift

GCoV	: Goose Coronavirus
HCoV- 229^E	: human Coronavirus 229E
HCoV-HKU1	: human Coronavirus HKU1
HCoV-NL63	: human Coronavirus NL-63
HCoV-OC43	: human Coronavirus OC43
HEN	: <i>Henipavirus</i>
HeV	: Virus Hendra
HEV	: Virus hémagglutinant de l'encéphalite Porcine
HO	: Haut Ogooué
IBV	: Infectious Bronchitis Virus
IgM	: Immunoglobuline M
IRD	: institut de recherche pour le développement
mg	: milligramme
MgSO4	: Sulfate de magnésium
MHV	: Mouse Hepatitis Virus
ml	: millilitre
mn	: minutes
MO	: Moyen Ogooué
MOR	: <i>Morbillivirus</i>
NG	: Ngounié
NiV	: Virus Nipah
NY	: Nyanga
OI	: Ogooué Ivindo
OIE	: Organisation mondiale de la santé animale
OL	: Ogooué Lolo
OMS	: Organisation mondiale de la santé
ONV	: Virus O'nyong-nyong

Pb	: paires de base
PBS	: Phosphate Buffer Salin
PCoV	: Porcine Coronavirus
PCR	: Polymerase chain reaction
PEDV	: Porcine Epidemic Diarrhea Virus
PHEV	: Porcine hemagglutinary encephalitis virus
PNE	: <i>Pneumovirus</i>
PRCV	: Porcine Respiratory Coronavirus
RbCoV	: Rabbit Coronavirus
RES	: <i>Respirovirus</i>
RMH	: <i>Respirovirus-Morbillivirus-Henipavirus</i>
Rpm	: rotation par minute
RT-PCR	: Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
SARS-CoV	: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
SIDA	: Syndrome de l'Immunodéficience Acquise
SL-CoV	: SARS-like Coronavirus
SRAS	: Syndrome Respiratoire Aigu Sévère
TBE	: tris borate EDTA (Etylène Diamine Tétra Acétone)
TCoV	: Turkey Coronavirus
TGEV	: Transmissible Gastroenteritis Virus
UMVE	: Unité des Maladies Virales Emergentes
VEE	: Virus de l'encéphalite équine
VIH	: Virus de l'Immunodéficience humaine
WNV	: Virus West Nile
WN	: West Nile
WN	: Woleu Ntem
WPV	: Well Polycarbonate Vial

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	: Virus du genre <i>Lyssavirus</i>	9
Tableau II	: Les <i>Arenavirus</i> de l'ancien monde	11
Tableau III	: Etiologie, distribution géographique, réservoir et/ou vecteur des principales maladies virales communes à l'homme et à l'animal	15
Tableau IV	: Classification des principaux <i>Coronavirus</i>	19
Tableau V	: Classification des <i>Paramyxoviridae</i>	24
Tableau VI	: Calendrier des missions de collecte.....	58
Tableau VII	: Amorces utilisées pour l'amplification du fragment du gène L et RdRp.....	66
Tableau VIIIa	: Nombre d'espèces d'ongulés prélevées et provinces correspondantes... ..	73
Tableau VIIIb	: Nombre d'espèces de primate prélevées et provinces correspondante	74
Tableau VIIIc	: Nombre d'espèces d'oiseaux prélevées et province correspondantes... ..	74
Tableau VIII d	: Nombre d'espèces de rongeurs prélevées et provinces correspondantes.....	75
Tableau VIIIe	: Nombre d'espèces de carnivores prélevées et provinces correspondantes	75
Tableau VIII f	: Nombre d'espèces de reptiles prélevées et provinces correspondantes... ..	76

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Coronavirus</i> en microscopie électronique.....	17
Figure 2 : Structure protéique des <i>Coronavirus</i>	17
Figure 3 : Spectre d'hôte des différentes espèces de <i>Coronavirus</i>	20
Figure 4 : Représentation schématique d'une particule virale de paramyxovirus.....	23
Figure 5 : Conditions d'émergences de maladie	39
Figure 6 : Cycle de transmission de la fièvre jaune	47
Figure 7 : Situation géographique du Gabon	55
Figure 8 : Animaux étalés au débarcadère	58
Figure 9 : Animaux accrochés au bord de la route.....	58
Figure 10 : Autopsie en plein air	60
Figure 11 : Autopsie en salle	60
Figure 12 : Thermocycleur	62
Figure 13 : Extracteur EZ1 Advanced XL	62
Figure 14 : Broyeur d'organe (automate Geno Grinder 2000).....	63
Figure 15 : Cuve à électrophorèse.....	68
Figure 16 : Emplacement géographique des sites d'investigations (Village en bordure des routes)	70
Figure 17 : Nombre d'animaux prélevés par province.....	71
Figure 18 : Histogramme des effectifs par groupe d'animaux prélevé	72
Figure 19 : Visualisation des produits de PCR sous les rayons ultra violets après migration électrophorétique sur gel d'agarose	77

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LES VIRUS ZONOTIQUES HEBERGES PAR LES ANIMAUX SAUVAGES : cas des <i>Coronaviridae</i> et des <i>Paramyxoviridae</i>.....	1
CHAPITRE I: FAMILLES VIRALES IMPLIQUEES DANS L'APPARITION DES MALADIES COMMUNES A L'HOMME ET A L'ANIMAL.....	1
I- INVENTAIRE DES FAMILLES VIRALES IMPLIQUEES DANS L'EMERGENCE DES ZONOSSES.....	7
II- LES <i>CORONAVIRIDAE</i> ET <i>PARAMYXOVIRIDAE</i>	16
II.1- LES <i>CORONAVIRIDAE</i>	16
II.1.1- Généralités.....	16
II.1.2- Classification des <i>Coronaviridae</i>	17
II.2- LES <i>PARAMYXOVIRIDAE</i>	22
II.2.1- Généralités.....	22
II.2.2- Classification des <i>Paramyxoviridae</i>	23
II.2.2.1- Sous-famille des <i>Pneumovirinae</i>	25
II.2.2.2- Sous-famille des <i>Paramyxovirinae</i>	25
CHAPITRE II : LES ZONOSSES ET MALADIES VIRALES EMERGENTES.....	1
I- CONCEPT DE ZONOSE.....	30
I.1- IMPACT DES ZONOSSES D'ORIGINE VIRALE	31
I.2- IMPACT QUANTITATIF.....	32
I.3- IMPACT EN SANTE PUBLIQUE.....	32
I.4- IMPACT SUR LA FAUNE SAUVAGE.....	34

I.5- IMPACT SUR LES ANIMAUX DE PRODUCTION.....	35
II- CONCEPT DE MALADIE EMERGENTE.....	36
II-1 FACTEURS D’EMERGENCE DES MALADIES D’ORIGINE ANIMALE CHEZ L’HOMME.....	38
II.1.1- Facteurs de risque d’origine anthropique.....	39
II.1.1.1- Facteurs liés aux modifications écologiques.....	39
II.1.1.2 – Augmentation des contacts animaux-hommes.....	41
II.1.2- FACTEURS NATURELS D’EMERGENCE.....	42
II.1.2.1- Les animaux réservoirs.....	42
II.1.2.2- Les facteurs climatiques.....	42
II.2- FACTEURS DE DIFFUSION DES MALADIES VIRALES.....	44
II.2.1- Intensification des voyages et commerces internationaux.....	44
II.2.2- Cycles de transmissions des virus.....	45
II.3- RELATION ENTRE ZONOSE ET MALADIE EMERGENTE	48
DEUXIEME PARTIE : RECHERCHE DES VIRUS APPARTENANT AUX FAMILLES DES <i>CORONAVIRIDAE</i> ET DES <i>PARAMYXOVIRIDAE</i>.....	1
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES	1
I- MILIEU D’ETUDE.....	51
I.1- LE GABON.....	51
I.1.1- Situation géographique.....	51
I.1.2- L’administration	52
I.1.3- Climat.....	52
I.1.4- Faune.....	53
I.1.4- Flore.....	54
I.2- LE CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHES MEDICALES DE FRANCEVILLE (CIRMF).....	55
II- MATERIEL ET METHODES SUR LE TERRAIN.....	57

II.1- MATERIEL ANIMAL ET SITE DE COLLECTE.....	57
II.2- COLLECTE D’ECHANTILLONS.....	58
II.2.1- Chronologie de la collecte.....	58
II.2.2- Autopsie et prélèvement des organes.....	59
II.2.4- Stockage et conservation des organes.....	60
III – MATERIEL ET METHODES AU LABORATOIRE.....	61
III.1- MATERIEL.....	61
III.2- METHODES.....	63
III.2.1- Découpe et broyage des organes sur l’automate.....	63
III.2.2- Extraction de l’ARN.....	64
III.2.3- Amplification d’un fragment du gène RdRp (<i>Coronaviridae</i>) et du gène L (<i>Paramyxoviridae</i>) par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR).....	65
III.2.3.1- RT-PCR One step (Pan <i>Coronavirus</i>).....	66
III.2.3.2- PCR nichée (Pan <i>Coronavirus</i>).....	67
III.2.4- Electrophorèse des fragments amplifiés.....	68
CHAPITRE II : RESULTATS.....	69
I- RESULTAT SUR LE TERRAIN.....	69
I.1- LE NOMBRE D’ANIMAUX PRELEVES PAR PROVINCE	70
I.2- LE NOMBRE D’ANIMAUX PRELEVES PAR ESPECE.....	71
I.3- SYNTHESE DES RESULTATS OBTENUS SUR LE TERRAIN	73
II- RESULTATS DES ANALYSES.....	76
CHAPITRE III : DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS.....	78
I- DISCUSSION.....	78
I.1- LIEU ET PERIODE D’ETUDE.....	79
I.2- CHOIX DES ESPECES ANIMALES ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS	80
I.3- RESULTATS DES ANALYSES.....	81
II- RECOMMANDATIONS.....	83

II.1- AUX AUTORITES ETATIQUES EN CHARGE DES PRODUCTIONS ANIMALES.....	83
II.2- AUX CHASSEURS, COMMERÇANTS ET CONSOMMATEURS..	83
II.3- AUX EAUX ET FORETS	84
II.4- AUX SCIENTIFIQUES.....	84
CONCLUSION.....	85
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE.....	89
ANNEXES.....	99

INTRODUCTION

Les virus sont des objets biologiques particuliers, infectieux, subcellulaires, doués de continuité génétique et de grandes capacités évolutives, constitués d'un acide désoxyribonucléique (ADN) ou d'un acide ribonucléique (ARN) et de protéines. Ils dépendent de cellules vivantes pour se répliquer et pour cela certains sont capables de perturber profondément et/ou durablement l'information génétique des cellules qu'ils infectent (**Chastel, 1992**).

Plus de 6000 virus ont été décrits à ce jour (**Chastel, 2006**). Ils infectent l'homme, les animaux domestiques et sauvages, les plantes et les insectes. Certains virus sont capables de passer des animaux à l'homme et/ ou réciproquement. Ils sont qualifiés de zoonotiques et peuvent être responsables d'épidémies. La plupart des dernières alertes sanitaires sont dues à l'émergence de maladies infectieuses ayant une origine animale. Ainsi, on sait désormais que les virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) proviennent des primates (**Allan et al., 1991; Meyers, 1992**). Les animaux sont également incriminés dans l'apparition du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS), du syndrome encéphalitique à virus Nipah, de la fièvre hémorragique à virus Ebola, de la fièvre de la vallée du Rift et on a reconnu depuis longtemps le rôle des oiseaux et porcins dans la circulation du virus de la grippe. Les animaux sauvages représentent donc une source importante d'agents pathogènes pouvant conduire à l'émergence ou la réémergence de maladies infectieuses chez l'homme (**Morse, 1995; Chomel, 1998; Mahy, 2000; Taylor et al., 2001; Rodhain, 2003; Karesh et al., 2005**).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) ont recensé plus de 180 maladies virales, bactériennes et parasitaires transmissibles naturellement des animaux vertébrés à l'homme (et vice versa) ou communes à l'animal et à l'homme (**Hars, 2003**). Plus de la moitié de ces zoonoses proviennent de la faune sauvage et peuvent être transmises à l'homme lors des perturbations de l'écosystème forestier liées aux

activités humaines (activités agricoles, exploitations forestières, pratique de chasse etc.). En effet, ces activités à l'origine de modifications écologiques (déplacements de faune forestière, introduction d'espèces sylvicoles) contribuent à l'augmentation des contacts «réservoirs-hôte intermédiaires-Hommes» (**Breman et al., 1999; Tutin, 2000**).

Par ailleurs, dans plusieurs régions du monde et en Afrique en particulier, la chasse et la consommation d'animaux sauvages (viande de brousse) restent encore et toujours des pratiques courantes. C'est le cas au Gabon, pays tropical situé dans le bassin du Congo, qui offre de par son écosystème forestier (recouvrant plus de 80% de son territoire), la diversité des espèces animales et d'arthropodes vecteurs qui s'y trouvent, des conditions favorables à la circulation et à la transmission d'agents pathogènes de l'animal à l'homme. De plus, le Gabon a connu de multiples épidémies, en particulier des épidémies de fièvre hémorragique à virus Ebola et celles dues aux virus Chikungunya et Dengue (**Milleliri et al., 2004; Leroy et al., 2007**). Le rôle des animaux sauvages dans l'épidémie d'Ebola au Gabon est connu, ceci suggère l'existence d'un cycle de maintenance des virus dans la faune sauvage.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de ce travail qui vise à contribuer à l'amélioration de la connaissance des virus hébergés par les animaux sauvages, et susceptibles d'être pathogènes pour l'homme ; et d'une façon spécifique, la recherche des virus appartenant aux familles des *Coronaviridae* et des *Paramyxoviridae* dans les organes de gibier abattu pour la consommation humaine au Gabon. Pour atteindre cet objectif, les missions de prélèvement d'organes d'animaux sauvages ont été effectuées sur l'ensemble du territoire national. Les organes prélevés ont été analysés par la technique de biologie moléculaire (RT-PCR) au Centre International de Recherche médicales de Franceville (CIRMF).

Le travail est présenté en deux parties. La première partie est consacrée à la revue bibliographique des virus d'origine animale susceptibles d'être transmis à l'homme. La deuxième partie présente les méthodes d'étude, les analyses virologiques et discute les résultats obtenus.

PREMIERE PARTIE :

**GENERALITES SUR LES VIRUS ZONOTIQUES
HEBERGES PAR LES ANIMAUX SAUVAGES : cas des
Coronaviridae et des *Paramyxoviridae*.**

Deux chapitres constituent notre étude bibliographique. Après une présentation des familles virales dont certains agents sont responsables de maladies communes à l'homme et à l'animal, nous aborderons ensuite deux concepts : le concept de zoonose et le concept de maladie émergente.

CHAPITRE I : FAMILLES VIRALES IMPLIQUEES DANS L'APPARITION DES MALADIES COMMUNES A L'HOMME ET A L'ANIMAL.

Dans la plupart des familles virales, on retrouve des virus capables d'infecter à la fois l'homme et les animaux. Ils sont qualifiés de virus zoonotiques et de ce fait leur impact en santé publique est majeur. Si pour certains virus le réservoir animal est bien connu (rage, fièvre de Lassa, etc.), pour d'autres l'hypothèse d'une origine animale est fortement avancée. Dans ce chapitre nous présenterons de façon succincte, les familles virales dont les agents sont responsables de zoonoses, ensuite nous parleront des *Coronaviridae* et *Paramyxoviridae* qui ont fait l'objet de notre étude.

I- INVENTAIRE DES FAMILLES VIRALES IMPLIQUEES DANS L'EMERGENCE DES ZONNOSES.

❖ Les *Rhabdoviridae*

La famille des *Rhabdoviridae* appartient à l'ordre des Mononegavirales, virus dont le génome est un ARN monocaténaire de polarité négative. Le virus rabique se présente sous la forme d'une balle de fusil. C'est une particule cylindrique, hémisphérique à une extrémité, et plane à l'autre, qui mesure en moyenne 180 nm de long et 75 nm de diamètre. Des variations de longueur s'étendent de 100 à 300 nm et dépendent de la souche ainsi que des conditions de cultures (Tordo et al., 1988).

Le virus rabique est constitué de deux parties essentielles sur le plan structural et fonctionnel : la nucléocapside de nature (nucléoprotéique) et l'enveloppe virale de nature (glucido-lipido-protéique). Chaque virion est composé d'une molécule d'ARN représentant le génome et de 5 protéines majeures que l'on classe en protéines de la nucléocapside (N, P et L) et en protéines de l'enveloppe (M et G).

L'information génétique est stockée sur un simple brin d'ARN linéaire, non segmenté, de polarité négative ou non infectieux (**Tordo et al., 1988**). Durant le cycle viral, l'ARN génomique est transcrit puis répliqué. Lors de la transcription, il sert de matrice pour la synthèse de molécules intermédiaires complémentaires, de polarité positive, capables de produire les protéines virales : les ARN messagers (ARNm).

Cette famille comporte plus de deux cents virus de mammifères, poissons, crustacés, reptiles et des plantes (**Smith, 1996**). Parmi eux, ceux qui infectent les mammifères appartiennent à trois genres, chacun se subdivisant en sérotype :

- ✓ Le genre *Vesiculovirus* : (modèle : virus de la stomatite vésiculeuse VSV) ;
- ✓ Le genre *Lyssavirus* : (modèle : virus de la rage) ;
- ✓ Le genre *Ephemerovirus* : (modèle : virus de la fièvre éphémère bovine).

Le genre *Lyssavirus* comporte quatre sérotypes principaux identifiés grâce à l'emploi d'un panel d'anticorps monoclonaux (AcMn). Le sérotype 1 comprend toutes les souches du virus rabique, les autres sérotypes étant considérés comme des virus apparentés à la rage. D'autre part, l'analyse du génome virale a permis de définir 7 génotypes différents (Tableau I).

La rage est une zoonose majeure. Tous les cas de rage humaine sont d'origine animale, excepté les rares cas de transmission interhumaine à la suite d'une greffe d'organe. La contamination est en général consécutive à la morsure d'un animal enragé.

Tableau I : Virus du genre *Lyssavirus* (Cliquet, 2004)

Virus	Sérotype	Génotype	Distribution géographique	Espèces atteintes	Cas humain
Rage	1	1	Monde entier Sauf : Océanie, Japon, Antarctique, Europe occidentale	Carnivores domestiques et sauvages, chiroptères insectivores et hématophages	+ de 50000/an
Lagos Bat	2	2	Afrique subsaharienne	Chauves-souris frugivores, chien, chat	Aucun cas à ce jour
Mokola	3	3	Afrique subsaharienne	Musaraignes, chien, chat, rongeurs	2 (Nigéria 1969-1971)
Duvenhage	4	4	Afrique du Sud Zimbabwe	Chauves-souris insectivores	2 (Afrique du sud 1971)
EBL 1(a-b)	ND	5	Europe	Chauves-souris insectivores, mouton	2 (Russie 1985, Ukraine 1977)
EBL 2 (a-b)	ND	6	Europe (Suisse, Pays bas, Royaume Uni)	Chauves-souris insectivores	2 (Finlande 1985, Ecosse 2002)
ABL	ND	7	Australie	Chauves-souris frugivores et insectivores	2 (Australie 1996-1998)

Pour **EBL 1** et **EBL 2**, a et b représentent les lignées définies à partir des données de la biologie moléculaire. ND : non défini

❖ Les *Arenaviridae*

La famille des *Arenaviridae* se situe dans le groupe taxonomique des virus à ARN monocaténaire, négatif et segmenté en deux espèces sous-génomiques S et L. Ce sont des virus enveloppés par une membrane lipoprotéinique, qui se présentent comme des particules polymorphes dont le diamètre varie de 50 nm à 300 nm. La membrane virale contient deux glycoprotéines (25 p. 100 de la masse protéique) en quantités équimolaires à la surface du virus, GP1 (44Da) et GP2 (72Da), qui sont issues du même précurseur, GP-C (**Gonzales et al., 2000**).

La famille des *Arenaviridae* présente une distribution mondiale avec un quart de ses vingt espèces virales reconnues comme pathogènes pour l'homme. Plusieurs *arénavirus* ont été récemment décrits. Parmi ceux-ci certains sont reconnus responsables de maladies émergentes chez l'homme : le virus Guanarito (GUA) agent de la fièvre hémorragique du Venezuela (FHV), et le virus Sabía (SAB) au Brésil, agent de la fièvre hémorragique de São Paulo (FHSP). La fièvre de Lassa est considérée comme une maladie virale émergente, sans doute par son apparition brutale à la fin des années 1960 au Nigéria (**Gonzales et al., 2000**).

Les *Arenaviridae* sont subdivisés en deux sous ensembles, chacun d'entre eux étant considéré comme un groupe monophylétique :

- ✓ les *Arenaviridae* de l'Ancien-Monde (AAM) dont les hôtes spécifiques sont des rongeurs *Murinae*,
- ✓ les *Arenaviridae* du Nouveau-Monde (ANM) dont les hôtes spécifiques sont des rongeurs *Sigmodontinae*.

Le tableau II présente les *Arenavirus* rencontrés en Afrique (AAM) avec, notamment la fièvre de Lassa endémique en Afrique de l'Ouest (Nigéria, Guinée bissau).

Tableau II : Les *Arenavirus* de l'ancien monde (Gonzales et al., 2000)

Virus	Distribution	Haut naturel	Environnement	Année d'isolement
CML	Mondiale	<i>Mus musculus</i>	Prairie	1934
Ippy	RCA	<i>Arvicanthis sp</i>	Savane humide	1970
Lassa	Nigéria	<i>Mastomys natalensis</i>	Forêt claire	1970
Mobala	RCA	<i>Praomys jaksoni</i>	Savane forestière	1980
Mopeia	Mozambique	<i>Mastomys erythroleucus</i>	Savane	1977

La transmission à l'homme d'un *Arenavirus* est totalement dépendante de la présence de rongeurs infectés et de leur abondance relative dans une zone domestique ou péri-domestique. Toutefois, ceci est modulé par le périmètre d'activité des rongeurs et les comportements à risque d'origine anthropique (exemple : chasse, défrichage). La contamination se fait par contact direct (morsure, abrasion de la peau) ou indirect avec le réservoir ou ses excréments infectés, mais aussi par le tractus digestif avec des aliments souillés et quelquefois par aérosol. Plusieurs contaminations de laboratoire et nosocomiales sont en effet documentées sur ce point.

❖ Les *Bunyaviridae*

La famille des *Bunyaviridae* comprend plus de 300 espèces virales, regroupées dans 5 genres : *Hantavirus*, *Nairovirus*, *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Tospovirus*. Ce regroupement au sein d'une famille unique a été effectué sur la base de la nature génomique de type ARN trisegmenté de polarité négative (segments L, M et S). Leur morphologie est identique, ce sont des virus de 80 à 120 nm de diamètre avec une enveloppe composée d'une bicouche lipidique et de spicules glycoprotéiques. Dans cette famille, seul le genre *Tospovirus* ne recense aucun virus pathogène pour l'homme (Raoult, 1998). Les virus

appartenant aux genres *Phlebovirus* et *Nairovirus* sont responsables de zoonoses fréquemment rencontrées en Afrique. Il s'agit respectivement de la fièvre de la vallée du Rift (FVR) et la fièvre hémorragique Crimée Congo (FHCC).

❖ Les *Filoviridae*

Le virus Marburg (MARV) et le virus Ebola (EBOV), seuls membres connus de la famille des *filoviridae*, ordre des Mononegavirales, sont formés d'une nucléocapside tubulaire à symétrie hélicoïdale entourée d'une enveloppe où est insérée la glycoprotéine. Au microscope électronique, les virus apparaissent comme de longs filaments. La taille des virions varie de 130 nm de long (pour Marburg) à 14000 nm (pour Ebola) mais le diamètre est uniforme (80nm). Le virus contient une molécule d'ARN à simple brin d'environ 19,1 kb, le génome de polarité négative, non infectieux, code 7 protéines structurales dans l'ordre : 3'-NP-VP35-VP40-GP-VP30-VP24-L-5'. A l'intérieur du gène de la glycoprotéine GP d'Ebola, on trouve un second ORF (Open Reading Frame ou Cadre de Lecture Ouvert) qui code une protéine sGP de 15kDa qui pourrait jouer le rôle dans la pathogénicité de l'infection. Quatre protéines (la nucléoprotéine NP, VP30, VP35, et la polymérase L) sont associées à l'ARN pour former le ribonucléocapside. Les 3 autres sont associées à la membrane : la glycoprotéine, VP24 et VP40.

Ces deux virus sont responsables de zoonoses hautement contagieuses et circulent principalement en Afrique centrale. Ils causent des épidémies de fièvres hémorragiques avec de nombreuses infections secondaires, notamment au niveau du personnel hospitalier. Les signes cliniques à dominante hémorragique et non spécifiques rendent leur diagnostic difficile.

❖ Les *Flaviviridae*

Les *Flaviviridae* possèdent un ARN de 11000 kb qui code 3 protéines de structure (C, prM et E) et 7 protéines non structurales : NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 (**Schubert, 2010**). Ces virus se multiplient dans le

cytoplasme et la maturation se fait dans les vésicules cytoplasmiques. Ils peuvent être cultivés dans plusieurs modèles cellulaires des vertébrés ou d'arthropodes. La famille comprend trois genres :

- ✓ Le genre *Flavivirus* appartient au groupe B des arbovirus, une trentaine d'espèces sont pathogènes pour l'homme. Ils sont souvent transmis par les arthropodes.
- ✓ Le genre *Pestivirus* est pathogène pour le bétail et transmis par contact direct ou indirect.
- ✓ Le genre *Hepacivirus*, dont le virus de l'hépatite C est pathogène pour l'homme et son mode de transmission principale est la voie parentérale.

Comme les autres arbovirus, les infections à *Flavivirus* sont surtout des infections animales. La virémie chez les animaux infectés permet l'essaimage de ces virus par les moustiques (*Aedes spp*, *Culex spp*) ou des tiques infectées (*Ixodes spp*). Les animaux sauvages sont des réservoirs et l'homme peut s'infecter accidentellement par piqûres d'arthropodes hématophages. Les *Flavivirus* sont responsables de fièvres éruptives avec arthralgie (dengue), d'encéphalites (encéphalite japonaise, encéphalite à tiques, West Nile), ou de fièvres hémorragiques (dengue, fièvre jaune).

❖ **Les *Togaviridae***

Les *Togaviridae* sont des virus à ARN à polarité positive. Ils ont une enveloppe dérivée des membranes cellulaires de l'hôte, ce qui explique leur fragilité. Le réservoir est constitué par un vertébré (mammifères ou oiseaux) et des vecteurs actifs constitués par un arthropode hématophage (moustiques). Le maintien du virus dans la nature repose sur le passage alterné entre réservoir et vecteur. Les infections dues aux virus appartenant au genre *Alphavirus* sévissent surtout dans les zones intertropicales durant la saison des pluies. La majorité des infections humaines sont asymptomatiques. Cependant, sur l'aspect clinique des formes symptomatiques, on distingue deux catégories d'*Alphavirus* :

- ✓ Les *Alphavirus* responsables de manifestations articulaires fébriles comprenant, le virus du Chikungunya, le virus de l'Onyong-nuyong, le virus Ross river ;
- ✓ Les *alphavirus* responsables d'encéphalite équine et humaine, à savoir le virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEE), le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (WEE) et le virus de l'encéphalite du Venezuela.

Les maladies provoquées par les virus zoonotiques appartenant à certaines familles virales présentées plus haut sont résumées dans le tableau III. Ce tableau présente également la répartition géographique, les réservoirs et/ou vecteurs impliqués.

Tableau III : Etiologie, distribution géographique, réservoir et/ou vecteur des principales maladies virales communes à l'homme et à l'animal.

Familles virales	Virus	Maladie	Distribution	Réservoir/Vecteur
<i>Arenaviridae</i>	Virus Lassa	Fièvre de Lassa	Afrique de l'Ouest	<i>Mastomys natalensis</i>
<i>Bunyaviridae</i>	RVFV	FVR	Afrique, Moyen Orient	Moustiques
	Crimée Congo	FHCC	Afrique, Asie, Russie	Tiques
<i>Filoviridae</i>	EBOV	FHE	Afrique	Chauves-souris ?
	MARV	FHM	Afrique	Singe
<i>Flaviviridae</i>	Virus amaril	Fièvre Jaune	Afrique, Amérique	<i>Aedes (aegypti, furcife, simp)</i>
	Dengue 1, 2, 3, 4	Dengue	Afrique, Asie, Pacifique, Amérique	<i>Aedes aegypti</i>
<i>Rhabdoviridae</i>	Virus de la rage	Rage	Mondiale	Chauves-souris, Renard, Chacal
<i>Togaviridae</i>	VEE	Encéphalite équine	Amérique	Moustiques
	ONV	O'nyong-nyong	Afrique, Asie	Moustiques
	CHIK V	Chikungunya	Afrique de l'Est	Moustiques
<i>Paramyxoviridae</i>	NiV	Encéphalite NiV	Malaisie	Chauves-souris
	HeV	Encéphalite HeV	Australie	Chauves-souris
	MenV		Australie	Chauves-souris
<i>Coronaviridae</i>	Sars-CoV	SARS	Asie	Chauves-souris ?
<i>Orthomyxoviridae</i>	H5N1	Grippe aviaire	Mondiale	Oiseaux sauvages

II- LES *CORONAVIRIDAE* ET LES *PARAMYXOVIRIDAE*

Les virus appartenant aux familles *Paramyxoviridae* et *Coronaviridae* ont été recherchés pour cette étude. Ces familles comprennent des virus qui ont récemment émergé et dont l'impact en santé publique est grand. Il s'agit du virus Hendra (HeV), Nipah (NiV) et Menangle (MenV) pour les *Paramyxoviridae* et du Sars-CoV pour les *Coronaviridae*. Ces virus responsables de zoonoses majeures n'ont jamais été recherchés sur les animaux sauvages au Gabon, d'où l'intérêt de cette étude.

II.1- LES *CORONAVIRIDAE*

II.1.1- Généralités

Les virus appartenant à la famille des *Coronaviridae* sont enveloppés et possèdent un génome à ARN de polarité positive. Il s'agit de gros virus sphériques dont la taille peut aller de 60 à 220 nm présentant un aspect très polymorphe. Le nom de *Coronaviridae* vient de leur aspect "en couronne" en microscopie électronique (Figure 1). Cet aspect en couronne est dû à la présence sur l'enveloppe de spicules en forme de massue de 20 nm de hauteur et constituées de la protéine de surface S (Vabret et al., 2009). Les autres glycoprotéines d'enveloppe sont : la protéine M, la protéine E, l'Hémagglutinine-estérase HE pour les *Coronavirus* du groupe 2 et la protéine N qui présente une forte affinité pour l'ARN grâce à des résidus fortement basiques.

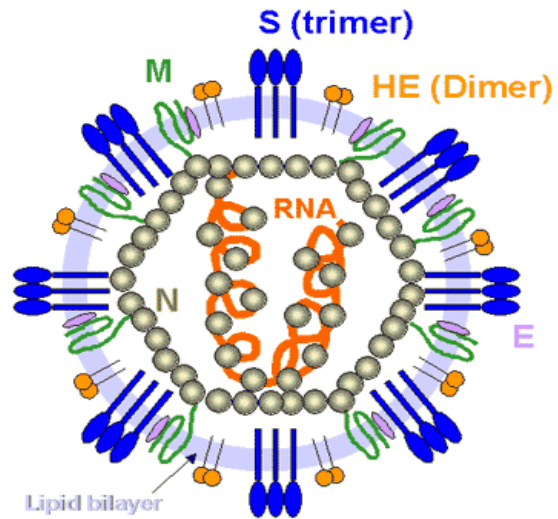
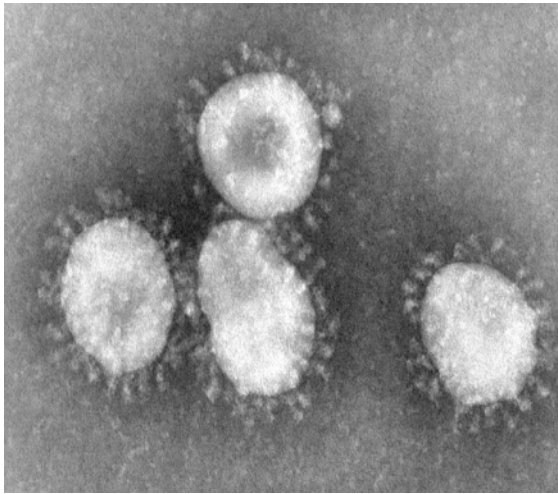


Figure 1 : *Coronavirus* en microscopie électronique **Figure 2 :** Structure protéique des *Coronavirus*
 Source : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Coronavirus>

II.1.2- Classification des *Coronaviridae*

Depuis 1996, les *Coronaviridae* sont classés dans l'ordre taxonomique des Nidovirales. La classification est basée sur des similitudes d'organisation génomique, de méthodes de réplication et de transcription. La famille des *Coronaviridae* comprend deux genres : le genre *Coronavirus* et le genre *Torovirus* (Virus Berne du chien, Virus Breda des bovins et *Torovirus* du porc).

❖ Le genre *Coronavirus*

Le genre *Coronavirus* forme un grand groupe de virus infectant les mammifères et les oiseaux. Cinq d'entre eux infectent l'homme : HCoV 229E et OC43 connus depuis les années 1960, Sars-CoV identifiés en Mars 2003 lors de l'épidémie de syndrome de détresse respiratoire aigu sévère en Chine, NL-63 et HKU1, identifiés respectivement en 2004 et 2005. Ce sont des virus dont le génome est une molécule d'ARN monocaténaire à polarité positive de très grande taille, environ 30 kb (Vabret et al., 2005). Les *Coronavirus* classiques (229E, OC43, NL63) sont ubiquitaires et circuleraient sous forme épidémique. Ce sont essentiellement des virus responsables d'infections respiratoires hautes et basses. Le Sars-CoV est, lui un virus émergent responsable d'épidémie de

syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) qui a touché plus de 8000 personnes de novembre 2002 à juillet 2003. Les *Coronavirus* humains sont également impliqués dans des pathologies digestives et neurologiques. Chez l'homme, les premiers isolats ont été obtenus dans les années 1960 à partir des sujets enrhumés. Le genre *Coronavirus* est réparti en trois groupes, présentant une proximité antigénique et structurale (Tableau IV). Depuis 2003, vingt quatre (24) nouveaux *Coronavirus* ont été identifiés : trois (3) chez l'homme, dix (10) chez les autres mammifères et onze (11) chez les oiseaux (Figure 2) (**Vabret et al., 2009**).

Tableau IV : Classification des principaux *Coronavirus* (Gonon, 1998)

Groupe	Virus	Maladie
Groupe 1 Mammifères	Gastroentérite transmissible du porc (TGEV)	Gastroentérite
	Coronavirus respiratoire du porc (PRCV)	Maladie respiratoire
	Diarrhée épidémique porcine (PEDV)	Gastroentérite
	Péritonite infectieuse féline (FIPV)	Pneumonie, Péritonite
	Coronavirus entéritique félin (FECV)	Diarrhée jaune
	Coronavirus canin (CCoV)	Diarrhée
	Coronavirus humain 229E (HCoV- 229E)	Rhume
	Coronavirus humain NL-63	Maladie respiratoire
	Coronavirus du Lapin (RbCV)	Cardiomyopathie
	Coronavirus du furet	Entérite, Péritonite
Groupe 2: Mammifères et oiseaux	Hépatite murine (MHV)	Hépatite
	Coronavirus bovin (BCoV)	Gastroentérite
	Virus hémagglutinant de l'encéphalite Porcine (HEV)	Vomissement, encéphalomyélite
	Maladie de la crête bleue de la dinde (TCV)	
	Coronavirus humain OC43	Diarrhée
	Coronavirus humain NKU1	Rhume
	Syndrome respiratoire aigu sévère (Sars-CoV) de l'homme	Maladie respiratoire Pneumonie
Groupe 3 : Oiseaux	Bronchite infectieuse aviaire (IBV)	Trachéobronchite, néphrite

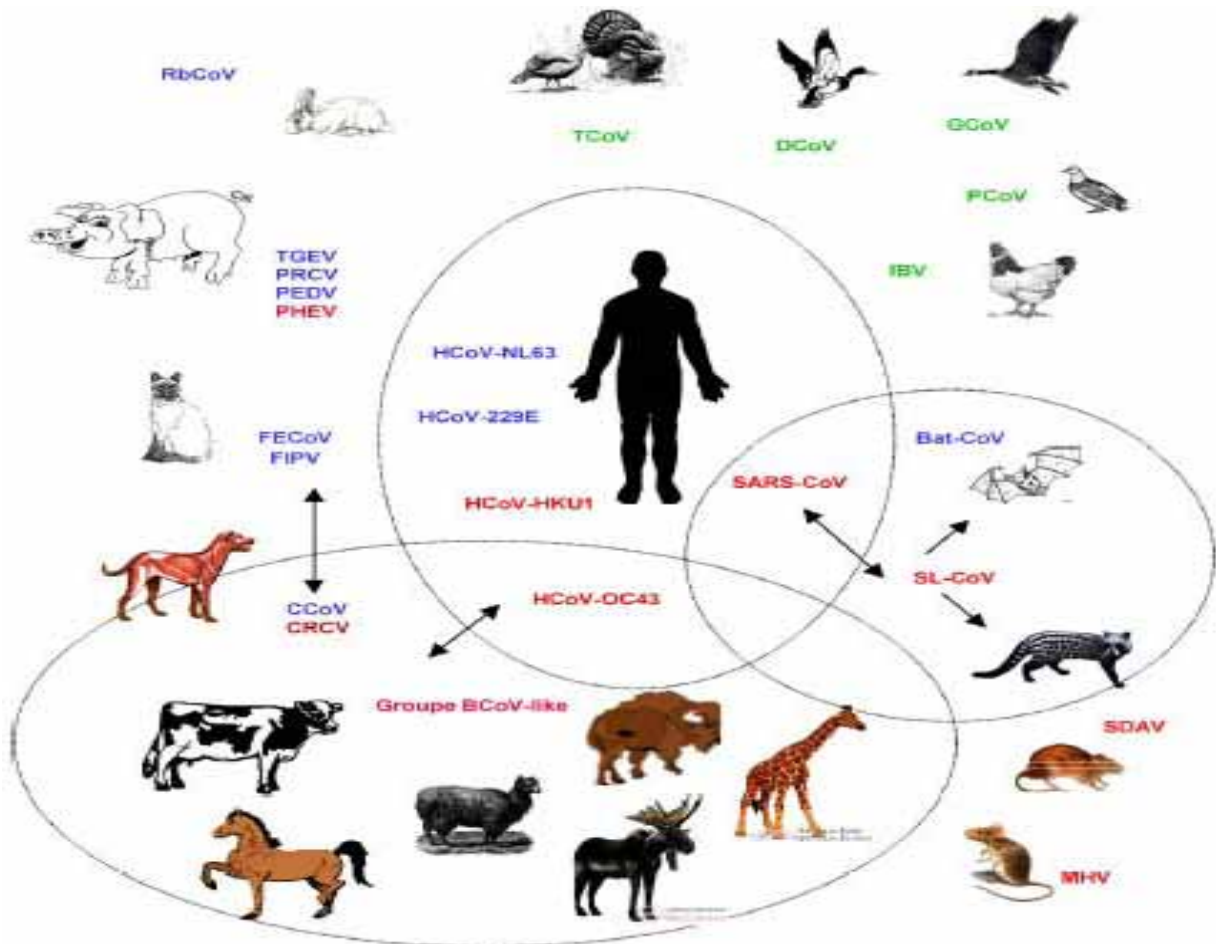


Figure 3 : Spectre d'hôte de différentes espèces de *Coronavirus* (Vabret et al., 2009)

Les *Coronavirus* du groupe 1 sont en bleu, ceux du groupe 2 en rouge et le groupe 3 en vert. Les flèches représentent les hypothétiques franchissements de barrière d'espèce possibles.

Dans ce chapitre consacré à l'étude des *Coronaviridae*, seul le syndrome respiratoire aigu sévère sera présenté. Ce choix repose sur le caractère zoonotique de cette maladie.

❖ Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)

Le SRAS est une maladie très contagieuse, causée par un *Coronavirus* nouveau (Sars-CoV) apparu en Novembre 2002 dans la province de Guangdong en Chine. L'épidémie s'est rapidement propagée à travers le monde pour toucher trente trois (33) pays. Au début de juillet 2003, l'OMS a annoncé la fin de

l'épidémie ; le bilan global s'est élevé à 8422 cas et 916 décès, soit un taux de létalité de 10,87% (**Chastel, 2006**).

L'hypothèse d'une origine animale du SRAS est très probable. En effet, les virologistes ont réussi à isoler un *Coronavirus* très proche de celui du SRAS chez des civettes de l'Himalaya (*Paguna larvata*). Néanmoins, les souches de *coronavirus* isolées chez les civettes diffèrent de celles isolées chez l'homme atteint de SRAS par la présence dans leur génome, de 29 nucléotides supplémentaires (**Guan et al., 2003**). Chez les Chauves-souris, trois espèces du genre *Rhinolophus* (*R. pearsoni*, *R. pussilus* et *R. macrotis*) capturées dans le Guangxi, ont présenté des anticorps spécifiques à une fréquence élevée. Des fientes de ces espèces furent trouvées positives en RT-PCR, montrant que ces chiroptères constituent un important réservoir de *Coronavirus* en Chine. Les virus correspondants sont très proches, génétiquement, à la fois des Sars-CoV et des souches provenant des civettes ; ils sont désignés comme SARS-like coronavirus ou SL-CoV (**Li et al., 2005**).

La transmission du virus Sars-CoV se fait principalement par les gouttelettes de sécrétions respiratoires d'une personne infectée dispersées par la toux. La transmission par les mains sales (transmission oro-fécale) est possible mais ne représente pas une voie de transmission importante. On considère actuellement que seules les personnes présentant des symptômes de l'infection sont susceptibles de transmettre la maladie.

Sur le plan clinique, la période d'incubation peut varier de 1 à 11 jours avec une moyenne de 6 jours. Les signes cliniques de 156 patients hospitalisés pour le SRAS à Hong-Kong ont été bien décrits (**Lee et al., 2003**). Les principales caractéristiques sont : fièvre, frissons, myalgies, toux, vertiges, céphalées, expectorations, pharyngites, diarrhées, nausées et vomissements.

Pour le diagnostic du SRAS, les critères proposés par l’OMS et le Center for Disease Control and Prevention (CDC) sont principalement orientés sur le plan épidémiologique, et reposent sur l’identification positive du virus Sars-CoV en utilisant la sérologie et la RT-PCR.

Il n’existe pas de traitement spécifique ; lors de cette épidémie, les malades ont reçu un traitement de soutien à base de la ribavirine et différentes formes de corticoïdes. Les personnes faibles (âgées ou malades) ont d’ailleurs succombé du fait de l’inefficacité du traitement reçu.

❖ **Le Genre *Torovirus***

Dans le genre *Torovirus*, le virus prototype est le virus Berne (BEV) isolé en 1972 dans les selles diarrhéiques de chevaux. Les *Torovirus* humains ont été isolés pour la première fois en 1984 dans les selles de patients ayant une gastro-entérite.

II.2- LES *PARAMYXOVIRIDAE*

II.2.1- Généralités

La famille des *Paramyxoviridae* comprend des virus à ARN d’assez grande taille et enveloppés. Les particules virales sont très polymorphes, globuleuses ou filamenteuses, et mesurent 100 à 700 nm. Le génome à ARN monocaténaire non segmenté de polarité négative est associé à une nucléocapside hélicoïdale de 18 nm de diamètre (**Appel, 1987; Chastel, 2006**). Le génome code 7 protéines dont la polymérase associée au virion (Figure 4). L’enveloppe lipidique renferme la nucléocapside à symétrie hélicoïdale. Les virus appartenant à la famille des *Paramyxoviridae* sont capables d’infecter l’homme, les animaux domestiques (chevaux, porcs, bovins, volailles, chiens) et les animaux sauvages (singes, chauves-souris, lions, hyènes etc.).

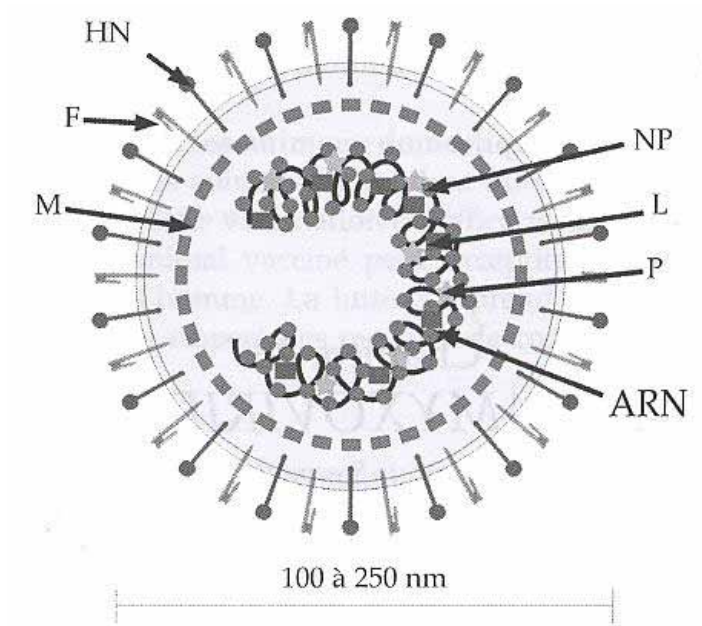


Figure 4 : Représentation schématique d'une particule virale de paramyxovirus

II.2.2- Classification des *Paramyxoviridae*

La famille des *Paramyxoviridae* est divisée en deux sous-familles : les *Pneumovirinae* et les *Paramyxovirinae* (Tableau V). Les *Pneumovirinae*, subdivisés en *Pneumovirus* et *Métapneumovirus*, se distinguent des *Paramyxovirinae* par leurs nucléocapsides plus étroites. La sous-famille des *Paramyxovirinae* quant à elle comprend cinq genres : *Avulavirus*, *Henipavirus*, *Morbillivirus*, *Respirovirus* et *Rubulavirus*.

Tableau V : Classification des *Paramyxoviridae*

Sous-famille	Genre	Quelques exemples	
		Virus humains	Virus animaux
<i>Pneumovirinae</i>	<i>Pneumovirus</i>	Virus respiratoires syncytial humain	Virus respiratoire Syncytial bovin Virus respiratoire Syncytial caprin Virus respiratoire Syncytial ovin
	<i>Metapneumovirus</i>	Métapneumovirus humain	Virus de la rhino-trachéite de la dinde Virus de la pneumonie de la souris
<i>Paramyxovirinae</i>	<i>Respirovirus</i>	Parainfluenza virus Humain 1 et 3	Virus de Sendai Parainfluenza virus bovins
	<i>Rubulavirus</i>	Virus des oreillons Para influenza virus Humain 2, 4a et 4b Menangle	Virus simien 5 Virus de la maladie de Newcastle Menangle
<i>Paramyxovirinae</i>	<i>Henipavirus</i>		Virus Hendra Virus Nipah
	<i>Morbillivirus</i>	Virus de la rougeole	Morbillivirus des cétacées Virus de la maladie de Carré Virus de la peste des petits ruminants Virus de la peste bovine
<i>Avulavirus</i>	rare		virus de la maladie de Newcastle

II.2.2.1- Sous-famille des *Pneumovirinae*

La sous-famille des *Pneumovirinae* comprend 2 genres : le genre *Pneumovirus* et *Metapneumovirus*. Les virus appartenant à ces deux genres sont responsables de maladies chez l'homme et chez les animaux (Tableau V). Seuls les virus à caractères zoonotiques comme certains de la sous-famille des *Paramyxovirinae* seront présentés dans ce document.

II.2.2.2- Sous-famille des *Paramyxovirinae*

La sous famille des *Paramyxovirinae* comprend 5 genres : le genre *Henipavirus*, *Morbillivirus*, *Rubulavirus*, *Respirovirus* et le genre *Avulavirus* (Tableau V). Des virus de cette sous-famille ont été associés au cours de ces dernières années à l'émergence de nouvelles maladies chez l'homme et chez l'animal (**Mackenzie et al., 2001**). Quatre de ces nouveaux virus ont été décrits dans la région Pacifique Ouest et ont la particularité de partager un même réservoir : des chauves-souris frugivores du genre *Pteropus*. Il s'agit des virus Menangle et Tioman appartenant au genre *Rubulavirus*, des virus Hendra et Nipah appartenant au nouveau genre *Henipavirus*. Toutefois, aucun cas humain de virus Tioman n'a été décrit à ce jour.

Dans la sous-famille des *Paramyxovirinae*, seuls les virus Hendra (HeV), Nipah (NiV), et Menangle (MenV) seront présentés, du fait de leur statut d'agents de zoonoses émergentes. En effet, les virus Hendra et Nipah ont été responsables chez l'homme et chez l'animal de syndrome pulmonaire et de méningo-encéphalites mortels. Le virus Menangle a causé des troubles de la reproduction en élevage porcin et de nombreux cas humains ont été signalés.

❖ Présentation des virus Hendra (HeV), Nipah (NiV), Menangle (MenV).

Ces virus présentent une nucléocapside formée d'un simple brin d'ARN associé à des protéines, des lipides et de carbohydrates. Le virion est polymorphe avec

un diamètre variable allant de 38 à 600 nm et une longueur de 1670 nm pour HeV et NiV, et une longueur de 500 nm pour MenV. L'enveloppe, formée directement à partir de la cellule hôte par bourgeonnement, contient trois glycoprotéines transmembranaires. La capsidie hélicoïdale, porte des spicules typiques des *Paramyxovirus*, d'une hauteur approximative de 17 nm et d'un diamètre de 5 nm. L'ARN viral de polarité négative, est non segmenté avec une longueur d'environ 15kb et son poids moléculaire varie de 5 à 7.10^6 daltons (**Goldsmith et al., 2003**). Il existe trois groupes de protéines :

- ✓ Les protéines du complexe transcriptase : L (lipoprotéine), NP (nucléoprotéine), P (polymérase) liées à l'ARN forment la nucléocapside ;
- ✓ Les protéines d'enveloppe : F (protéine de la fusion) et G (protéines d'attachement) permettent la fusion et l'attachement à la cellule hôte (**Bossart et al., 2002**). Les protéines hémagglutinines et neuraminidases (H et N) sont absentes chez HeV et NiV, mais sont présentes chez MenV sans activité estérasique ou neuraminidasique (**Wang et al., 2001**) ;
- ✓ La protéine matrice M, maintient la structure de l'enveloppe mais n'est pas intra-membranaire.

Les carbohydrates servent à la glycosylation des protéines. Ils ne représentent que 6% du poids moléculaire. Les lipides représentent 25% du poids moléculaire du virion et forment l'enveloppe (**Wang et al., 2001**).

❖ Infection due au Virus Hendra et Nipah

Sur le plan taxonomique, les virus Nipah (NiV) et Hendra (HeV) appartiennent à la sous-famille des *Paramyxovirinae*. Ils forment un nouveau genre appelé *Henipavirus* et se distinguent des autres membres de la famille par leur capacité à infecter aussi bien les hommes que les animaux (**Hooper et al., 2000**). Ces virus ont été décrits durant la dernière décennie du 20^{ème} siècle comme des agents responsables d'épizooties et d'épidémies de maladies respiratoires et neurologiques chez plusieurs espèces animales et l'homme.

En 1994, le HeV causait une maladie respiratoire sévère chez les chevaux avec 13 morts et deux cas humains dont un entraîneur de chevaux dans une écurie à Brisbane en Australie (**Wang et al., 2001**). Chez l'homme la durée de la période d'incubation n'a pas pu être déterminée. Le premier des deux patients a présenté un syndrome respiratoire aigu avec congestion, œdème et hémorragie pulmonaire (**Chua, 2003**). L'autre patient a souffert d'un syndrome méningitique, puis un syndrome encéphalitique et des convulsions tonico-cloniques après contact étroit avec des chevaux malades.

Entre septembre 1998 et 1999, après propagation d'une maladie provoquant des symptômes respiratoires et neurologiques chez les porcs en Malaisie, le NiV est apparu dans la population humaine locale. A la suite des foyers épidémiques apparus en Malaisie, à Singapour, au Bangladesh et en Inde, on estime le nombre total de cas humains dû au NiV à au moins 400, ce qui a occasionné la mort d'environ 200 personnes (**OIE., 2008**). Chez le porc, la durée d'incubation varie de 7 à 14 jours, le taux de mortalité est de 5 à 15% tandis que le taux de morbidité atteint les 100% (**Paton, 2002**). Chez le chien les signes cliniques ressemblent à ceux de la maladie de Carré avec hyperthermie, catarrhe oculo-nasal, symptômes respiratoires avec dyspnée, symptômes oculaires avec conjonctivite et kératite muco-purulente. Chez l'homme, la période d'incubation du virus Nipah varie, dans 90% des cas de 4 jours à 2 semaines, mais peut atteindre 4 mois (**Chua, 2003**). Un large éventail de symptômes allant d'un état fébrile à une encéphalite mortelle en passant par des troubles neurologiques a été observé.

Les enquêtes sérologiques menées en Australie, en Malaisie, au Cambodge, en Indonésie, au Bangladesh, en Inde et à Madagascar, ainsi que l'isolement du virus Hendra et du virus Nipah chez les chauves-souris du genre *Pteropus hypomelanus*, permettent de penser que ces animaux pourraient être les principaux réservoirs de ces virus (**Halpin et al., 2000; Chua et al., 2002;**

Wacharapluesadee et al., 2005). Les porcs et les chevaux seraient contaminés au contact des déjections (fientes, urines) des chauves-souris. L'homme par contre contracte l'infection par voie respiratoire au contact direct d'un hôte amplificateur (le porc pour le NiV et les chevaux pour le HeV). De plus, les recherches sur les foyers humains au Bangladesh ont montré que l'homme pouvait également s'infecter par ingestion de jus de fruit contaminé par des excréta (salives et urines) des chauves-souris (**OIE., 2008**). Le virus Nipah est également responsable d'infections nosocomiales (**Tan, 2001**).

Le traitement n'est pas envisagé chez l'animal, on procède tout simplement à l'abattage et à l'incinération. Par contre chez l'homme l'aspirine et la pentoxyphilline ont été utilisées pour prévenir les thromboses vasculaires (**Goh et al., 2000**). La ribavirine, un analogue du nucléoside, a été le traitement de choix lors de l'épidémie de Nipah, en plus du traitement symptomatique de réanimation. Ce traitement a été choisi du fait du large spectre d'activité de la ribavirine aussi bien contre les virus à ADN que contre les virus à ARN.

Ces virus bien qu'ayant émergé en Asie, peuvent potentiellement s'étendre sur le continent africain. D'ailleurs, une étude sérologique récente au Ghana sur des chauves-souris frugivores du genre *Eidolon helvum* a révélé la présence d'anticorps dirigés contre des virus apparentés antigéniquement au genre *Henipavirus* (**Hayman et al., 2008**).

❖ Infection due au Virus Menangle (MenV)

Le virus MenV a émergé en septembre 1997, dans une porcherie industrielle du New South Wales (Australie). Chez l'animal, notamment le porc, ce virus est responsable de trouble de la reproduction. Le virus est très dangereux : 90% des animaux ont effectué une séroconversion. Il induit une baisse des performances reproductrices avec une diminution de la taille des portées, une baisse de la fécondité, des avortements, des modifications du fœtus, des malformations des os longs : brachygnatie, arthrogrypose (**Kirkland et al., 2000; Paton, 2002**).

Chez l'homme, un épisode de syndrome grippal a été décrit avec myalgies, céphalées, frissons, sudations importantes. A ces symptômes s'ajoutent, des manifestations cutanées : un rash cutané qui disparaît au bout d'une semaine. Le danger en terme de mortalité pour l'homme n'est à ce jour pas évalué (**Chant et al., 1998**).

La transmission du virus se fait probablement par contact avec les tissus d'animaux infectés et les avortons via des blessures ou les muqueuses. Une contamination par inhalation semble moins probable (**Black et al., 2001**).

Après avoir pris connaissance des familles virales, des maladies communes à l'homme et aux animaux provoquées par certains virus zoonotiques, le chapitre suivant nous permettra de comprendre la notion de zoonose, son impact en santé publique et le concept de maladie émergente.

CHAPITRE II : LES ZOONOSES ET MALADIES VIRALES EMERGENTES

Les deux concepts, zoonose et maladie émergente, se rapprochent. Ils font intervenir l'homme, l'animal, des agents pathogènes et parfois les vecteurs.

I- CONCEPT DE ZOONOSE

Les zoonoses ont été définies par les experts de l'OMS comme des " maladies et infections qui se transmettent naturellement des animaux vertébrés à l'homme et réciproquement" (OMS., 1954).

Le terme zoonose comprend des maladies transmises directement à l'homme par contact avec des animaux malades, mais aussi indirectement. La transmission directe implique un contact entre les animaux infectés et les personnes sensibles et peut s'effectuer par voie aérienne, par morsure (rage), par la manipulation des tissus des animaux infectés ou avortons. La transmission indirecte quant à elle, implique les piqûres des arthropodes hématophages (suceur de sang), qui s'infectent lors d'un repas sanguin chez un animal virémique. Dans la plupart des cas le virus se réplique dans les tissus de l'arthropode et atteint les glandes salivaires, ce dernier transmet le virus à un nouvel hôte lors de son prochain repas sanguin.

Il existe plusieurs classifications des zoonoses: étiologique (en infections bactériennes, virales, parasitaires ou mycosiques), zoologique (selon l'origine animale), épidémiologique (selon les modalités de transmission à l'homme). On peut également classer les zoonoses en fonction de leur fréquence et de leur gravité chez l'homme, ainsi on distingue :

- ✓ Les zoonoses majeures : plus fréquentes ou plus graves médicalement chez l'homme (rage, fièvre lassa, fièvre de la vallée du Rift, etc.) ;

- ✓ Zoonoses mineures : rares et/ ou bénignes (West-Nile, encéphalite à tique, etc.) ;
- ✓ Zoonoses exceptionnelles : très rarement rencontrées et peuvent être soit bénignes (grippe, stomatite papuleuse bovine etc.), soit médicalement graves (Ebola, maladie de Marburg, Variole du singe, virus Nipah, etc.) ;
- ✓ Zoonoses potentielles ou incertaines: sont des maladies communes dont la transmissibilité est suspectée mais pas prouvée (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère).

Enfin, une classification en fonction de la symptomatologie, avec des expressions cliniques très variées tant chez l'homme que chez l'animal (septicémies, atteintes nerveuses, digestives, respiratoire, cutaneo-muqueuses etc.). Cette classification comprend :

- ✓ Les zoonoses apparentes ou «phanérozoonoses» : zoonoses qui s'expriment cliniquement aussi bien chez l'homme que chez l'animal ; elles sont dites isosymptomatiques lorsque la symptomatologie est identique ou très voisine chez l'homme et chez l'animal (exemple, la rage) et anisosymptomatiques lorsque les manifestations sont différentes (exemple, le rouget) ;
- ✓ Les zoonoses inapparentes ou «cryptozoonoses» sont cliniquement silencieuses chez l'animal responsable d'une maladie humaine.

I.1- IMPACT DES ZOONOSES D'ORIGINE VIRALE

L'impact des différentes zoonoses est très variable selon qu'on le considère en terme de santé humaine ou animale, selon le type de gravité des maladies qu'elles déterminent, selon leur distribution géographique et les modalités de leur transmission (**Bourgeade et al., 1992**).

I.2- IMPACT QUANTITATIF

L'importance des zoonoses tient à leur nombre, leur gravité médicale et souvent leur coïncidence avec des fléaux économiquement redoutés. Par leur nombre très élevé, elles posent un grand défi pour les services vétérinaires et les professionnels de la santé publique. Ainsi, il est essentiel d'étudier les interactions complexes entre les agents pathogènes, les vecteurs et l'environnement pour lutter contre ces infections.

Le nombre des zoonoses virales ne cesse d'augmenter, un nouveau virus est décrit presque chaque année depuis les deux dernières décennies (**Woolhouse, 2005**). L'OMS et le CDC évaluent à plus de 50 environ le nombre de pathogènes nouveaux identifiés chez l'homme depuis 30 ans, et 60% d'entre eux sont des zoonoses (**Feldmann et al., 2002**).

I.3- IMPACT EN SANTE PUBLIQUE

Les zoonoses ont un impact sanitaire, social et économique très inégal et l'importance de chacune doit être appréciée par la fréquence et la gravité de la maladie chez l'homme et son risque épidémique.

De plus, l'importance réelle d'une zoonose n'est pas forcément liée à son caractère émergent ou ré-émergent mais à son impact réel sur la santé publique ou sur la société et ses diverses composantes. Ainsi, des statistiques de l'OMS indiquent que les trois (3) zoonoses les plus mortelles au plan mondial sont des zoonoses classiques non répertoriées comme émergentes, même si dans le détail leur épidémiologie est toujours en évolution. Il s'agit de la rage (40 à 60.000 morts/ an), de la fièvre jaune (30.000 morts/an) et de l'encéphalite japonaise, 18.000 à 20.000 morts/an (**OMS., 2002**). D'autres zoonoses ont un impact non négligeable en santé publique, C'est le cas de :

- ✓ **La Fièvre de Lassa**, endémique dans toute la région de l'Afrique de l'Ouest; du Nigéria à la Guinée. La maladie affecte 150.000 à 300.000

personnes chaque année provoquant 3000 à 5000 décès. Le virus lassa est transmis par un petit rongeur commensal de l'homme, *Mastomys natalensis*, qui excrète le virus dans ses urines et contamine les greniers, les silos et les habitations (**Georges, 2000**).

- ✓ **Le Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS)**, apparaît en 2002 en Chine, à Hongkong et au Vietnam, puis gagne une trentaine de pays dans le monde. La maladie a provoqué, en quelques mois (Novembre 2002 à Juillet 2003), 916 décès parmi les 8422 cas recensés dans le monde (Chastel, 2006).
- ✓ **La Fièvre de la Vallée du Rift (FVR)** a été identifiée au Kenya en 1912 et son virus a également été isolé dans ce pays par Daubney et ses collaborateurs en 1931 (**Daubney et al., 1931**). Le virus de la FVR est actuellement classé dans le genre *Phlebovirus* appartenant à la famille des *Bunyaviridae*. C'est une zoonose qui sévit le bétail et les moutons (avortement et mortalité), mais connaît aussi des poussées épidémiques chez l'homme comme celle de 1977 en Egypte qui fit 600 morts sur 200.000 cas ou encore l'épidémie de 1987 en Mauritanie qui fit 200 morts (Girard, 2000). De nouveaux cas humains ont été signalés au Moyen Orient à partir des années 2000, notamment en Arabie Saoudite avec 87 décès sur 516 cas, soit 17% de mortalité. Quant à l'épidémie du Yémen, on sait maintenant qu'elle aurait touché environ 25.000 personnes provoquant la mort de 140 d'entre elles (**Chastel, 2006**).
- ✓ **La Fièvre hémorragique à virus Ebola** est causée par un agent pathogène appartenant à la famille des *Filoviridae*. Le virus responsable a été identifié pour la première fois en 1976 en République Démocratique du Congo (ex-Zaïre). C'est une maladie commune aux grands singes et à l'homme, qui a été à l'origine de plusieurs épidémies mortelles en Afrique Centrale. Il existe à ce jour 5 espèces de ce virus (Zaïre, Soudan, Côte d'Ivoire, Bundibugyo et Reston) dont les 4 premières sévissent sur le

continent africain. L'espèce zaïre, la plus pathogène pour l'homme, est responsable des 8 épidémies ayant touché le Gabon et la République du Congo depuis 1994. L'infection par l'espèce zaïre se manifeste chez l'homme par une fièvre hémorragique qui entraîne la mort en quelques jours dans 80 % des cas. Depuis 1976, quatorze épidémies d'Ebola, dont 10 dues à l'espèce zaïre, se sont succédées en Afrique provoquant environ 1850 cas dont 1300 décès (**Leroy et al., 2005**).

I.4- IMPACT SUR LA FAUNE SAUVAGE

La faune sauvage constitue un réservoir sans doute très important d'agents pathogènes transmissibles à l'homme. Parmi ces zoonoses figurent des maladies virales capables de provoquer des symptômes graves, voire mortels, chez l'homme et/ou chez l'animal. Ainsi, si chez les grands primates africains, les principales causes du déclin ont toujours été la chasse commerciale pour la viande de brousse et la perte d'habitat causée par la déforestation, depuis 1976, la présence du virus Ebola parmi les primates sauvages constitue une cause supplémentaire pouvant accélérer ce déclin. Durant les dernières épidémies d'Ebola, des carcasses de primates et céphalophes ont été retrouvées à proximité des villages infectés. Ebola a durement touché certains parcs comme le Parc National de Minkébé, situé au nord du Gabon et la densité des populations de gorilles a considérablement diminué dans cette région durant la dernière décennie (**Walsh et al., 2003**).

En République du Congo dans le sanctuaire de Lossi, Ebola a sévèrement atteint les populations de gorilles et de chimpanzés. Une étude comparative des indices de présence de ces animaux en 2000 et en 2003 a montré un taux de réduction des populations de 56% pour les gorilles et de 89% pour les chimpanzés. Cette réduction coïncide avec une épidémie humaine d'Ebola survenue dans la région au début de l'année 2003 (**Leroy et al., 2004**).

Nous pouvons également citer en exemple l'impact des *Morbillivirus* chez les animaux sauvages. C'est le cas du *Morbillivirus* phocid distemper virus (distemper = maladie de Carré) responsable des avortements et mortalités massives des phoques de la mer du Nord et de la mer Baltique en 1988. Au total 17000 à 20000 veaux marins (*phoca vitulina*) ont péri en quelques mois (**Parodi et al., 1958; Moutou et al., 1989**). Les *Morbillivirus* ont également été à l'origine de l'épizootie de la maladie de carré des lions de Serengeti en Tanzanie dans les années 1994. Plus du tiers des lions infectés sont morts, mais aussi plusieurs canidés sauvages : chacal à chabraque (*Canis mesomelas*), hyène tachetée (*Otocyon megalotis*). On retrouva, 85% des lions présentant des anticorps spécifiques dirigés contre un nouveau variant de la maladie de Carré (**Roelke-Parker et al., 1996**).

I.5- IMPACT SUR LES ANIMAUX DE PRODUCTION

Les animaux de rente sont les réservoirs majeurs d'agents pathogènes transmis par voie buccale, par les denrées alimentaires d'origine animale (**Tauxe, 2002**).

La présence d'une zoonose virale, bactérienne ou parasitaire au sein d'un élevage a un impact économique considérable en fonction de l'agent responsable. Les pertes économiques enregistrées sont souvent celles causées par les mortalités et les avortements. Autre perte économique : l'abattage systématique, l'un des éléments de prophylaxie sanitaire lors des épizooties de grippe aviaire par exemple.

Parmi les principales zoonoses virales ayant un impact sur les animaux de rente, on peut citer :

- ✓ **La Fièvre de la Vallée du Rift (FVR)**. Elle affecte les animaux domestiques (ovins, bovins, caprins, dromadaires). En 1997 et 1998, la FVR est réapparue au Kenya, dans le district de Garrissa, à environ 300 km au nord-est de Nairobi. Cette épizootie de 1997 a entraîné des pertes

économiques considérables, certains éleveurs ont perdu jusqu'à 70% de leur cheptel (**Woods et al., 2002**) ;

- ✓ En Amérique du Sud, les chauves-souris hématoiphages ou vampires (*Desmodus rotundus*) transmettent le **virus de la rage** aux bovins lors des repas sanguins. Les pertes économiques sont considérables ; près de 100.000 bovins meurent chaque année, contaminés par le virus rabique transmis par les vampires. Les pays les plus touchés sont : le Brésil, la Colombie et le Mexique. On estimait, en 1987, les pertes à 40 millions de dollars (**Saluzzo et al., 2004**) ;
- ✓ Le virus grippal du poulet **H5N1** a émergé en 1997 à Hongkong. Il y eut ensuite 3 épizooties conduisant à l'abattage d'un million et demi de poulets. Le 23 février 2006 en France, malgré les mesures de confinement 400 des 11000 dindes d'un élevage industriel moururent brutalement. Tous les animaux de cette élevage furent abattus (**Chastel, 2006**). En Afrique huit pays ont été touchés en 2006. Il s'agit par ordre d'apparition du Nigéria, de l'Egypte, du Niger, du Cameroun, du Burkina faso, du Soudan, de la Côte d'Ivoire et du Djibouti. Les pertes économiques de cette maladie dans les élevages africains en 2006 sont estimées à 15000000 de poulets morts (**Feussom, 2008**). D'une manière générale, la mortalité élevée, les abattages sanitaires et l'interdiction d'importation des poulets provenant des pays infectés ont causé des pertes considérables aux éleveurs des pays touchés ;
- ✓ En Malaisie, l'épizootie due au **virus Nipah** a tué 5% des porcs infectés. Cette épizootie entraîna un abattage de plus d'un million de porcs.

II- CONCEPT DE MALADIE EMERGENTE

L'apparition soudaine de virus jusque là inconnus et alors qualifiés de «virus nouveaux», responsables d'épidémies majeures (fièvre de Lassa, fièvre à virus Ebola, SIDA) mais aussi de bactéries nouvelles comme les *legionella* (légionellose) ou les *Borrelia*, (maladie de Lyme), a été dans les années 1990 à

la base de la description du concept « d'infection émergente ». Par définition, ce sont des « infections qui sont apparues récemment dans une population, ou qui ont déjà existé, mais dont l'incidence et la répartition géographique augmente rapidement » (**Morse, 1990, 1993**).

L'OMS a, pour sa part, adopté en 1996, pour les infections émergentes, une définition plus large : « Les maladies transmissibles émergentes et réémergentes sont des infections nouvelles ou réapparues ou devenues résistantes aux médicaments ou dont l'incidence a augmenté au cours des dix dernières années ou risque d'augmenter dans un proche avenir » (**OMS., 1996**).

Toma et Thiery ont émis des critiques sur ce vaste concept et insisté sur la notion d'incidence réelle. Ils ont proposé comme définition d'une maladie émergente : « une maladie dont l'incidence réelle augmente de manière significative dans une population donnée et durant une période donnée par rapport à la situation épidémiologique habituelle de cette maladie » (**Toma, 2003**).

Enfin, Saluzzo a rappelé qu'en 1989, au cours d'une réunion aux Etats-Unis, a été défini le concept de virus émergents qui s'applique aux cas suivants (**Saluzzo et al., 2004**):

- ✓ Une maladie totalement nouvelle associée à un nouveau germe, exemple du Syndrome de l'Immuno-Déficience Acquise (SIDA, 1981) ;
- ✓ Une maladie connue associée à un nouveau germe, exemple du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS, 2003) ;
- ✓ Une maladie qui réapparaît là où elle avait disparu, ou dans un environnement nouveau : exemple de la fièvre jaune ou de la dengue hémorragique en Amérique du Sud ;
- ✓ Une maladie qui apparaît dans une région nouvelle, exemple du Chikungunya à la Réunion ou du West-Nile aux Etats-Unis en 1999;

- ✓ Une maladie qui existait jusqu'alors chez l'animal et qui est passée à l'homme, exemple de la Grippe Aviaire en 1997.

II-1 FACTEURS D'EMERGENCE DES MALADIES D'ORIGINE ANIMALE CHEZ L'HOMME

Les facteurs d'apparition des maladies virales chez l'homme se répartissent, selon leur origine, en facteurs anthropiques (dus à la présence de l'homme) et naturels, les deux étant souvent très étroitement liés. En effet, les modifications écologiques induites par l'homme peuvent largement influencer les paramètres naturels d'émergence de virus.

De nombreux auteurs se sont efforcés de décrire et de classer les facteurs de risque d'émergence (**Morse, 1995; Brown, 1997; Chomel, 1998; Cleaveland et al., 2001; Taylor et al., 2001**). Selon eux, l'augmentation réelle de l'incidence d'une maladie peut trouver son origine dans les facteurs suivants :

- ✓ La rencontre d'un agent infectieux ou parasitaire et d'un nouvel hôte peut être favorisée par des changements environnementaux ou comportementaux (Figure 5). Puis, éventuellement s'ensuit l'adaptation et la propagation de l'agent pathogène au sein des populations nouvellement infectées ;
- ✓ Certaines barrières de nature physique, géographique ou comportementale entre un agent pathogène et un hôte réceptif sont franchies à la faveur des modifications des équilibres écologiques au sein des agro écosystèmes ou des modifications des modes de vie et de production des populations humaines ;
- ✓ L'augmentation phénoménale des transports planétaires; la rapidité des échanges et des personnes à voyager ont considérablement augmenté au cours des dernières décennies. Aucun foyer émergent ne peut donc être considéré comme totalement et durablement isolé du reste du monde.

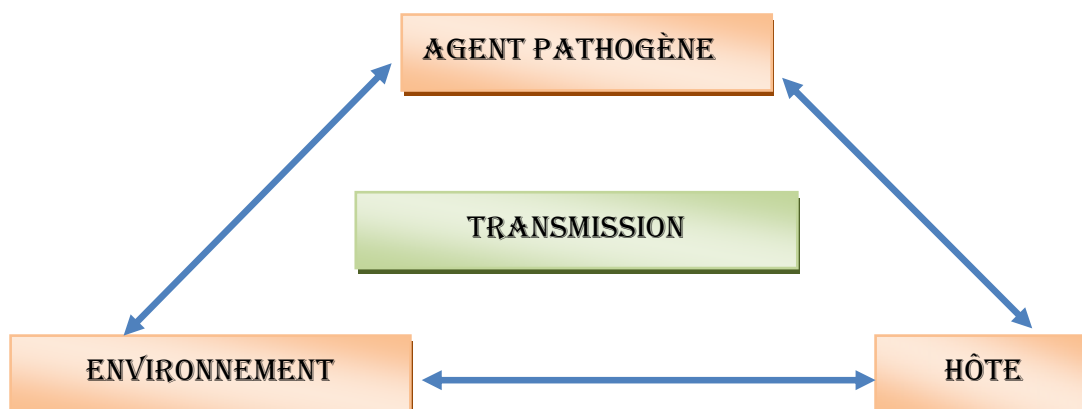


Figure 5 : Conditions d'émergences des maladies

- ✚ La transmission de l'agent pathogène résulte de l'interaction entre ces éléments fondamentaux.

II.1.1- Facteurs de risque d'origine anthropique

Les facteurs de risque d'origine anthropique sont principalement liés aux modifications écologiques et aux pratiques socioculturelles.

II.1.1.1- Facteurs liés aux modifications écologiques

Les maladies émergentes sont pour la plupart des zoonoses et leur apparition est souvent la conséquence d'une intervention humaine rapprochant le réservoir animal et l'homme. En effet, l'agriculture et l'élevage ont modifié de vastes espaces végétaux mettant ainsi les humains en contact avec les parasites d'animaux (les tiques par exemple).

❖ Déforestation, pratiques culturelles et chasse

La déforestation, souvent imputée aux nécessités économiques dans de nombreux pays africains et d'Amérique intertropicale, conduit à amener vers le sol des arthropodes et des petits mammifères qui sont normalement cantonnés à la canopée. Le rôle de l'abattage des arbres a été décrit il y a longtemps pour expliquer le passage du virus amaril (virus de la fièvre jaune) du cycle

selvatique habituel qui exclut l'homme au cycle rural qui le concerne et, à partir de ce dernier, le passage au cycle urbain (**Georges, 2000**).

La pratique des cultures intensives a conduit à la multiplication des populations de rongeurs réservoirs de virus à l'origine des fièvres à arénavirus d'Amérique du Sud (**Cummins, 1991**). Un cas d'école est représenté par le virus Junin (fièvre hémorragique d'Argentine) transmis par *Calomys laucha* et *Calomys musculus* qui affectionnent les champs de maïs et de blé (**Mills et al., 1994**).

La chasse aux animaux sauvages pour la consommation constitue la principale activité économique et un apport en protéines animales des populations rurales des pays tropicaux. C'est également un important moyen de transmission d'agents pathogènes de l'animal à l'homme par contact direct avec des liquides biologiques infectés lors du dépeçage de carcasse ou manipulation de viande de brousse. En effet, on sait que les Chimpanzés et le singe mangabé (*Sooty mangabey*) dont les viandes sont appréciées dans la plupart des pays africains, sont respectivement réservoirs du VIH-1 (virus de l'immunodéficience humaine) et du VIH-2. Des analyses phylogénétiques des divers VIH-1 montrent leur parenté avec le SIVcpz (virus de l'immunodéficience simienne des Chimpanzés), que l'on a retrouvé chez les Chimpanzés (*Pan troglodytes*) en Afrique de l'ouest et suggère que le virus a dû passer au moins trois fois du Chimpanzé à l'homme. De même, le VIH-2 est étroitement apparenté au SIVsm (virus de l'immunodéficience simienne *sooty mangabey*) dont le réservoir est le singe mangabé (**Hahn et al., 2000**). Des enquêtes ont également montré que la plupart des foyers primaires des épidémies d'Ebola au Gabon étaient en rapport avec la chasse. En effet, dans ces différentes épidémies, les cas index, souvent des chasseurs, ont été infectés dans la forêt au contact des animaux malades (**Nkoghe et al., 2005**).

Ces quelques exemples parmi tant d'autres, montrent l'importance de la chasse et la manipulation de la viande de brousse dans la transmission d'agents pathogènes d'animaux sauvages à l'homme.

❖ **Construction des barrages**

Les deux exemples à propos de la Fièvre de la Vallée du Rift (RVR) permettent d'illustrer le rôle des barrages dans l'émergence de maladies vectorielles.

En effet, la conjonction d'abondantes pluies ayant provoqué la pullulation des arthropodes hématophages (moustiques, tiques), et la mise en eau du barrage de Mahka Diama dans la basse vallée du fleuve Sénégal aurait permis au virus de la FVR de sortir de son foyer naturel d'entretien et d'infecter le bétail (**Akakpo et al., 1989; Juan et al., 1990**). Ce phénomène fut également observé en Egypte avec la mise en eau en 1971 du barrage d'Assouan sur le Nil, pour l'épidémie égyptienne de 1977. Le développement de l'irrigation consécutive à la création de ces barrages, a pu amplifier la transmission vectorielle (par les moustiques) chez les animaux domestiques. Puis, l'épidémie humaine a rapidement pris naissance à partir des animaux malades. Ainsi, les activités humaines, comme le montre ces exemples contribuent à l'émergence de maladies.

II.1.1.2 – Augmentation des contacts animaux-hommes

Un certain nombre de facteurs favorisent l'émergence ou la réémergence d'anciennes maladies. Ce sont notamment ceux qui augmentent la densité des réservoirs, des vecteurs de l'homme et les contacts de ce dernier avec des réservoirs et des vecteurs (**Johnson et al., 1999; Raoult, 1999**).

L'exemple de la réémergence sporadique de la fièvre hémorragique à virus Ebola est démonstratif : les personnes à risque sont celles qui pénètrent dans les écosystèmes relativement bien délimités où circule le virus (chasseurs, mineurs, prospecteurs, etc.). La personne contaminée transmet ensuite le virus à son entourage et aux personnels soignants. Les personnels de santé exposés à la

transmission nosocomiale payent d'ailleurs un lourd tribut à la maladie ; et c'est souvent à l'hôpital local que s'amplifie ensuite le foyer épidémique (**Georges et al., 1998**).

II.1.2- FACTEURS NATURELS D'EMERGENCE

II.1.2.1- Les animaux réservoirs

Il existe près de 900 espèces de chauves-souris dont certaines sont impliquées dans la transmission de différents virus et en particulier des *Rhabdovirus*. En Amérique du sud, les chauves-souris vampires (*Desmodus rotundus*) transmettent le virus de la rage aux bovins lors des repas sanguins (**Saluzzo et al., 2004**). Elles hébergent d'autres virus, notamment le virus Duvenhague (associé en Europe à des cas de rage), isolé pour la première fois en Afrique du sud. Les chauves-souris sont également suspectées comme étant réservoirs du virus Hendra identifié en Australie en 1994, du virus Nipah en Malaisie ou encore du virus Ebola, pour ne citer que ceux là (**Leroy et al., 2005**).

La présence des rongeurs du genre, *Mastomys natalensis* aux voisinages des populations humaines est source d'apparition des maladies. C'est le cas en Afrique de l'Ouest où ce rongeur, réservoir du virus lassa est responsable d'une fièvre hémorragique mortelle.

Dans l'ensemble, les animaux réservoirs qu'ils soient domestiques ou sauvages constituent un danger potentiel de transmission d'agents pathogènes à l'homme.

II.1.2.2- Les facteurs climatiques

Les changements climatiques pourraient aggraver la menace de maladies infectieuses de plusieurs façons :

- ✓ Une hausse de température permettrait à certains vecteurs de se reproduire d'avantage ou de se disséminer à des régions jusque là indemnes ;

- ✓ En raison du manque d'eau ou de la désertification, le déplacement vers de nouvelles régions, voire dans de nouveaux pays peut favoriser la propagation d'épidémies ;
- ✓ A l'inverse, un excès d'eau ou d'humidité (pendant et à la suite d'inondation par exemple) peut favoriser le développement et/ou l'essaimage de micro-organismes jusqu'alors peu présents.

Il est également remarqué que les réservoirs des *Hantavirus*, *Arénavirus* et *Flavivirus*, périssent en grand nombre pendant les périodes d'extrême sécheresse pour pulluler lorsque des pluies abondantes leur fournissent à nouveau de la nourriture (grains, insectes, etc.). Ils peuvent aussi disparaître en masse du fait des inondations.

Pour la Fièvre de la Vallée du Rift, le virus se manifeste à intervalle régulier sous forme d'épizooties en Afrique. En 1997-1998 au Kenya l'épidémie avait été précédée des pluies abondantes avec un développement corrélatif considérable de la végétation, facile à observer grâce à la surveillance satellitaire, un outil provisionnel de l'apparition d'épizooties/épidémies de FVR, spécialement bien adapté à la lutte contre cette zoonose, au Kenya (**Linthicum et al., 1999**). En effet, en fin de saison des pluies, les moustiques femelles pondent leurs œufs, puis la sécheresse entraîne la quasi-disparition des adultes ; ce n'est qu'à la saison des pluies suivante que les larves éclosent et donnent une nouvelle génération de moustiques.

De même, chez les oiseaux, on a montré que le réchauffement planétaire a conduit certains d'entre eux à migrer plus précocement (de 8 à 10 jours), puis à pondre plus tôt, tant en Europe qu'aux Etats-Unis. Cela peut avoir un effet sur les cycles enzootiques des arbovirus dans lesquels les oiseaux aquatiques sauvages interviennent (**Chastel, 2002**). Ainsi, les changements climatiques ont des effets sur l'épidémiologie et l'évolution des maladies infectieuses.

II.2- FACTEURS DE DIFFUSION DES MALADIES VIRALES

Le développement phénoménal du commerce et des voyages internationaux, lié à la mondialisation des échanges, a considérablement augmenté la vitesse et la facilité avec laquelle les pathogènes et les vecteurs, peuvent traverser les continents et provoquer des flambées épidémiques dans de nouvelles régions, où ils s'établissent parfois de manière permanente.

II.2.1- Intensification des voyages et commerces internationaux

Une infection présente dans un secteur géographique peut être introduite à un nouvel endroit par le voyage, le commerce ou la guerre. C'est ainsi qu'au 16^{ème} siècle, les bateaux apportant les esclaves d'Afrique occidentale au Nouveau Monde ont aussi apporté la fièvre jaune et son vecteur, *Aedes aegypti*, aux nouveaux territoires (**Morse, 1995**).

Aujourd'hui, les occasions sont devenues beaucoup plus nombreuses, reflétant le volume croissant, la portée et la vitesse des trafics dans le monde de plus en plus mobile. Ainsi, le trafic des animaux sauvages destinés à devenir des animaux d'agrément engendre des graves risques sanitaires. En effet, le voyage transatlantique du virus Monkeypox vers les Etats Unis s'est fait par l'intermédiaire d'une cargaison de 800 rongeurs sauvages importés du Ghana. D'ailleurs, parmi ces animaux, la présence du virus fut confirmée chez un rat de Gambie (*Cricetomys gambianus*) et chez des écureuils arboricoles (*Furnisciurus sp*) (**Larkin, 2003**). Le SRAS est l'exemple type de la diffusion inter-humaine d'une maladie par l'intermédiaire des moyens de transport. La maladie s'est répandue en quelques mois dans plus de trente pays en raison des échanges importants de voyageurs entre différents pays. L'OMS a estimé que tout pays disposant d'un aéroport international, ou limitrophe d'une zone ayant récemment présenté un épisode de transmission locale, court le risque d'une flambée.

Les vecteurs sont également impliqués dans la diffusion d'agent pathogène. C'est le cas, notamment de l'*Aedes albopictus* (un des principaux vecteurs de la Dengue) qui a été introduit aux Etats-Unis dans une cargaison de pneus usagés provenant d'Asie et s'est adapté à son nouveau continent. Les rats, principaux réservoirs des virus appartenant au genre *Hantavirus*, ont répanus ces virus pratiquement dans le monde entier **(LeDuc et al., 1992)**.

II.2.2- Cycles de transmissions des virus

Les virus peuvent se répliquer chez un ou plusieurs hôtes. Leur spectre d'hôtes peut être large comme pour les virus grippaux aviaires (un grand nombre d'espèces différentes d'oiseaux peuvent être infectées) ou encore le virus rabique, ou, au contraire, il peut être étroit comme pour le virus de la rougeole **(Gessain et al., 2006)**. Il existe plusieurs schémas de cycles épidémiologiques pour les virus selon le nombre d'espèces hôtes et/ou la présence d'un vecteur arthropode. Pour les agents infectieux zoonotiques provenant de la faune sauvage, leur passage à l'homme fait intervenir un cycle en deux ou trois phases. Il s'agit d'une phase ou cycle selvatique (réservoirs-arthropodes- vertébrés en milieu forestier), du cycle rural et/ou urbain (arthropode-homme et animaux domestiques). Ces deux cycles diffèrent selon les espèces virales ainsi que leur hôtes respectifs et leur réservoir connus ou non.

Pour les virus Nipah, Hendra et Sars-CoV appartenant respectivement au *Paramyxoviridae* et *Coronaviridae*, le cycle débute en général en zone forestière. Ce cycle selvatique fait intervenir les chauves-souris, réservoirs de ces agents pathogènes. Le mécanisme par lequel ces virus se retrouvent chez les porcs pour le virus Nipah et chez les chevaux pour le virus Hendra est complexe et peut s'expliquer par l'incursion des chauves-souris en milieu rural ou urbain. Au Bangladesh en 2004, l'émergence du virus Nipah est vraisemblablement liée à la déforestation abusive des forêts, entraînant un déplacement des chauves-

souris vers des vergers cultivés à proximité de nombreuses porcheries (OMS, 2008).

Le cycle urbain, commence après le passage et l'amplification du virus chez les animaux domestiques. En l'absence d'une contamination inter-humaine, le cycle rural ou urbain est essentiellement assuré par les animaux infectés en contact avec les éleveurs pour le virus Hendra et les entraîneurs de chevaux pour le virus Nipah.

Dans le cas de la fièvre jaune, les trois phases du cycle selvatique, intermédiaire et rural ou urbain ont été bien étudiées. Ces trois phases de cycle de transmission de la fièvre jaune sont présentées dans la figure 6.

- ✓ **La fièvre jaune selvatique** : la circulation virale se fait entre les hôtes vertébrés sauvages amplificateurs (singes) et les arthropodes hématophages ; l'atteinte de l'homme est accidentelle et il ne participe pas activement à la transmission. L'homme peut être contaminé soit en brousse (*Aedes simpsoni*), ou grâce à l'effet d'intrusion d'*Aedes africanus*, soit au village par des vecteurs qui peuvent le piquer (*Aedes furcifer* ou *Aedes aegypti*).
- ✓ **La fièvre jaune intermédiaire** : l'homme et les singes sont impliqués dans la circulation du virus. Le vecteur principal est en général *Aedes furcifer*, vecteur sauvage pouvant venir piquer dans les villages ; *Aedes aegypti* participe également à la transmission.
- ✓ **La fièvre jaune urbaine** : est caractérisée par le fait que l'homme est le seul hôte vertébré à participer à la circulation du virus. L'*Aedes aegypti* est le principal vecteur en milieu rural. La fièvre jaune urbaine nécessite l'introduction du virus, soit par des malades en incubation, soit par un cycle selvatique temporaire. Elle se manifeste sous forme d'épidémie massive (Lhuiller et al., 1985). La présence du virus dans ce milieu est assurée par les moustiques femelles infectés, le virus se transmet à la

descendance ce qui assure sa pérennisation, les œufs étant capables de résister entre deux saisons humides dans l'environnement.

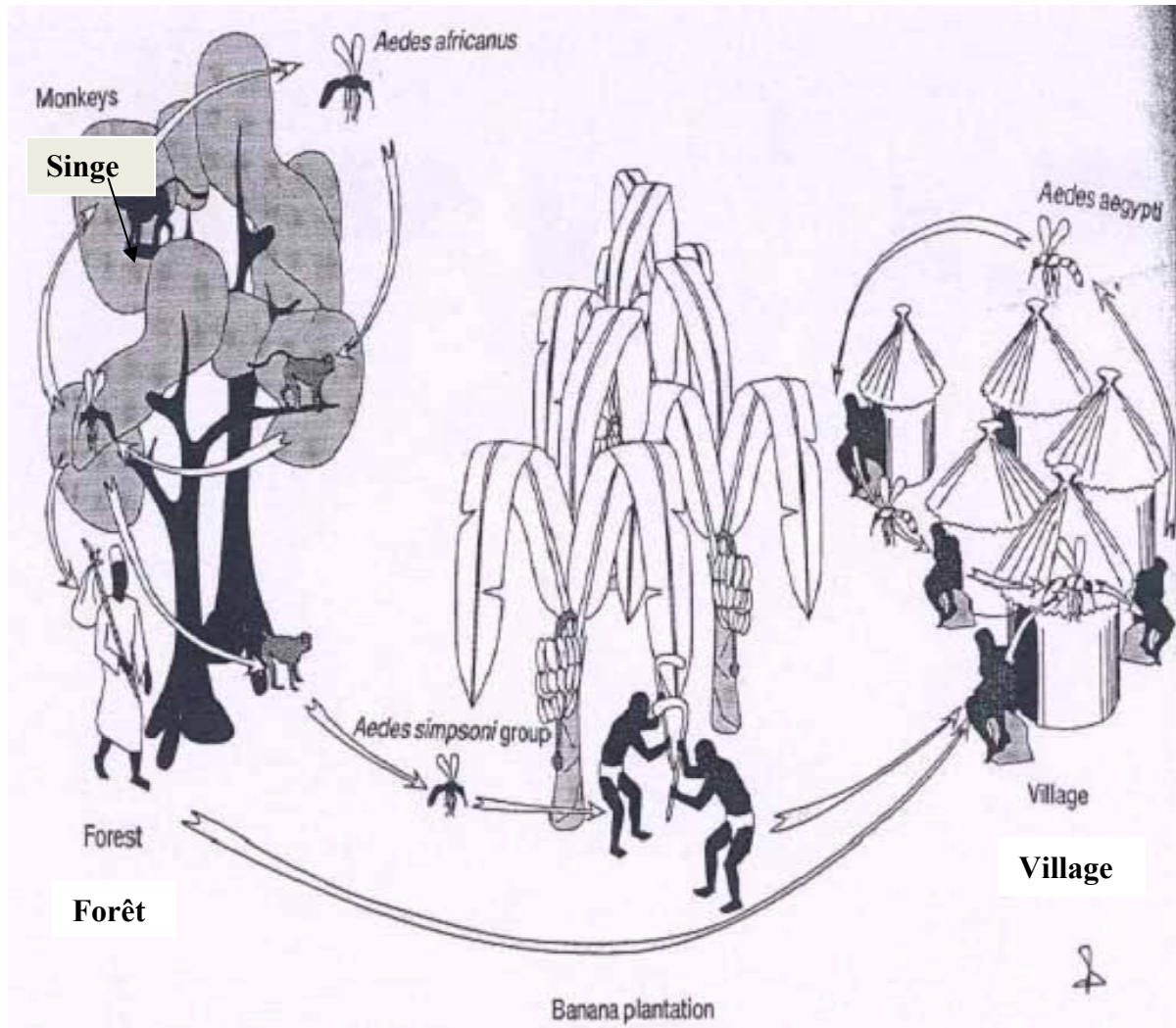


Figure 6 : Cycle de transmission d **Plantation de banane**

II.3- RELATION ENTRE ZOONOSE ET MALADIE

EMERGENTE

De nombreuses études ont montré que la plupart des maladies émergentes sont des zoonoses. En effet, parmi les virus ayant émergés ces dernières années figurent, ceux capables de provoquer des maladies graves, voire mortelles chez l'homme et qui ont en commun d'avoir un réservoir animal appartenant à la faune sauvage. Il s'agit par exemple du MARV émergé en 1967, du virus Lassa 1969, du EBOV en 1976, et plus récemment, du HeV en 1994, du H1N5 en 1997, du NiV en 1998 ou du nouveau coronavirus Sars-CoV émergé en 2003. Pour certains auteurs, 61% des maladies émergentes sont des zoonoses et 75% proviennent de la faune sauvage (**Daszak et al., 2001; Taylor et al., 2001; Vallet, 2009**). Ces chiffres montrent l'interaction entre les zoonoses et la notion de maladie émergente. Toutefois, si la plupart des maladies émergentes sont des zoonoses, à l'inverse, nombreuses sont des zoonoses qui ne sont pas considérées comme émergentes (exemple : la tuberculose, la rage, la fièvre aphteuse etc.).

En conclusion de cette étude bibliographique, nous retiendrons que 61% des maladies virales émergentes sont des zoonoses et 75% proviennent de la faune. Certaines de ces zoonoses ont un impact majeur en santé publique, chez les animaux de rente et dans la faune sauvage. C'est dans ce contexte que la présente étude a été initiée afin de rechercher les virus pouvant être pathogènes à l'homme, dans les organes de gibier abattu pour la consommation humaine. Les protocoles de collecte, les analyses effectuées au CIRMF et les résultats obtenus sont présentés dans la deuxième partie.

DEUXIEME PARTIE :

**RECHERCHE DES VIRUS APPARTENANT AUX FAMILLES DES
CORONAVIRIDAE ET DES *PARAMYXOVIRIDAE*.**

Le but de notre étude expérimentale est de contribuer à faire un inventaire des virus pouvant être pathogènes pour l'homme et hébergés par les animaux sauvages au Gabon.

Cette deuxième partie comprend un chapitre matériel et méthode qui présentera le cadre d'étude et le matériel utilisé pour la réalisation pratique de ce travail aussi bien sur le terrain qu'en laboratoire. Le chapitre résultat portera sur les résultats obtenus sur le terrain et ceux obtenus au laboratoire. Enfin, dans le dernier nous discuterons ces résultats obtenus et ferons une conclusion générale.

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

Ce chapitre fait une présentation sommaire du cadre d'étude. Il présente également le protocole de collecte des échantillons ainsi que les analyses effectuées au laboratoire du CIRMF.

I- MILIEU D'ETUDE

I.1- LE GABON

I.1.1- Situation géographique

Située de part et d'autre de l'équateur, sur la côte ouest de l'Afrique centrale, la République Gabonaise présente une superficie 267 667 km² dont 257 667 km² de terre et 10000 km² d'eau. Elle est frontalière de la Guinée Equatoriale au nord-ouest, du Cameroun au nord et la République du Congo à l'est et au sud. Le pays s'ouvre à l'ouest sur l'océan atlantique sur 885 km de côtes (figure 7).

Le relief, très varié et remarquable est dominé par la grande forêt équatoriale qui couvre les 80% du territoire et est constitué de plaines côtières, de plateaux et de massifs montagneux situés au-dessus de 800 mètres d'altitude. Le mont Iboundji dans le massif du Chaillu est le point culminant avec 1875 mètres d'altitude (**Ongone et al., 2003**). Ainsi, trois grands ensembles de reliefs sont observés au Gabon :

- ✓ Les plateaux de l'Est et du Nord (pénéplaines de Minvoul et de l'Ivindo), et les plateaux Batékés ;
- ✓ Une bande montagneuse centrale (Mont de Cristal, Mont de Ndjolé et le massif du Chaillu) coupée par l'Ogooué, et la chaîne côtière constituée par la retombée septentrionale du Mayombé ;

- ✓ La plaine côtière et ses plateaux résiduels (Grès de Ndombo, Wonga-wongué), les plaines mineures de la Nyanga et de la Ngounié.

I.1.2- L'administration

Au plan administratif, le territoire est divisé en provinces, départements, cantons, regroupement de villages, et villages (**Ongone et al., 2003**).

En 2002 le découpage administratif se présente comme suit :

- ✓ Neuf Provinces (9)
- ✓ Quarante sept Départements (47)
- ✓ Cent Cinquante deux cantons (152)
- ✓ Cinquante communes (50)
- ✓ Vingt six arrondissements (26)
- ✓ Vingt six districts (26)
- ✓ Neuf cent onze regroupements de villages (911)
- ✓ Deux mille trois cents quatre vingt treize villages (2393)

I.1.3- Climat

Le climat est de type équatorial chaud et humide et comporte une saison sèche de juin à août avec des températures assez fraîches et de rares précipitations. Une saison de pluies de septembre à mai avec un maxima pluviométrique principal d'octobre à novembre et de fortes précipitations ; un maxima pluviométrique secondaire de mars à avril avec des températures les plus élevées de l'année et des précipitations d'origine orageuse.

La répartition spatiale des précipitations varie de 1500 mm/an dans les dépressions « sèches » de Tchibanga, Booué et dans l'extrême nord-est du pays. Elle varie de 3300 mm/an sur la côte nord-ouest et les massifs (Port- Gentil, Lambaréné, Mouila, Tchibanga, Mayumba) et de 26°C sur la côte et à l'intérieur du pays.

L'humidité relative moyenne est comprise entre 80 et 85%. Les vents dominants sont du sud ou sud-ouest. L'insolation est également faible en moyenne 1500 h/an (**Ongone et al., 2003**).

I.1.4- Faune

La faune gabonaise est l'une des plus diversifiées et l'une des plus riches d'Afrique avec près de 150 espèces de mammifères (**Cenarest, 1979**). Les quelques espèces qui sont principalement savaniques ont une distribution très limitée.

Le Gabon est un important sanctuaire pour les primates avec 19 espèces différentes. On rencontre plusieurs espèces de singes à queue notamment, *Cercopithecus solatus*, *Cercopithecus cephus*, *C. pogonias*, *C. nictitans*, *Cercocebus torquatus*, *Lophocebus albigena* etc. Un grand nombre de gorilles (*Gorilla gorilla*) et de chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*) sont également rencontrés ; ces populations de primates ont été estimées à 35 000 gorilles et 64 000 chimpanzés (**Tutin, 1983**).

Le Gabon abriterait probablement la plus vaste population d'éléphant (*Loxodonta africana cyclotis*) connue d'Afrique centrale. Une population qui compte plus de 80 000 individus dont plus de la moitié de l'effectif est localisée dans la région de Minkébé, au nord-est du Gabon (**Mc Shane, 1990**). L'hippopotame (*Hippotamus amphibius*) suit à peu près la même distribution mais pénètre plus à l'intérieur, le long des fleuves. Le Lamantin (*Trichechus senegalensis*) est peu commun mais présente une large distribution au sein des lagunes et des fleuves côtiers.

Plusieurs espèces de carnivores sont également rencontrées au Gabon. Il s'agit du Chat doré (*Félis aurata*), des Mangoustes (*Bdeogale nigripes*, *Atilax paludinos*, *Herpestes sanguinea*), de la civette (*Civettictus civetta*), de la genette (*genetta Selvelina* et *tigrina*) et du léopard (*Panthera pardus*).

Une grande variété d'antilope (les genres *Cephalophus*, *Neotragus*, *Hyemoschus*, *Tragelaphus*, *Kobus* etc.), les rongeurs (*Cricetomys*, *Atherurus*, *Thryonomys* etc.), plusieurs espèces d'oiseaux et de reptiles sont également rencontrées dans la forêt gabonaise.

I.1.4- Flore

Le Gabon est situé en pleine zone tropicale, à cheval sur l'équateur, sur la côte atlantique de l'Afrique. Près de 85% de son territoire est recouvert de forêt, ce qui en fait le pays le plus boisé d'Afrique (**Catinot, 1978; FAO, 2003**).

La flore du Gabon n'a pas été complètement décrite et l'on peut affirmer, sans risque de se tromper qu'elle est riche et abondante. En effet, depuis que l'Herbier National du Gabon existe (1983), plus de 15 000 espèces ont été collectées parmi lesquelles une dizaine d'espèces nouvelles et 9 000 ont été décrites dont environ 19% sont considérées comme endémiques. De façon globale, le Gabon est le lieu où se mêlent de multiples variétés d'habitats tels que :

- ✓ les forêts primaires, les forêts secondaires jeunes et vieilles
- ✓ les forêts marécageuses, les forêts littorales, les mangroves
- ✓ les savanes et les forêts naines.

Ces habitats renferment, comme déjà mentionné, une importante biodiversité végétale à l'exemple des Begomas dont 50 des 120 espèces recensées en Afrique sont présentes au Gabon, 16 d'entre elles sont endémiques dans le pays et 18 ont été nouvellement découvertes depuis 1977, date à laquelle les études sur ces espèces ont commencé. De même, environ 6000 espèces de plantes excluant les groupes inférieurs (algues, champignons, lichens et bryophytes) ont été recensées au Gabon (**Catinot, 1978**).



Figure 7 : Situation géographique du Gabon

 Franceville : lieu du stage

I.2- LE CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHES MEDICALES DE FRANCEVILLE (CIRMF).

Le Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF) a été créé en 1974 et inauguré le 05 décembre 1979. Il est situé à Franceville, au Sud-est du Gabon (figure 7). En plus de cette localisation viennent s'ajouter deux stations d'étude de terrain :

- ✓ Une première station (bureaux et logements), implantée dans le Parc National de la Lopé, située au centre du Gabon, qui a été développée pour mener des études sur l'écologie et la génétique des grands mammifères de la forêt équatoriale, en particulier les grands singes.
- ✓ Une seconde station (dispensaire, bureau et logements) est implantée à Dienga, village situé à l'ouest de Franceville dans la province de l'Ogooué Lolo, à la frontière de la République du Congo. Elle a été développée pour mener des études sur la prévalence de maladies virales et parasitaires chez les animaux domestiques (Ovins et Caprins) et leurs implications en santé publique.

L'objectif initial du centre était de cerner les problèmes liés à la fécondité chez les femmes au Gabon avec comme corollaire l'amélioration de la fécondité et de la santé périnatale. Par la suite, les thématiques ont considérablement évolué. Aujourd'hui les objectifs du CIRMF s'articulent autour de trois axes : la recherche médicale, la formation et la santé publique.

Pour mener ses missions, le centre s'est doté de laboratoire de type P3 et P4 avec un équipement de pointe. Le centre dispose de six unités de recherche : l'unité des maladies virales émergentes, l'unité de rétrovirologie, l'unité de parasitologie et d'entomologie, l'unité d'écologie de la santé, l'unité d'analyse médicale et de santé publique, l'unité des hémopathies et d'un centre de primatologie.

L'unité des maladies virales émergentes (UMVE) où mes travaux de stage se sont déroulés, est dirigée par le docteur Eric LEROY, directeur de recherche à l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD). Cette unité est organisée au sein d'un partenariat entre 4 partenaires : le CIRMF, l'IRD, le Ministère des affaires étrangères de la France et le Ministère de la santé du Gabon. Les activités de l'UMVE s'articulent autour de trois axes principaux : la recherche, la santé publique et la formation de cadres scientifiques Gabonais.

L'UMVE entreprend les activités de diagnostic et les recherches sur les fièvres hémorragiques en particulier les fièvres Ebola et Marburg, mais également d'autres arboviroses (Chikungunya, Dengue, West Nile et la fièvre de la vallée du Rift). Les activités de diagnostic et de recherche de l'unité s'appuient sur différentes techniques de laboratoire (sérologie, amplification génétique par PCR, culture cellulaire etc.).

II- MATERIEL ET METHODES SUR LE TERRAIN

II.1- MATERIEL ANIMAL ET SITE DE COLLECTE

Les animaux sauvages (ongulés, primates, carnivores, rongeurs, reptiles et oiseaux) ont constitué notre échantillonnage. Ce sont des animaux tués par les chasseurs soit au fusil ou aux pièges et vendus pour la consommation humaine. La collecte a été effectuée dans deux milieux différents:

- ✓ Le milieu rural, auprès des villageois, qui généralement accrochent leur gibier au bord de la route pour être vendu (figure 9). Le milieu rural constitue le principal lieu d'approvisionnement en viande de brousse. Dans ce milieu, les animaux sauvages représentent la principale source de protéine animale et la chasse constitue une source de revenu importante.
- ✓ Les villes, notamment au niveau des marchés, auprès des commerçantes spécialisées dans la vente des animaux frais (figure 8). Les commerçantes sont abonnées aux chasseurs implantés en zone rural où se pratique l'essentiel de la chasse, les animaux tués en zone forestière sont acheminés en milieu urbain au moyen d'un commerce informel.



Figure 8 : Animaux étalés au débarcadère **Figure 9 :** Animaux accrochés au bord de la route

II.2- COLLECTE D'ECHANTILLONS

II.2.1- Chronologie de la collecte

Les missions de collecte ont été effectuées dans les 9 provinces du Gabon selon le calendrier ci-dessous (Tableau VI). La durée d'une mission était relative à la superficie de la province concernée, en moyenne 2 semaines. Sur le plan administratif, chacune de nos missions était précédée par la signature d'un ordre de mission du Directeur général du CIRMF. L'ordre de mission autorisant les prélèvements d'organes sur les animaux sauvages était présenté aux autorités locales des différentes provinces, notamment le Gouverneur et l'inspecteur des Eaux et Forêts.

Tableau VI : Calendrier des missions de collecte

Provinces	Période de prélèvement
Haut Ogooué	Du 15 au 27/10/2009
Ogooué Ivindo	Du 04 au 19/11/2009
Ogooué Lolo	Du 23/11 au 05/12/2009
Nyanga	Du 09 au 19/01/2010
Ngounié	Du 20 au 28/01/2010
Moyen Ogooué/Estuaire	Du 09 au 18/02/2010
Woleu Ntem	Du 05 au 27/03/2010
Ogooué Maritime	Du 13/06 au 04/07/2010

L'équipe était basée dans la capitale provinciale (principale ville) ou dans les villes secondaires afin de sillonner tous les axes routiers de la province. Chaque matin dès 6h00 au moyen du véhicule de mission, nous étions en route pour la recherche des animaux. Dans les villages, les chasseurs accrochent généralement les animaux au bord de la route pour être vendus. Nous avons opté de faire des passages inopinés dans ces villages pour ne pas inciter la pratique de chasse, donc un seul passage sur un axe routier. Ainsi, seuls les animaux trouvés accrochés au bord de la route ou dans certains marchés ont constitué l'essentiel de notre échantillonnage. Après l'achat d'un animal, on le conservait dans un emballage plastique unique pour éviter les contaminations croisées et on le mettait dans une glacière. Ensuite, les informations concernant l'animal étaient enregistrées dans un fichier Excel (voir annexe). Les opérations d'achat s'arrêtaient aux environs de 14h, puis on commençait immédiatement les autopsies.

II.2.2- Autopsie et prélèvement des organes

Les autopsies ont été effectuées dans la même journée après l'achat des animaux. Après l'ouverture de l'animal, un certain nombre d'organes étaient prélevés et conservés dans les cryotubes (tubes nuncs). Il s'agit du foie, la rate, le cerveau, le tube digestif, les ganglions, le muscle, le poumon, le cœur et les reins. Le liquide séro-hémorragique a également été prélevé à l'aide d'une seringue dans la cavité abdominale. Les organes prélevés ont été aliquotés, à raison de 3 aliquots par organe. Nous avons constitué deux pools d'organes en tenant compte du tropisme des virus à rechercher ; un premier pool (foie et rate) et un second pool (poumon, cœur et rein), les autres organes (ganglions, cerveaux, tube digestif, muscle) ont été prélevés et conservés séparément. Les autopsies ont été réalisées dans les conditions de sécurité optimale permettant d'éviter le contact avec des liquides biologiques. A cet effet, nous disposions d'une table de dissection ambulante, une boîte de chirurgie stérilisée au départ de Franceville et désinfectée après chaque autopsie, des blouses blanches et

gants à usage unique. Les autopsies se pratiquaient soit en salle dans une structure hospitalière (Figure 11) soit en plein air en milieu rural (Figure 10). En milieu rural, le lieu choisi pour autopsier les animaux en plein air était en général situé entre deux villages et assez éloigné des populations.

Après l'autopsie, les carcasses de viande ont été détruites par incinération. Un trou était creusé dans le sol à cet effet et les carcasses étaient brûlées à l'aide du gasoil, puis enfouies.



Figure 10 : Autopsie en plein air



Figure 11 : Autopsie en salle

II.2.4- Stockage et conservation des organes

Les organes après prélèvement ont été placés dans les tubes nunc. Sur le terrain nous avons disposé de deux types de conservation pour les échantillons : une conservation dans le formol à 10% à température ambiante et une conservation des tissus frais dans une bonbonne d'azote liquide (-196°C).

Au laboratoire (CIRMF), les organes conservés dans le formol ont été stockés à température ambiante et les tubes d'organes conservés dans l'azote liquide

étaient classés dans les boîtes en carton et placés ensuite dans un congélateur à -80°C jusqu'à leur utilisation.

III – MATERIEL ET METHODES AU LABORATOIRE

III.1- MATERIEL

Pour le broyage, l'extraction et la RT-PCR, un certain nombre de matériel et de réactifs ont été utilisés. Il s'agit de :

- ✓ La hotte à flux laminaire : appareil offrant un milieu aseptique lors de la découpe des organes en morceau plus fin avant le broyage. La découpe des organes en morceau de 100 mg se fait manuellement à l'aide d'un scalpel. La hotte est également utilisée pour la préparation du mix (un mélange de réactifs constitués pour l'amplification) ;
- ✓ Un automate Geno Grinder 2000, broyeur d'organe ;
- ✓ Un extracteur EZ1, a été utilisé pour l'extraction d'ARN ;
- ✓ Un thermocycleur pour l'amplification du génome viral recherché ;
- ✓ Une cuve à électrophorèse a été utilisée après la PCR pour la migration des produits de PCR sur gel d'agarose.

En plus des appareils cités ci-dessus, un ensemble de réactifs contenu dans le kit RNeasy a été utilisé pour l'extraction d'ARN et la RT-PCR. Il s'agit :

- ✓ Des amorces dégénérées : PC2S2, PC2AS1, PCNAs, PCS (amorces spécifiques aux *Coronavirus*) et PNE, AVU-RUB, RES-MOR-HEN (amorces spécifiques aux différents genres de la famille des *Paramyxoviridae*). Les séquences de ces amorces sont présentées dans le tableau VII de la page 66 ;
- ✓ Sérum Albumine Bovine (BSA), le Chlorure de Magnésium ($MgCl_2$), le Sulfate de Magnésium ($MgSO_4$) et les 4 désoxynucléotides (dNTP : dATP, dTTP, dGTP, dCTP) ont été utilisés pour la préparation du mix (mélange des réactifs) ;

- ✓ Les tampons RW1 et RPE utilisés lors de l'extraction de l'ARN permettent d'enlever les contaminants par simple lavage ;
- ✓ Le tampon RLT et le β -mercapto éthanol permettent la lyse des tissus de l'échantillon avant l'extraction ;
- ✓ Les enzymes SuperScript III RT/Platinum® *Taq* Mix (Qiagen) et Platinum® *Taq* DNA polymérase (Invitrogen) sont respectivement utilisées pour la première et la deuxième série d'amplification de la RT-PCR.



Figure 12 : Thermocycleur



Figure 13 : Extracteur EZ1 Advanced XL

III.2- METHODES

III.2.1- Découpe et broyage des organes sur l'automate

La découpe et le broyage des organes ont été effectués de la manière suivante : On commence à identifier les tubes 24-well polycarbonate vials (WPV), qui sont des tubes avec une microbille, puis on y dépose 500µl de tampon PBS (Phosphate Buffer Salin pH 7,2). Les tubes contenant le PBS sont ensuite placés dans la glace une demi-heure avant. Puis les organes préalablement conservés dans le congélateur à -80°C sont découpés sous la hotte à flux laminaire en morceau de 100 mg à l'aide d'un scalpel jetable (un scalpel par échantillon). Les morceaux d'organes de 100 mg sont ensuite immergés dans 500µl de PBS contenu dans les tubes WPV. Après le mélange organes + PBS, les tubes sont refermés et classés dans les boîtes WPV puis le tout est placé dans le broyeur.

Le broyage proprement dit est effectué grâce à un automate Geno-Grinder 2000 (figure 14). L'automate permet de traiter deux boîtes contenant chacune 24 tubes Well Polycarbonate Vials (WPV). Les organes sont broyés en 2 minutes à 1500 tour/minutes. Le broyat obtenu est ensuite stocké à -80°C jusqu'à son utilisation (extraction de l'ARN).



Figure 14 : Automate Geno Grinder



Boîtes et tubes WPV contenant les microbilles

III.2.2- Extraction de l'ARN

Nous avons extrait l'ARN à l'aide de deux automates : l'automate ABI PRISM 6100 et l'automate EZI Advanced XL selon les protocoles recommandés. Nous avons également effectué une extraction manuelle sur colonne en utilisant le Kit RNeasy®

❖ Protocole d'extraction d'ARN sur colonne : Kit RNeasy®

On commence par décongeler le broyat d'organe conservé à -80°C, puis préparer le tampon de lyse : 1 ml de tampon RLT+ 10µl de β-mercapto-éthanol. Le volume final du tampon dépend du nombre d'échantillon à utiliser pour l'extraction. Ensuite pour chaque échantillon, on pipette 200µl de surnageant issu du broyat que l'on dépose dans les tubes Eppendorfs de 2ml dans lesquels on ajoute 900µl de tampon de lyse. On identifie les tubes avec le nom ou le numéro de l'échantillon, puis on homogénéise au vortex et on laisse reposer pendant 30 minutes (mn) pour l'incubation.

Après l'incubation, on pipette 700µl du mélange (200µl de broyat+900µl de tampon de lyse) et on le transfère dans une mini colonne Qlashedder (colonne de pré filtration) et on centrifuge à 13000 rotations par minute (rpm) pendant 3 mn. Cette opération est répétée jusqu'à ce que tout le mélange soit filtré. Le filtrat est recueilli dans des tubes collecteurs de 2 ml, puis transféré dans un tube falcon de 15 ml dans lequel on y rajoute de l'éthanol à 70%, soit un volume d'éthanol équivalent au volume du filtrat. Ensuite on pipette 700µl du mélange filtrat et éthanol qu'on transfère dans une mini colonne de purification (RNeasy mini spin column), puis centrifugé à 13000 rpm pendant 1 min. L'opération est répétée jusqu'à vider le contenu du tube falcon. Enfin on procède à trois lavages successifs de la colonne à l'aide des tampons suivi de l'assèchement de la membrane.

- ✓ Lavage 1 : 700µl de tampon RW1 (solution de lavage contenant l'éthanol) suivi d'une centrifugation à 12000 rpm pendant 1 mn ;
- ✓ Lavage 2 : 500µl de tampon RPE (solution de lavage) suivi d'une centrifugation à 12000 rpm pendant 1 mn ;
- ✓ Lavage 3 : 500µl de tampon RPE suivi d'une centrifugation à 12000 rpm pendant 2 mn.

L'étape finale consiste à éluer l'ARN dans un tube Eppendorf de 1.5 ml en utilisant la RNase free water (eau pure) dans un volume de 80µl. On procède également à une centrifugation à 13000 rpm pendant 1mn après l'élution. L'ARN ainsi obtenu est conservé à - 80°C.

III.2.3- Amplification d'un fragment du gène RdRp (*Coronaviridae*) et du gène L (*Paramyxoviridae*) par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR).

Lors de la RT-PCR *Pan Coronaviridae* et *Pan Paramyxoviridae*, nous avons respectivement tenté d'amplifier un fragment du gène RdRp et L. Cette technique se réalise en deux étapes : une première phase de transcription inverse ou Reverse Transcription (RT) couplée à la réaction de polymérisation en chaîne en une seule étape (RT-PCR one step), suivie d'une deuxième série d'amplification (PCR nichée). Pour pouvoir amplifier le génome viral des virus recherchés, des amorces dégénérées ont été utilisées (Tableau VII).

Tableau VII : Amorces utilisées pour l'amplification du fragment du gène L et RdRp

Genre viral	Gène cible	Nom des amorces	Séquence amorce (5'-3')
<i>Respirovirus</i> <i>Morbillivirus</i> <i>Henipavirus</i>	L (496 pb)	RES-MOR-HEN-F1 *RES-MOR-HEN-R *RES-MOR-HEN-F2	TCITTCTTTAGAACITTYGGNCAYCC CTCATTTTGTGTAIGTCATYTTNGCRAA GCCATATTTTGTGGAATAATHATHAAYGG
<i>Avulavirus</i> <i>Rubulavirus</i>	L (250 pb)	AVU-RUB-F1 *AVU-RUB-R *AVU-RUB-F2	GGTTATCCTCATTITTYGARTGGATHCA GCAATTGCTTGATTITCICCYTGNAC ACACTCTATGTIGGIGAICCNNTTYAAYCC
<i>Pneumovirus</i>	L (300 pb)	PNE-F1 *PNE-R *PNE-F2	GTGTAGGTAGIATGTTYGCNATGCARCC GTCCCACAAITTTTGRACCANCCYTC ACTGATCTIAGYAARTTYAAYCARGC
		PC2S2	TTATGGGTTGGGATTATC TGATGGGATGGGACTATC
<i>Coronavirus</i>	RdRp (500 pb)	PC2As1	TCATCAGAAAGAATCATCA TCGTCGGACAAGATCATCA
		*PCS	CTTATGGGTTGGGATTATCCTAAGTGTGA CTTATGGGTTGGGATTATCCCAAATGTGA
		*PCNAs	CACACAACACCTTCATCAGATAGAATCATCA

* Amorces de PCR nichée

III.2.3.1- RT-PCR One step (Pan *Coronavirus*)

La transcription inverse consiste à synthétiser l'ADN complémentaire (ADNc) à partir de l'ARN extrait du poumon ou du tube digestif. Cette étape est couplée à la PCR (RT-PCR, One step) et se réalise comme suit : on prépare une solution mix d'un volume final de 25 µl, contenant 5µl d'ARN, 9.25µl d'eau, 5µl de tampon (One step buffer), 1µl des 4 désoxynucléotides (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 1µl de Sérum Albumine Bovin (BSA), 0.4µl de MgSO₄ (10µM), 1 µl d'enzyme SuperScript III RT/Platinum® *Taq* Mix (Qiagen) et deux amorces à

10 μ M (PC2S2=0,5 μ l et PC2AS1=2,25 μ l) spécifiques à un fragment du gène RdRp (500pb) de *Coronavirus*.

La transcription inverse et la première série d'amplification se déroulent dans un thermocycleur comme suit : d'abord une étape de transcription inverse à 50°C pendant 30 mn, une dénaturation initiale à 95°C pendant 20 secondes, Un cycle de 3 réactions répétées 10 fois suivi d'un second cycle de 3 réactions répétées 40 fois, puis une élongation finale à 72°C pendant 5 mn. Chacun des 10 cycles est constitué d'une dénaturation à 94°C pendant 15 secondes, d'une hybridation à 60°C pendant 30 secondes et d'une élongation à 72°C pendant 40 secondes et chacun des 40 cycles est constitué d'une dénaturation à 95°C pendant 20 secondes, d'une hybridation à 54°C pendant 30 secondes et d'une élongation à 72°C pendant 40 secondes.

III.2.3.2- PCR nichée (Pan *Coronavirus*)

Une PCR nichée est une réaction d'amplification au cours de laquelle le produit de PCR, issu de la RT-PCR One step est de nouveau amplifié à l'aide d'un nouveau couple d'amorce sens et anti-sens (PCS et PCNAS) différent des amorces de la première série d'amplification PC2S2 et PC2AS1).

La réaction de PCR nichée permet d'augmenter la sensibilité de détection de la PCR. Elle se réalise dans un volume final de 50 μ l comprenant 37,3 μ l d'eau, 5 μ l de la solution tampon (10x PCR buffer), 1 μ l des 4 désoxynucléotides (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 3 μ l de la solution des amorces sens et anti-sens (PCS=1.5 μ l et PNAS=1.5 μ l), 2.5 μ l de Mgcl₂, 0.2 μ l d'enzyme Platinum® Taq DNA polymérase (Invitrogen), et 1 μ l de produits de PCR (différent d'ADNc).

L'amplification se déroule dans un thermocycleur en 3 étapes successives : une dénaturation initiale à 94°C pendant 3 mn, un cycle de 3 réactions répétées 45 fois, puis une élongation finale à 72°C pendant 7 mn. Chacun des 45 cycles est constitué d'une dénaturation à 94°C pendant 15 secondes, d'une hybridation des

amorces à 60°C pendant 30 secondes et d'une élongation à 72°C pendant 40 secondes.

La RT-PCR et la PCR semi nichée Pan *Paramyxoviridae* est pratiquée dans les mêmes conditions expérimentales. Nous avons utilisé les amorces PNE (pour détecter les *Paramyxoviridae* du genre *Pneumovirus*), les amorces AVU-RUB (pour détecter les *Paramyxoviridae* du genre *Avulavirus* et *Rubulavirus*) et les amorces RES-MOR-HEN (pour détecter les *Paramyxoviridae* du genre *Respirovirus*, *Morbillivirus* et *Henipavirus*). Pour ce test, l'ARN a été obtenu à partir du foie et de la rate (protocole détaillé voir annexe).

III.2.4- Electrophorèse des fragments amplifiés

Afin de visualiser les produits de PCR, on effectue une électrophorèse selon le protocole suivant :

- ✓ Préparation d'un gel d'agarose à 2% (6 g pour 300 ml de tampon) en tampon TBE (Tris Borate EDTA, de Sigma France). Le gel est placé dans une cuve à électrophorèse remplie de tampon TBE.
- ✓ Dépôt dans chaque puit du gel de 10 µl de produit de PCR mélangés à 4µl d'une solution contenant du bleu de bromophénol (Sigma).
- ✓ Migration électrophorétique des produits de la PCR sous l'action d'un champ électrique de 180 volts, puis visualisation des fragments sous rayons ultra violet.



Figure 15 : Cuve à électrophorèse

CHAPITRE II : RESULTATS

Deux types de résultats seront présentés dans ce chapitre. Il s'agit des résultats de collecte obtenus sur le terrain (présentant le nombre d'animaux ainsi que les différentes espèces animales prélevées) et ceux obtenus au laboratoire à partir de la technique de biologie moléculaire (RT-PCR).

I- RESULTATS SUR LE TERRAIN

Au total, 454 animaux sauvages ont été collectés et prélevés. Ces animaux représentent 39 espèces réparties en 32 genres. Les animaux prélevés proviennent des 9 provinces du Gabon plus précisément sur 190 villages situés en bordure des principaux axes routiers (figure 16). Sur la carte, les points en rouge situés en bordure des axes routiers représentent les villages où les animaux ont été prélevés.



Figure 16 : Emplacement géographique des sites d’investigation (Village en bordure des routes).

I.1- LE NOMBRE D’ANIMAUX PRELEVES PAR PROVINCE

Les effectifs varient d’une province à une autre. Ce constat reflète les habitudes alimentaires des populations résidentes dans ces provinces mais aussi, la présence ou non des parcs naturels. La figure 17 présente la répartition des collectes dans les 9 provinces. Il ressort de cet histogramme qu’il est plus facile de trouver les animaux sur les marchés et villages dans la province du Woleu Ntem (92 animaux prélevés). Dans la province de l’Estuaire qui abrite la capitale (Libreville), les contrôles et les circuits de distribution très organisés

entre les acteurs de la filière font que la viande de brousse soit rare sur les routes dans cette province.

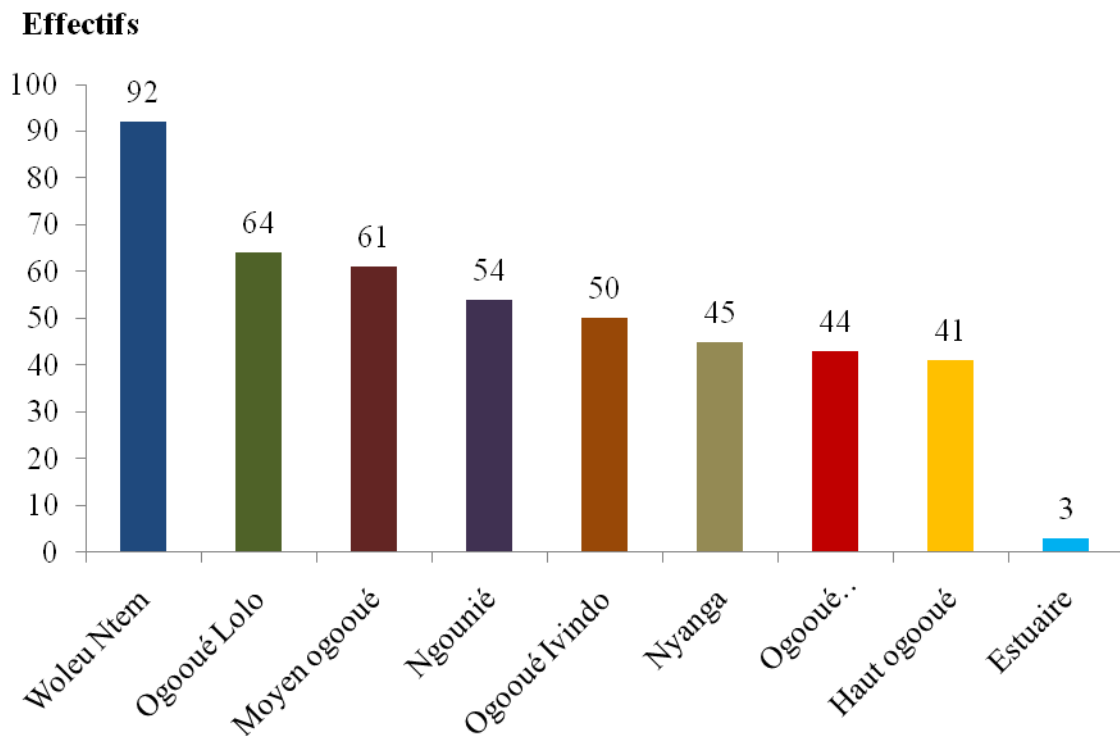


Figure 17 : Nombre d'animaux prélevés par province

I.2- LE NOMBRE D'ANIMAUX PRELEVES PAR ESPECE

Les animaux prélevés ont été classés en 6 groupes taxonomiques (Ongulés, Rongeurs, Primates, Carnivores, Reptiles et Oiseaux). Ainsi, la figure 18 permet de voir les groupes d'animaux les plus chassés et consommés. D'après ces résultats, les Ongulés représentés en majorité par les céphalophes sont de loin le groupe d'animaux le plus abondant sur le marché de la viande de brousse. Les rongeurs (*Atherurus africanus*) et les primates (les singes à queue) occupent respectivement la 2^{ème} et la 3^{ème} place dans les marchés. Les carnivores, les

reptiles et les oiseaux sont moins nombreux sur les marchés de viande de brousse.

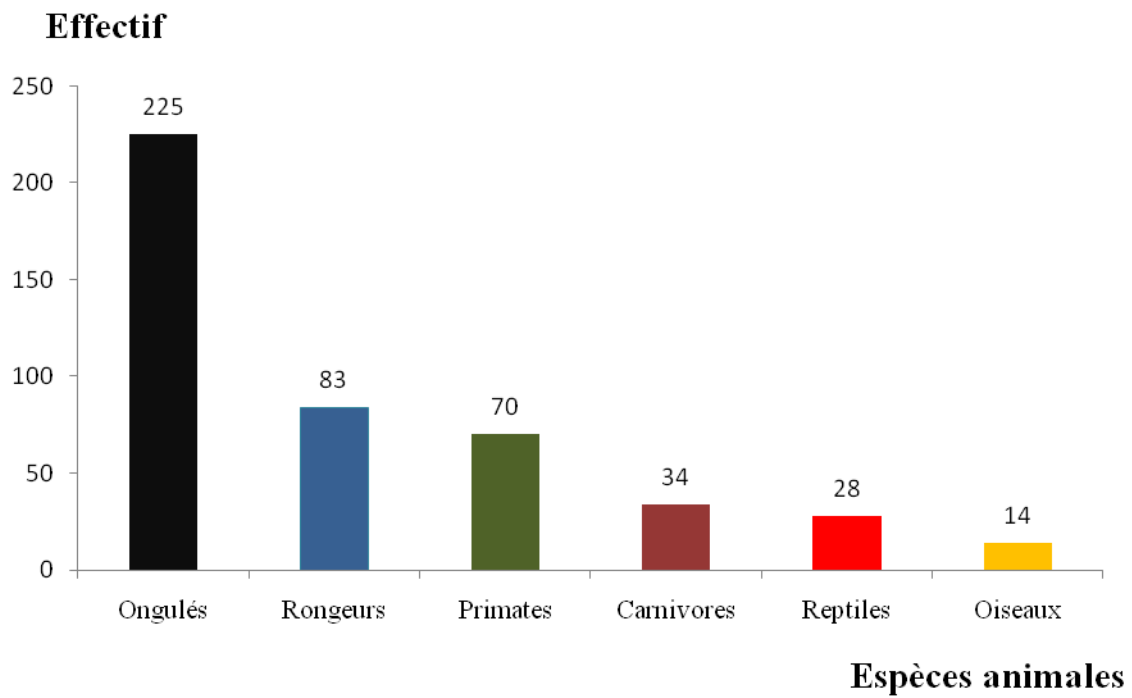


Figure 18 : histogramme des effectifs par espèce animale prélevée.

I.3- SYNTHESE DES RESULTATS OBTENUS SUR LE TERRAIN

Les résultats de terrain sont résumés dans le tableau VIII. Il s'agit des noms scientifiques et noms communs des différents animaux prélevés, mais également le nombre prélevés par province pour chaque espèce animale.

Tableau VIII a : Nombre d'espèces d'ongulés prélevées et provinces correspondantes

Ordre/Classe et espèce	Nom commun	Province et nombre d'animaux prélevés par espèce									Total
		HO	OI	OL	NY	NG	MO	EST	WN	OM	
ONGULES											
Artiodactyles											
<i>Cephalophus monticola</i>	Gazelle	10	11	14	12	15	15	1	18	11	107
<i>Cephalophus dorsalis</i>	Antilope	3	6	8	6	2	1	0	10	0	36
<i>Cephalophus callipygus</i>	Antilope	2	1	6	1	1	0	0	2	4	17
<i>Cephalophus negrifrons</i>	Antilope	1	0	0	0	0	0	0	3	0	4
<i>Cephalophus ogilbyi cr</i>	Antilope	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>Cephalophus sylvicultor</i>	Antilope	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Neotragus batesi</i>	Antilope	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Tragelaphus spekei</i>	Sitatunga	0	1	0	1	1	2	0	1	1	7
<i>Potamoecorus porcus</i>	Sanglier	3	2	1	1	0	1	0	1	1	10
<i>Hyemoschus aquaticus</i>	Chevrotain	1	0	3	1	1	2	0	1	0	9
<i>Syncerus caffer nanus</i>	Buffle	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2
Pholidotes											
<i>Phataginus tricuspis</i>	Pangolin	1	2	3	1	4	4	0	12	1	28
Hyracoïdes											
<i>Dendrohyrax arboreus</i>	Daman d'arbre	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1

T= 225

Tableau VIII b : Nombre d'espèces de primates prélevées et provinces correspondantes

Ordre et espèce	Nom commun	Province et nombre d'animaux prélevés par espèce									
		HO	OI	OL	NY	NG	MO	EST	WN	OM	Total
PRIMATES											
<i>Cercopithecus cephus</i>	Singe	2	1	6	5	2	10	0	6	3	32
<i>Cercopithecus nictitans</i>	Singe	0	2	0	2	4	2	0	3	4	17
<i>Cercopithecus pogonias</i>	Singe	0	0	0	0	0	0	0	1	6	7
<i>Lophocebus albigena</i>	Singe	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3
<i>Mandrillus sphinx</i>	Singe	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3
<i>Cercocebus torquatus</i>	Singe	0	0	0	0	0	1	0	0	2	3
<i>Cercopithecus neglectus</i>	Singe	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
<i>Perodicticus potto</i>	Potto	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2
<i>Arctocebus calabarensis</i>	Potto	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
										T= 70	

Tableau VIII c : Nombre d'espèces d'oiseaux prélevées et provinces correspondantes

Classe/Ordre et espèce	Nom commun	Province et nombre d'animaux prélevés par espèce									
		HO	OI	OL	NY	NG	MO	EST	WN	OM	Total
OISEAUX											
<i>Agelastes niger</i>	Pintade	0	2	0	0	1	0	0	0	0	3
<i>Ceratogymna atrata</i>	Calao	0	4	0	0	2	0	0	3	0	9
<i>Columba uncinata</i>	Pigeon gris	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
										T= 14	

Tableau VIII d : Nombre d'espèces de rongeurs prélevées et provinces correspondantes

Ordre et espèce	Nom commun	Province et nombre d'animaux prélevés par espèce									Total
		HO	OI	OL	NY	NG	MO	EST	WN	OM	
RONGEURS											
<i>Atherurus africanus</i>	Porc-épic	6	7	14	9	12	9	1	7	3	68
<i>Cricetomys gambianus</i>	Rat de Gambie	0	1	0	1	0	0	0	1	0	3
<i>Thryonomy swinderianus</i>	Aulacode	0	0	0	2	1	1	0	2	0	6
<i>Paraxerus poensis</i>	Ecureuil	2	0	0	0	0	4	0	0	0	6
										T= 83	

Tableau VIII e : Nombre d'espèces de carnivores prélevées et provinces correspondantes

Ordre et espèce	Nom commun	Province et nombre d'animaux prélevés par espèce									Total
		HO	OI	OL	NY	NG	MO	EST	WN	OM	
CARNIVORE											
<i>Bdeogale nigripes</i>	Mangouste	0	2	0	0	2	0	0	1	0	5
<i>Civetticus civetta</i>	Civette	0	0	0	0	1	0	0	2	0	3
<i>Genetta servalina</i>	Genette	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Nandinia binotata</i>	Chat huant	4	3	5	3	1	5	0	2	1	24
										T= 34	

Tableau VIII f : Nombre d'espèces de reptiles prélevées et provinces correspondantes

Classe/Ordre et espèce	Nom commun	Province et nombre d'animaux prélevés par espèce									Total
		HO	OI	OL	NY	NG	MO	EST	WN	OM	
REPTILES											
<i>Osteolemus tetraspis</i>	Crocodile	0	1	0	0	1	1	0	0	3	6
<i>Crocodylus niloticus</i>	Caïman	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Varan niloticus</i>	Varan	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
<i>Python sabaë</i>	Serpent	1	1	2	0	0	1	0	0	0	5
<i>Xinixys erosa</i>	Tortue	3	2	1	0	2	0	0	4	2	14
										T= 28	

II- RESULTATS DES ANALYSES

La RT-PCR Pan *Paramyxovirus* a révélé après électrophorèse des fragments amplifiés, des bandes dont la taille sur le gel correspondait au poids moléculaire attendu (300 paires de base pour les *Pneumovirus* et 250 paires de bases pour *Avulavirus* et *Rubulavirus*). Au total, 4 bandes suspectes pour les *Pneumovirus* et 2 bandes suspectes pour *Avulavirus* et *Rubulavirus*. Les échantillons correspondant à ces bandes suspectes ont été envoyés pour séquençage en Allemagne (Sequence Laboratories, 37023 Göttingen).

Les séquences nucléotidiques obtenues ont été alignées à l'aide du logiciel Chromas Pro. Ensuite, nous avons comparés ces séquences à partir de la GenBank sur le site internet de la National Center for Biotechnology Informatique (NCBI) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Le résultat de cette comparaison a montré que les séquences obtenues étaient celles du génome des animaux prélevés et non du génome viral.

Pour la RT-PCR Pan *Coronavirus*, une amplification non spécifique a été observée après électrophorèse des produits de PCR. La taille des bandes visualisées sur gel d'agarose en comparaison avec le poids moléculaire était inférieure à celle du gène cible (RdRp) qui est de 500 paires de base.

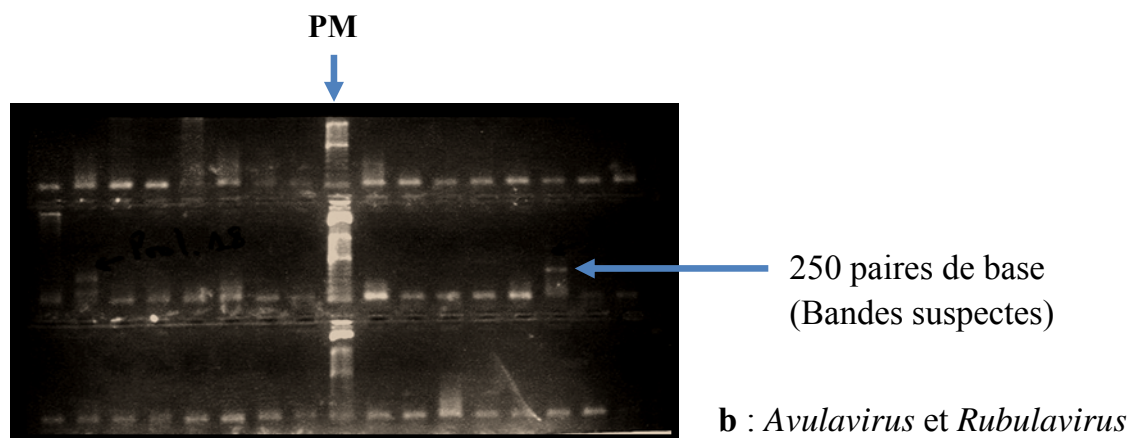
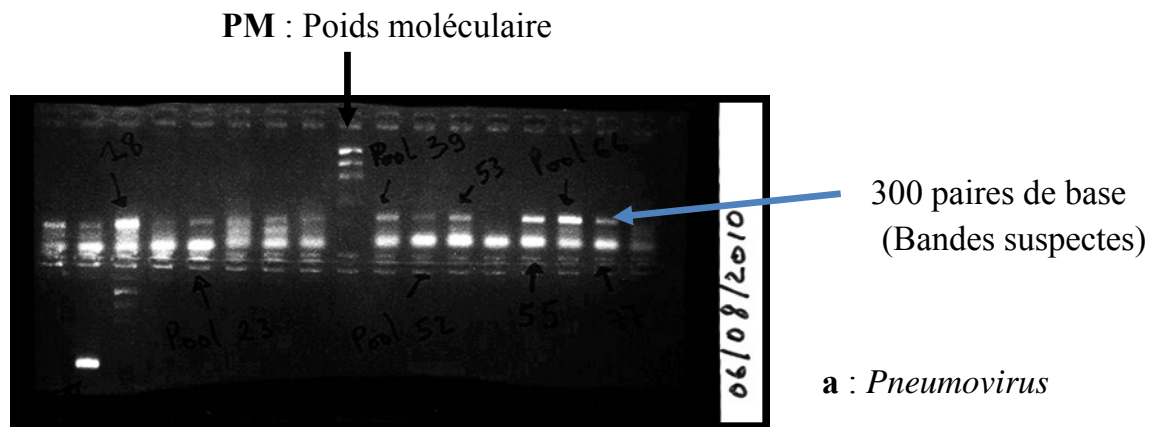


Figure 19 : Visualisation des produits de PCR sous les rayons ultra-violets après migration électrophorétique sur gel d'agarose.

CHAPITRE III : DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS

I- DISCUSSION

La présence de zoonoses virales provenant d'animaux sauvages dont les réservoirs d'agents pathogènes demeurent inconnus est un problème majeur pour la santé publique. Dans les pays tropicaux, à l'instar de ceux du bassin du Congo, les populations humaines entretiennent des contacts étroits avec les animaux sauvages à travers la chasse. L'état sanitaire de ces animaux sauvages souvent inconnu, peut contribuer à l'infection humaine. L'exemple des épidémies dues au virus Ebola après la consommation des grands singes infectés dans une région du Gabon est démonstratif (**Nkoghe et al., 2005**). Par ailleurs, plusieurs études ont démontré le rôle de la chasse ou la domestication des animaux sauvages dans la transmission d'agents pathogènes à l'homme (**Larkin, 2003**). Pour se pencher sur cette problématique, nous avons ciblé deux familles virales, les *Paramyxoviridae* et les *Coronaviridae* dont un certain nombre de virus ont un impact majeur en santé publique (tableau IV page 19 et tableau V page 24) et qui n'ont jamais fait l'objet de recherche sur les animaux sauvages au Gabon.

En effet, l'émergence en 2003 d'un nouveau *Coronavirus* jusque là inconnu appelé Sars-CoV responsable du syndrome respiratoire aigu sévère et le nouveau genre *Henipavirus* regroupant le virus Hendra et le virus Nipah, a permis d'accentuer la recherche chez les animaux sauvages. Dans le but de connaître les réservoirs de ces virus, des études ont été menées à partir des prélèvements d'animaux sauvages en Asie. Lors de ces recherches des souches de *Coronavirus* ont été isolées des civettes de l'Himalaya (*Paguna lavarta*) et chez les chauves-souris (**Guan et al., 2003; Li et al., 2005**). Les virus Hendra et

Nipah ont été isolés respectivement des tissus et urines des chauves-souris frugivores du genre *Pteropus hypomelanus*. D'autres recherches ont permis d'isoler les *Morbillivirus* chez les phoques du lac Baïkal (**Mamaev et al., 1995; Halpin et al., 2000; Chua et al., 2002**).

Il convient de remarquer les différences entre les recherches menées en Asie et notre étude. En effet, nous avons ciblé deux familles virales (*Coronaviridae* et *Paramyxoviridae*) regroupant en leur sein plusieurs virus et les prélèvements ont été effectués chez une trentaine d'espèces animales. Par contre, les études menées en Asie ont porté sur les virus ciblés, notamment le virus Nipah, Hendra ou encore le virus Menangle et très peu d'espèces animales étaient concernés par ces recherches (les chauves-souris et les civettes).

I.1- Lieu et période d'étude

Pour la réalisation de cette étude, notre travail a consisté dans un premier temps à effectuer des prélèvements d'organes sur les animaux sauvages sur l'ensemble du territoire gabonais. Le choix de couvrir les 9 provinces du Gabon a répondu à l'objectif d'investiguer tous les biotopes du pays. En effet, la diversité des écosystèmes (zone marécageuse, forêt primaire, zone de savane etc.) constitue une richesse en biodiversité animale, végétale et microbiologique d'une zone à l'autre.

Nous avons mené en 6 mois, 8 missions de terrain entre les mois d'octobre 2009 et mars 2010, ensuite une dernière mission de collecte entre juin et juillet 2010. La plus grande partie des collectes a été effectuée pendant la période de fermeture de la chasse. En effet, la chasse est fermée au Gabon du mois d'août à mars afin de permettre la reproduction des animaux, ce qui a eu comme conséquence moins de chasse et donc moins d'animaux vendus sur les marchés pendant la période de collecte. Seule la petite chasse de subsistance (dite chasse de proximité) en milieu rural est autorisée pendant la période d'interdiction de chasse. Nous avons dû d'ailleurs obtenir des autorisations spéciales à des fins

scientifiques auprès des inspecteurs des Eaux et Forêts pour pouvoir effectuer les prélèvements sur les animaux sauvages en dehors des périodes d'ouverture de la chasse. Le faible échantillonnage lié à la période de collecte a certainement constitué un biais dans les résultats attendus au regard des effectifs prélevés dans certains groupes d'animaux (exemple 14 oiseaux, 28 reptiles etc.). Ces effectifs paraissent insuffisants en comparaison avec des études similaires menées en Asie pour la recherche des *Coronavirus* où plus de 10000 civettes ont été sacrifiées, 408 chiroptères capturés (**Chastel, 2006**). Il convient donc d'une part, de programmer une telle étude pendant la période d'ouverture de la chasse, ce qui permettra d'avoir un plus grand échantillonnage. D'autre part, la période d'interdiction de chasser étant plus longue (août à mars), il est nécessaire pour la réussite des collectes pendant cette période d'associer les autorités telles que les Eaux et Forêts et les organismes chargés de la protection de la faune.

I.2- Choix des espèces animales et conservation des échantillons

La plus grande difficulté de contrôle des maladies émergentes d'origine animale est le fait de la méconnaissance des réservoirs naturels d'agents pathogènes en cause. C'est dans ce contexte que cette étude a ciblé toutes les espèces animales chassées et consommées au Gabon. De plus, ce travail entre dans le cadre d'un projet visant à rechercher les virus appartenant à plusieurs familles. C'est ainsi que plusieurs organes ont été prélevés (foie, rate, tube digestif, poumon, cerveau, cœur, reins, nœuds lymphatiques, muscle) en tenant compte du tropisme cellulaire varié des différents agents pathogènes.

Pour la conservation des échantillons, deux aliquots ont été conservés à des températures normales (-196°C sur le terrain dans l'azote liquide et -80°C dans le congélateur au laboratoire) et le 3^{ème} aliquot a été conservé dans le formol à 10% pour une éventuelle confirmation des résultats positifs par histochimie. Par contre, nous pensons que la succession des phases congélation et décongélation a pu altérer les virus recherchés. En effet, une première congélation a été faite

dans l'azote liquide sur le terrain suivi d'une décongélation pour le tri des échantillons avant la congélation à -80°C dans le congélateur. Ces organes ont été décongelés à nouveau lors du broyage et au moment de l'extraction d'ARN à partir du broyat. L'ARN extrait a également été conservé à -80°C avant d'être utilisé pour la RT-PCR. L'ARN est très fragile, il convient donc de le doser au spectrophotomètre avant son utilisation pour s'assurer de sa qualité, ce qui n'a malheureusement pas été fait. En dosant l'ARN, les valeurs normales attendues peuvent varier de 200µg/ml à 600µg/ml, ainsi sans ce dosage il est difficile de connaître la qualité d'ARN utilisé.

I.3- Résultats des analyses

Afin de mettre en évidence les fragments du matériel génétique chez les animaux prélevés, nous avons extrait l'ARN des organes comme le foie et la rate pour la recherche des *Paramyxoviridae*, le poumon et le tube digestif pour la recherche des *Coronaviridae*. Ces organes ont été choisis en raison du tropisme cellulaire des virus appartenant à ces deux familles. La technique de biologie moléculaire RT-PCR reconnue pour sa grande sensibilité à détecter les fragments du génome viral dans les tissus a été utilisée à cet effet.

Bien que n'ayant pas trouvé la séquence du génome viral recherché après séquençage, nous pensons tout de même que l'amplification des six faux positifs obtenus et l'amplification de témoin positif montrent que la PCR a bien marché. Cependant, on peut déplorer une possibilité de contamination car la comparaison des séquences obtenues à partir de la GenBank sur le site internet de la NCBI a montré que les séquences obtenues étaient celles du génome d'autres espèces animales. Néanmoins le résultat négatif sur les échantillons testés ne fait aucun doute car les tests ont été effectués à trois reprises.

Les résultats négatifs obtenus après analyse de laboratoire, suggèrent que les *Paramyxoviridae* et les *Coronaviridae* pourraient ne pas circuler chez les animaux sauvages ayant fait l'objet de notre étude ou que le moment des

prélèvements n'était pas approprié. Ce résultat signifierait que le risque de contracter les virus appartenant à ces deux familles virales par manipulation d'organe d'animaux sauvages au Gabon ou par consommation est potentiellement faible. Toutefois, ce premier essai ne permet pas de tirer des conclusions définitives, il convient de reprendre cette étude avec un nouvel échantillonnage. Plusieurs paramètres doivent être pris en compte, notamment la période et la durée de collecte. De plus, la durée des collectes ne nous a pas permis de couvrir les différentes saisons que l'on rencontre au Gabon (deux saisons sèches et deux saisons de pluies). Les virus recherchés pourraient ne pas circuler dans la zone de collecte à une saison donnée. En effet, la circulation virale n'est pas continue dans le temps, ni dans l'espace (fluctuation de la circulation virale). Pour certains virus, leur circulation peut être favorisée, soit par la saison pluvieuse ou la sécheresse mettant en jeu plusieurs facteurs : abondance des arthropodes vecteurs ou déplacement des animaux réservoirs dans de nouvelles régions en cas de sécheresse. C'est le cas des épidémies dues aux virus appartenant aux *Paramyxoviridae* qui, surviennent en général pendant la saison des pluies, une période caractérisée par un temps froid et humide. La prise en compte de ces phénomènes est indispensable à la réalisation d'une telle étude, cependant le temps ne nous a pas permis d'approfondir ces aspects.

Par ailleurs, dans la continuité de ce travail d'autres virus seront recherchés afin de faire un inventaire des virus hébergés par les animaux sauvages au Gabon et de connaître le risque lié à leur consommation. C'est dans cette optique que d'autres organes ont été prélevés lors des collectes, en particulier le cerveau, les nœuds lymphatiques, le cœur et les reins.

Au terme de cette étude, nous formulons quelques recommandations à l'attention des autorités étatiques, des scientifiques et des acteurs de la filière viande de brousse (chasseurs, commerçants et consommateurs).

II- RECOMMANDATIONS

Bien que n'ayant pas mis en évidence les virus recherchés, les connaissances actuelles sur l'origine animale (sauvage) de certaines maladies permettent d'attirer l'attention sur les risques infectieux. En effet, des agents pathogènes appartenant aux familles des *Coronaviridae* et des *Paramyxoviridae* et d'autres familles virales sont impliqués dans l'émergence de nombreuses maladies chez l'homme. C'est ainsi que certaines recommandations sont faites en direction des autorités étatiques, des chasseurs et consommateurs, des agents des Eaux et Forêts et scientifiques.

II.1- Aux autorités étatiques en charge des productions animales

La consommation de viande de brousse est en grande partie liée à la faible production des animaux d'élevages dans certains pays. Dans le cas particulier du Gabon où la production du secteur élevage reste insignifiante en rapport avec la demande sans cesse croissante, les populations rurales n'ont, en général, que la viande de brousse comme principale source de protéine animale. Partant de ce constat, nous interpellons les autorités en charge de la production animale et le gouvernement de consentir les moyens nécessaires afin de développer ce secteur, cela permettrait de réduire la consommation de la viande de brousse et les risques sanitaires qui en découlent.

II.2- Aux chasseurs, commerçants et consommateurs

Nous avons été surpris par la réaction des populations rurales, informées de l'objectif de notre étude qui consiste à rechercher les virus à partir des organes d'animaux sauvages, certains n'ont pas hésité de nous traiter de "**fou**". Ce constat révèle l'ignorance et le manque de sensibilisation sur les dangers potentiels de transmission d'agents pathogènes des animaux sauvages à l'homme. Il est donc important que les populations soient sensibilisées sur les risques liés à la manipulation et à la consommation de viande de brousse. C'est l'occasion de rappeler que les virus sont des parasites intracellulaires

obligatoires et comme tout être vivant, les animaux sauvages sont infectés par ces parasites et peuvent transmettre ces agents infectieux à l'homme. La viande de brousse est en général consommée sans inspection des services vétérinaires, il convient donc de prendre certaines précautions à savoir :

- ✓ Eviter le contact avec les liquides biologiques de l'animal (sang, salive, urines etc.) ;
- ✓ Eviter de consommer les animaux trouvés mort ;
- ✓ Bien cuire les viandes provenant d'animaux sauvages car ces virus sont sensibles à la chaleur.

II.3- Aux agents des Eaux et Forêts

L'action des autorités des Eaux et Forêts visant à protéger la faune par la régulation de la chasse et la protection des espèces en voie de disparition est en général sans impact malgré quelques sanctions. En effet, sans le développement du secteur de l'élevage, ni le développement du monde rural et tant que ces populations n'auront que la viande de brousse comme seule source de protéine animale, la chasse et la consommation du gibier ne pourront être contrôlées.

Nous recommandons donc aux agents des Eaux et Forêts de travailler en collaboration avec les scientifiques. Cette collaboration permettrait de mieux sensibiliser la population en insistant sur l'absolue nécessité de préserver la faune, et surtout le danger microbiologique au contact de ces animaux.

II.4- Aux Scientifiques

Un réseau de surveillance de maladies humaines d'origine animale, assuré par les médecins, les vétérinaires, les scientifiques présents sur le terrain, doit être mis en place afin de diagnostiquer le plus tôt possible les maladies souvent inconnues (souvent attribuer aux sorciers). Nous recommandons que les prochaines études soient faites par des équipes pluridisciplinaires, associant les diverses compétences tels que : les médecins, les vétérinaires, les sociologues, les économistes etc.

CONCLUSION

L'émergence chez l'homme de maladies infectieuses d'origine animale est une préoccupation du monde médical depuis plusieurs décennies. Ces maladies qualifiées de zoonoses représentent un danger pour la santé publique au regard des épidémies dont elles sont responsables (la fièvre hémorragique à virus Ebola, l'encéphalite à virus Nipah, le syndrome respiratoire aigu sévère etc.).

En effet, les contacts fréquents entre les animaux sauvages et l'homme, en raison d'une profonde modification des relations entre sociétés humaines et écosystèmes naturels (la dégradation des milieux naturels, la domestication des espèces animales sauvages, la modification des pratiques culturelles, l'explosion démographique, la mondialisation des échanges), favorisent l'émergence de nouvelles maladies. Ainsi, certains agents pathogènes d'origine animale sont parvenus à franchir la barrière inter espèce et s'adapter à l'être humain grâce aux modifications écologiques et aux changements climatiques. Ce phénomène complexe résulte de l'interaction de plusieurs facteurs : les réservoirs d'agents pathogènes (animaux sauvages), les animaux amplificateurs, les arthropodes vecteurs et l'homme.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif principal de notre étude qui vise l'amélioration de la connaissance des virus hébergés par les animaux sauvages, et susceptibles d'être pathogènes pour l'homme ; et d'une façon spécifique, la recherche des virus appartenant aux familles des *Coronaviridae* et des *Paramyxoviridae* dans les organes de gibier abattu pour la consommation humaine au Gabon.

Ainsi, cette étude a été menée à partir des organes prélevés sur 454 animaux sauvages tués à la chasse, regroupant 225 Ongulés, 83 rongeurs, 70 primates non humains, 34 carnivores, 28 reptiles et 14 oiseaux. Ces animaux ont été prélevés dans l'ensemble des 9 provinces du Gabon. Les analyses virologiques par RT-PCR ont été effectuées à partir de l'ARN extrait du foie et de la rate pour la

recherche des *Paramyxoviridae*, du poumon et du tube digestif pour la recherche des *Coronaviridae*.

Cependant, la recherche des virus ciblés au laboratoire, a donné des résultats négatifs.

Au terme de notre étude, il est difficile d'affirmer l'absence des virus appartenant aux familles des *Paramyxoviridae* et des *Coronaviridae* chez les animaux sauvages abattus au Gabon. Aussi d'autres recherches s'avèrent nécessaires pour parvenir à un résultat convainquant. En effet, cette étude que nous avons initiée nécessite une période de collecte plus longue afin d'avoir un échantillonnage plus important et varié. En outre, cette étude pourra se poursuivre par la recherche d'autres familles virales à partir de la base de données constituée de l'ensemble de notre échantillonnage sur les animaux sauvages. Actuellement une étude sur les arboviroses est en cours, notamment les *Flaviviridae* et les *Bunyaviridae*. Ainsi, même si les objectifs fixés dans ce travail n'ont pas été atteints, nous espérons qu'ils le seront avec les recherches en cours.

Enfin, nous pensons qu'il est indispensable de formuler quelques recommandations à l'attention des acteurs de la filière viande de brousse notamment les chasseurs, les commerçants et les consommateurs. Ces recommandations concernent les mesures d'hygiène qu'il faut respecter à savoir :

- ✓ Eviter le contact avec les liquides biologiques de ces animaux (sang, urines, salives) ;
- ✓ Eviter de consommer les animaux trouvés morts en brousse ;
- ✓ Bien cuire les viandes provenant d'animaux sauvages car ces virus sont sensibles à la chaleur.

Le respect de ces mesures est primordial car il faut rappeler que la viande de brousse est consommée en général sans inspection des services vétérinaires.

Aussi, un réseau de surveillance de maladies humaines d'origine animale, assuré par les médecins, les vétérinaires, les scientifiques présents sur le terrain, doit être mis en place afin de diagnostiquer le plus tôt possible les maladies souvent inconnues (souvent attribuer aux sorciers). Nous recommandons que les prochaines études soient faites par des équipes pluridisciplinaires, associant les diverses compétences tels que : les vétérinaires, les sociologues, les économistes etc.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Akakpo AJ, Some MJR, Bornarel P, Juan A, Gonzalez JF. 1989. Epidémiologie de la fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'ouest : Enquête sérologique chez les ruminants domestiques. *Bull. Soc. Path. Exot.* 82:321- 331.
- Allan JS, Short M, Taylor ME, Su S, Hirsch VM, Johnson PR, Shaw GM, Hahn BH. 1991. Species-specific diversity among simian immunodeficiency viruses from African green monkeys. *J. Virol.* 65:2816-2828.
- Appel MJ. 1987. Canine distemper virus. In: Virus Infections of Carnivores Amsterdam. *Elsevier. Sciences. Publishers.:*133- 159.
- Black PF, Cronin JP, Morrissy CJ, Westbury HA. 2001. Serological examination for evidence of infection with Hendra and Nipah viruses in Queensland piggeries. *Aust. Vet. J.* 79:424-426.
- Bossart KN, Wang LF, Flora MN, Chua KB, Lam SK, Eaton BT, Broder CC. 2002. Membrane fusion tropism and heterotypic functional activities of the Nipah virus and Hendra virus envelope glycoproteins. *J. Virol.* 76:11186-11198.
- Bourgeade A, Bavoust B, Gallais H. 1992. Maladies animales aux infections humaines. *Médecine d'Afrique Noire.* 39:225- 230.
- Breman JG, Johnson KM, van der Groen G, Robbins CB, Szczeniowski MV, Ruti K, Webb PA, Meier F, Heymann DL. 1999. A search for Ebola virus in animals in the Democratic Republic of the Congo and Cameroon: ecologic, virologic, and serologic surveys, 1979-1980. Ebola Virus Study Teams. *J. Infect. Dis.* 179 Suppl 1:S139-147.
- Brown C. 1997. Emerging diseases--what veterinarians need to know. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9:113-117.
- Catinot R. 1978. The forest ecosystems of Gabon: an overview. In: UNESCO-UNEP-FAO. Tropical Forest Ecosystems: a state of knowledge report. *UNESCO. Paris. France.*

- Cenarest. 1979. Liste des vertébrés de la région de Makokou. *Gabon*.
- Chant K, Chan R, Smith M, Dwyer DE, Kirkland P. 1998. Probable human infection with a newly described virus in the family Paramyxoviridae. The NSW Expert Group. *Emerg. Infect. Dis.* 4:273-275.
- Chastel C. 1992. Histoire des virus; de la variole au Sida. *Boubée. Paris.*:413p.
- Chastel C. 2002. [Impact of global climate changes on arboviruses transmitted to humans by mosquitoes and ticks]. *Bull. Acad. Natl. Med.* 186:89-100; discussion 100-101.
- Chastel C. 2006. Virus émergents, vers de nouvelles pandémie ? . *Vuibert. ADAPT.*:316p.
- Chomel BB. 1998. New emerging zoonoses: a challenge and an opportunity for the veterinary profession. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 21:1-14.
- Chua KB. 2003. Nipah virus outbreak in Malaysia. *J. Clin. Virol.* 26:265-275.
- Chua KB, Koh CL, Hooi PS, Wee KF, Khong JH, Chua BH, Chan YP, Lim ME, Lam SK. 2002. Isolation of Nipah virus from Malaysian Island flying-foxes. *Microbes. Infect.* 4:145-151.
- Cleaveland S, Laurenson MK, Taylor LH. 2001. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philos. Trans R. Soc. Lond B. Biol. Sci.* 356:991-999.
- Cliquet F. 2004. Rabies and rabies related viruses: a modern perspective on a ancient disease. *REV. SCI. Tech. Off. int. Epiz.* 32:625- 642.
- Cummins D. 1991. Arenaviral haemorrhagic fevers. *Blood. Rev.* 5:129-137.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta. Trop.* 78:103-116.
- Daubney R, Hudson JR, Garnham PC. 1931. Enzootic hepatitis or Rift Valley Fever; an undescribed virus disease of sheep, cattle and man from East Africa. *J. Path. Bact.* 34:549-579.

- FAO. 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italie. *State. of the World's. Forests.*
- Feldmann H, Czub M, Jones S, Dick D, Garbutt M, Grolla A, Artsob H. 2002. Emerging and re-emerging infectious diseases. *Med. Microbiol. Immunol.* 191:63-74.
- Feussom JM. 2008. Influenza aviaire hautement pathogène à H5N1 : Bilan en Afrique de 2006 au décembre 2007. *Th. Méd. Vet. Dakar, n°5 42.*
- Georges AJ. 2000. [Viral hemorrhagic fevers: history and lessons from the last forty years]. *Med. Trop.* 60:5-19.
- Georges AJ, Baize S, Leroy EM, Georges-Courbot MC. 1998. [Ebola virus: what the practitioner needs to know]. *Med. Trop.* 58:177-186.
- Gessain A, Manuguerra JC, . 2006. Les virus émergents. *Presses. universitaires. de France.:*128 p.
- Girard M. 2000. Les maladies infectieuses émergentes. *Méd. Science.* 16:883-891.
- Goh KJ, Tan CT, Chew NK, Tan PSK, Kamarulzaman A, Sarji SA. 2000. Clinical features of Nipah virus encephalitis among pig farmers in Malaysia. *New England Journal of Medicine* 342:1229- 1235.
- Goldsmith CS, Whistler T, Rollin PE, Ksiazek TG, Rota PA, Bellini WJ, Daszak P, Wong KT, Shieh WJ, Zaki SR. 2003. Elucidation of Nipah virus morphogenesis and replication using ultrastructural and molecular approaches. *Virus. Res.* 92:89-98.
- Gonon V. 1998. Les Coronavirus felin. *Virologie.* 2:205- 213.
- Gonzales J-P, Lechuga M, Yoksan S. 2000. Les Arenaviridae du nouveau monde: virus en évolution et maladies émergentes. *Med. Trop.* 60:42S-49S.
- Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, Luo SW, Li PH, Zhang LJ, Guan YJ, Butt KM, Wong KL, Chan KW, Lim W, Shortridge KF, Yuen KY, Peiris JS, Poon LL. 2003. Isolation and characterization of

- viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*. 302:276-278.
- Hahn B, Shaw GM, DeCock KM, Sharp PM. 2000. AIDS as a zoonosis : scientific and public health implication. *Science* 287:607- 614.
- Halpin K, Young PL, Field HE, Mackenzie JS. 2000. Isolation of Hendra virus from pteropid bats: a natural reservoir of Hendra virus. *J. Gen. Virol.* 81:1927-1932.
- Hars J. 2003. Les zoonoses de la faune sauvage : épidémiologie et actualité. *Insr* 96:466-469.
- Hayman DT, Suu-Ire R, Breed AC, McEachern JA, Wang L, Wood JL, Cunningham AA. 2008. Evidence of henipavirus infection in West African fruit bats. *PLoS. One.* 3:e2739.
- Hooper PT, Gould AR, Hyatt AD, Braun MA, Kattenbelt JA, Hengstberger SG, Westbury HA. 2000. Identification and molecular characterization of Hendra virus in a horse in Queensland. *Aus.t Vet. J.* 78:281-282.
- Johnson KM, Saluzzo JF, Dodet B. 1999. Important factors in the emergence of arenavirus and Hantavirus. In emergence and control of rodent-borne viral diseases. *Elseviers. Paris.:*15- 22.
- Juan A, Adam F, Coulibaly I, Riou O, Philippe B. 1990. Epidémie de la fièvre de la vallée du Rift en République Islamique de Mauritanie : Données géographiques et écologiques. *Bull. Soc. Path. Exot.* 83:611- 620.
- Karesh WB, Cook RA, Bennett EL, Newcomb J. 2005. Wildlife trade and global disease emergence. *Emerg. Infect. Dis.* 11:1000-1002.
- Kirkland P, Love RJ, Ross AD, Davis RJ, Glesson AB. 2000. Menangle virus, a zoonotic member of family paramyxoviridae infecting fruit bat and associated with, reproductive disease in pigs. *Journal. of Clinical. Virology.* 18:1- 3.
- Larkin M. 2003. Monkeypox spreads as US public- health system plays catch-up. *Lancet. Infet. Dis.* 3:461p.

- LeDuc JW, Childs JE, Glass GE. 1992. The Hantaviruses, etiologic agents of hemorrhagic fever with renal syndrome: a possible cause of hypertension and chronic renal disease in the United States. *Annu. Rev. Public. Health.* 13:79-98.
- Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, Joynt GM, Ahuja A, Yung MY, Leung CB, To KF, Lui SF, Szeto CC, Chung S, Sung JJ. 2003. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N. Engl. J. Med.* 348:1986-1994.
- Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X, Rouquet P, Hassanin A, Yaba P, Delicat A, Paweska JT, Gonzalez JP, Swanepoel R. 2005. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 438:575-576.
- Leroy EM, Nkoghe D, Ollomo B, Nze-Nkogue C, Becquart P, Grard G, Pourrut X, Charrel R, Moureau G, Ndjoi-Mbiguino A, De Lamballerie X. 2007. Concurrent Chikungunya and Dengue Virus Infections during Simultaneous Outbreaks, Gabon, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* 15:591- 593.
- Leroy EM, Telfer P, Kumulungui B, Yaba P, Rouquet P, Roques P, Gonzalez JP, Ksiazek TG, Rollin PE, Nerrienet E. 2004. A serological survey of Ebola virus infection in central African nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 190:1895-1899.
- Lhuiller M, Sarthon R, Cordellier R, Monteny N, Bouchite B, Colen P. 1985. Epidémie rural de fièvre jaune avec transmission interhumaine en Côte d'Ivoire en 1982. *Bull. World. Health. organ.* 63:527- 536.
- Li W, Shi Z, Yu M, Ren W, Smith C, Epstein JH, Wang H, Crameri G, Hu Z, Zhang H, Zhang J, McEachern J, Field H, Daszak P, Eaton BT, Zhang S, Wang LF. 2005. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 310:676-679.
- Linthicum KJ, Anyamba A, Tucker CJ, Keley PW, Myers MF, Peters CJ. 1999. Climate and satellite indicators to forecast Rift Valley fever epidemics in Kenya. *Science.* 285:397- 400.

- Mackenzie JS, Chua KB, Daniels PW, Eaton BT, Field HE, Hall RA. 2001. Emerging viral diseases of South East Asia and the Western Pacific. *Emerg. Infect. Dis.* 7:497- 504.
- Mahy BWJ. 2000. Emerging zoonoses: crossing the species barrier. *Rev. Sci. Tech. OIE.* 19: 33-40.
- Mamaev LV, Denikina NN, Belikov SI, Volchkov VE, Visser IK, Fleming M, Kai C, Harder TC, Liess B, Osterhaus AD, et al. 1995. Characterisation of morbilliviruses isolated from Lake Baikal seals (*Phoca sibirica*). *Vet. Microbiol.* 44:251-259.
- Mc Shane C. 1990. Stratégie pour la conservation au Gabon. *WWF*.
- Meyers. 1992. The emergence of simian/human immunodeficiency virus. *AIDS. Res. Hum. Retroviruses.* 8:373- 386.
- Milleliri JM, Tevi-Benissan C, Baize S, Leroy E, Georges-Courbot MC. 2004. [Epidemics of Ebola haemorrhagic fever in Gabon (1994-2002). Epidemiologic aspects and considerations on control measures]. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 97:199-205.
- Mills JN, Ellis BA, Child JE. 1994. Prevalence of infection with Junin virus in rodent populations in the epidemic area of Argentine hemorrhagic fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 145:331- 336.
- Morse SS. 1990. Emerging viruses: the evolution of viruses and viral diseases. *J. Infect. Dis.* 162:1-7.
- Morse SS. 1993. Examining the origins of emerging viruses. In: Morse SS. *Emerg. viruses. New York: Oxford. University. Press.*:10-28.
- Morse SS. 1995. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 1:7-15.
- Moutou F, Van Bressen M, Pastoret P. 1989. Quel avenir pour les phoques de la mer du nord ? *Cah. Ethol. Appl.* 9:59- 74.
- Nkoghe D, Formenty P, Leroy EM, Nnegue S, Edou SY, Ba JI, Allaranger Y, Cabore J, Bachy C, Andraghetti R, de Benoist AC, Galanis E, Rose A,

- Bausch D, Reynolds M, Rollin P, Choueibou C, Shongo R, Gergonne B, Kone LM, Yada A, Roth C, Mve MT. 2005. [Multiple Ebola virus haemorrhagic fever outbreaks in Gabon, from October 2001 to April 2002]. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 98:224-229.
- OIE. 2008. Maladies dues au virus Hendra et au virus Nipah *Manuel. terrestre.* 296:1344-1355.
- OMS. 2008. Un nouveau genre : Les *Henipavirus* (Les virus Hendra et Nipah). *Med. Qual:*1-4.
- OMS. 1954. Zoonoses : rapport du comité mixte OMS/FAO d'experts des zoonoses. *Série de rapports techniques* 40.
- OMS. 1996. Rapport annuel sur la santé dans le monde. *Génève:*137.
- OMS. 2002. Global defence against the infectious disease threat. *Communicable. diseases.*
- Ongone OA, Maganga IM, Ibouesse JF, Mbeng C, Assoumou L. 2003. Rapport national sur l'état des ressources génétiques animales du Gabon. *Vice Primature.*
- Parodi AS, Greenway DJ, Rugiero HR, Frigerio M, De La Barrera JM, Mettler N, Garzon F, Boxaca M, Guerrero L, Nota N. 1958. [Concerning the epidemic outbreak in Junin.]. *Dia. Med.* 30:2300-2301.
- Paton DJ. 2002. Viral infections of pigs: trends and new knowledge. *J. Comp. Pathol.* 127:77-95.
- Raoult D. 1998. Dictionnaire de maladies infectieuses: diagnostique, épidémiologie, répartition géographique, taxonomique, symptomatologie. *Elsevier.*
- Raoult D. 1999. Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millenium. *Elsevier, Paris.:*455p.
- Rodhain F. 2003. Emergence de maladies à transmission vectorielle. *Epidémiol. et santé anim.* 43.

- Roelke-Parker ME, Munson L, Packer C, Kock R, Cleaveland S, Carpenter M, O'Brien SJ, Pospischil A, Hofmann-Lehmann R, Lutz H, Mwamengele GL, Mgasia MN, Machange GA, Summers BA, Appel MJ. 1996. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature* 379:441-445.
- Saluzzo JF, Vidal L, Gonzalez JP. 2004. Les virus émergents. *IRD*:188p.
- Schubert AM. 2010. Evolution of the sequence composition of Flaviviruses. *Infect. Genet. Evol.* 10:129-136.
- Smith JS. 1996. New Aspects of Rabies with Emphasis on Epidemiology, Diagnosis and Prevention of the Disease in the United States. *Clin. Microbiol. Rev.* 9:166-176.
- Tan CT. 2001. Nosocomial transmissibility of Nipah virus. *J. Infect. Dis.* 184:1367p.
- Tauxe RV. 2002. Emerging foodborne pathogens. *Int. J. Food. Microbiol.* 78:31-41.
- Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME. 2001. Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans R. Soc. Lond B. Biol. Sci.* 356:983-989.
- Toma B. 2003. Qu'est ce qu'une maladie émergente ? *Epidémiol. et santé anim.* 44:1-11.
- Tordo N, Poch O, Campbell JB, Charlton KM. 1988. Structure of rabies virus. *Kluwer. Academic. Publishers. Boston.* 2:25- 45.
- Tutin C. 1983. Recensement des gorilles et des Chimpanzés du Gabon. *CIMRF. Umv. Stirling.*
- Tutin CE. 2000. [Ecology and social organization of African tropical forest primates: aid in understanding retrovirus transmission]. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 93:157-161.
- Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. 2009. [Human coronaviruses.]. *Pathol. Biol (Paris).* 57:149-160.

- Vabret A, Mourez T, Dina J, Freymuth F. 2005. Les Coronavirus humains. *Virologie* 9:273- 287.
- Vallet B. 2009. La progression passée, présente et à venir des épizooties et des zoonoses : surveillance et moyens de lutte. *Bull. Acad. Vét. France.* 162:65- 71.
- Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, Chanhome L, Rollin P, Stockton P, Rupprecht CE, Ksiazek TG, Hemachudha T. 2005. *Bat. Nipah virus. Thailand. Emerg. Infect. Dis.* 11:1949-1951.
- Walsh PD, Abernethy KA, Bermejo M, Beyers R, De Wachter P, Akou ME, Huijbregts B, Mambounga DI, Toham AK, Kilbourn AM, Lahm SA, Latour S, Maisels F, Mbina C, Mihindou Y, Obiang SN, Effa EN, Starkey MP, Telfer P, Thibault M, Tutin CE, White LJ, Wilkie DS. 2003. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature* 422:611-614.
- Wang L, Harcourt BH, Yu M, Tamin A, Rota PA, Bellini WJ, Eaton BT. 2001. Molecular biology of Hendra and Nipah viruses. *Microbes. Infect.* 3:279-287.
- Woods CW, Karpati AM, Grein T, McCarthy N, Gaturuku P, Muchiri E. 2002. An Outbreak of Rift Valley Fever in Northeastern Kenya, 1997-1998. *Emerg. Infect. Dis.* 8:138- 144.
- Woolhouse ME. 2005. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* 11:1842-1847.

ANNEXES

Annexe 1 : Protocole RT-PCR *Pancoronavirus*

❖ RT-PCR one step (Qiagen)

Eau: **9.25 µl**

One step buffer 5x: **5 µl**

dNTP (10µM): **1µl**

BSA (1mg/µl): **1µl**

PC2S2 (10µM): **0.5 µl**

PC2AS1 (10µM): **2.25 µl**

One step Enzym: **1µl**

20µl Mix + 5 µl ARN

❖ Nested PCR (2^{ème} tour)

Eau: **29.8µl**

10X PCR Buffer: **5 µl**

dNTP Mix (10µM) : **1 µl**

MgCl₂ (50 mM) : **2 µl**

Amorce sens 2 (Fwd2) (10µM): **5 µl**

Amorce anti sens (Rev) (10µl) : **5 µl**

Platinum taq : **0.2 µl**

48 µl mix + 2µl produit du 1^{er} tour.

Thermocyclage:

50° 30'

95° 20''

94° 15''

60° 30''

72° 40''

} **10 cycles**

95° 20''

54° 30''

72° 40''

} **40 cycles**

72° 5'

Thermocyclage :

94° 2'

94° 15'

50° 30''

72° 30''

} **40 cycles**

72° 7'

Annexe 2: Protocole RT-PCR Pan *PARAMYXOVIRUS* (RES-MOR-HE /AVU-RUB/ PNEU)

❖ 1^{er} tour: RT-PCR one step Invitrogen *Pan Paramyxovirus*

2 Rxn Mix	12.5 µl	Thermocyclage:	
BSA	1 µl		
MgSO ₄ (50mM)	0.4 µl	60°C	1'
Fwd 1 (10 µM)	2.3 µl	48°C	30''
Rev (10 µM)	2.3 µl	94°C	2'
Enzyme	1 µl	94°C	15''
Eau	0.5 µl	50°C	30''
ARN	5 µl	72°C	30''
		72°C	7'

} 40 cycles

Vf= 25 µl

❖ 2^{eme} tour: hemi ested PCR Invitrogen (500pb)

Eau	29.8 µl	94°C	2'
10X PCR buffer	5 µl	94°C	15''
dNTP (10 mM)	1 µl	50°C	30''
MgCl ₂ (50 mM)	2 µl	72°C	30''
Fwd 2 (10 µM)	5 µl	72°C	7'
Rev (10 µM)	5 µl		
Taq Platinum	0.2 µl		
Amplicon 1 ^{er} tour	2 µ		

} 40 cycles

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

« Fidèlement attaché aux directives de **Claude BOURGELAT**, fondateur de l'enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés :

- ❖ d'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et l'honneur de la profession vétérinaire;
- ❖ d'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie de mon pays ;
- ❖ de prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire ;
- ❖ de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

Que toute confiance me soit retirée s'il advient que je me parjure. »

LE (LA) CANDIDAT (E)

**VU
LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE DOYEN
DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

**LE PRESIDENT
DU JURY**

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____
DAKAR, LE _____**

**LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

CONTRIBUTION A LA RECHERCHE DES VIRUS APPARTENANT AUX FAMILLES DES *CORONAVIRIDAE* ET DES *PARAMYXOVIRIDAE* DANS LES ORGANES DE GIBIER ABATTU POUR LA CONSOMMATION HUMAINE AU GABON.

RESUME

Ce travail qui vise à rechercher les virus à caractère zoonotique appartenant aux familles des *Coronaviridae* et des *Paramyxoviridae* dans les organes de gibier abattu au Gabon s'est déroulé du mois d'octobre 2009 à novembre 2010. La partie terrain consistant à la collecte d'échantillon a été réalisée dans les 9 provinces du Gabon et la deuxième partie consacrée aux analyses de laboratoire par la technique de biologie moléculaire RT-PCR a été effectuée au Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF). Cette étude a porté sur 454 animaux sauvages : 225 ongulés, 83 rongeurs, 70 primates non humains, 34 carnivores, 28 reptiles et 14 oiseaux.

Pour la recherche des *Coronavirus*, les analyses ont porté sur deux organes (poumon et tube digestif) et pour la recherche des *Paramyxovirus*, le foie et la rate ont été utilisés.

Les résultats de RT-PCR ont révélé l'absence des *Coronavirus* et des *Paramyxovirus* dans les échantillons analysés après séquençage et comparaison des séquences obtenues à partir de la GenBank du site internet de la National Center for Biotechnology Informatique (NBCI).

D'autres études sont actuellement en cours. Il s'agit de la recherche d'autres familles virales à partir des organes prélevés sur les mêmes animaux (cerveau, nœuds lymphatique, rein cœur). En plus de ces recherches, nous pensons qu'il faut reprendre l'étude des *Coronavirus* et des *Paramyxovirus* pour une période assez longue.

Mots clés : virus – *Coronaviridae* – *Paramyxoviridae* – zoonoses - animaux sauvages – poumon - tube digestif – foie – rate.

Adresse de l'auteur :

MVE ONDO Bertrand

PB : 7243 Libreville/Gabon

E-mail : mvebertrand2000@yahoo.fr

Tel : 00(241) 07198231/06590092