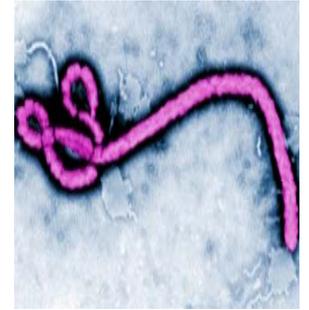


Virus Ebola

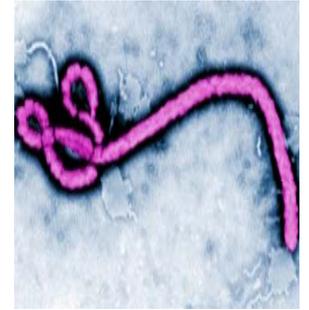
***Dr Mouhamadou Lamine DIA
Direction des Laboratoires
MSAS***

OBJECTIFS

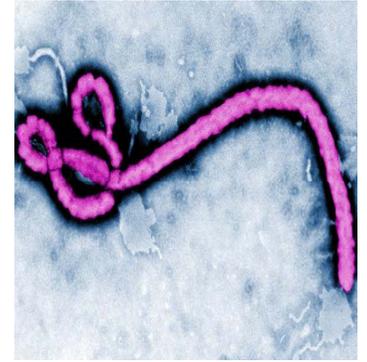


- 1. Connaitre les caractères du virus**
- 2. Citer deux produits pathologiques pour la confirmation virologique**
- 3. Décrire les conditions de transport des échantillons**
- 4. Citer deux techniques utilisées pour la confirmation virologique**

PLAN

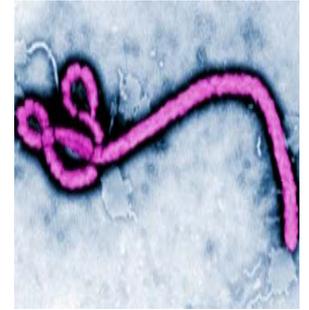


- **INTRODUCTION**
- **CLASSIFICATION**
- **CARACTERES VIROLOGIQUES**
- **DIAGNOSTIQUE AU LABORATOIRE**
- **CONCLUSION**



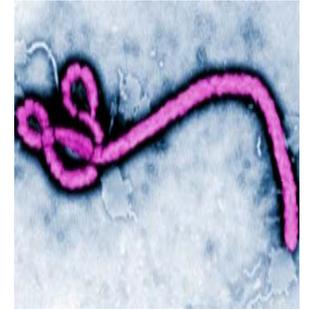
Introduction

Introduction



- **1976: deux épidémies de fièvre hémorragique ont débuté à Nzara (Soudan) et Yambuku (Zaire) avec taux de létalité élevés (53% et 88%),**
- **Deux virus proches isolés et nommés Ebola (rivière coulant près de Yambuku): **Ebola-Zaire** et **Ebola-Soudan**,**
- **1989: Virginie (USA) plusieurs singes macaques (Macaca fascicularis) importés des philippines morts de fièvre hémorragique: **Ebola-Reston****

Introduction

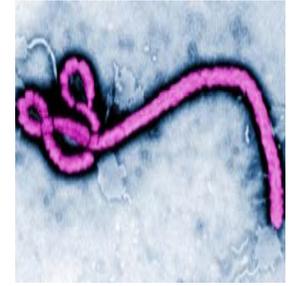


- **1994:** au parc national de Taï en Côte d'Ivoire une personne infectée en effectuant la nécropsie d'un singe trouvé mort (elle a survécu): **Ebola-Côte d'Ivoire** rebaptisé **Ebola-Forêt de Taï**
- **2008:** **Ebola-Bundibugyo**, identifiée à Bundibugyo en Ouganda
- E. Zaïre et E. Soudan responsables quasi-totalité cas humains; Ebola Reston transmissible à l'homme sans donner de signes cliniques



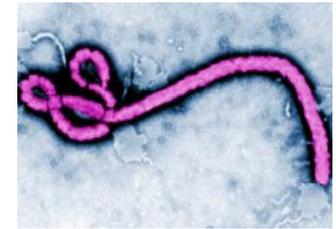
Classification

Classification



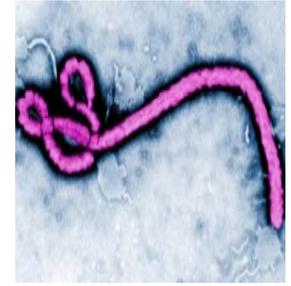
- **Ordre** : Mononegavirale
- **Famille**: Filoviridae
- **Genre** : Virus Ebola ou Ebolavirus
- **Espèces**: Zaire, Soudan, Reston, Forêt de Taï, Bundibugyo

Principales FHV

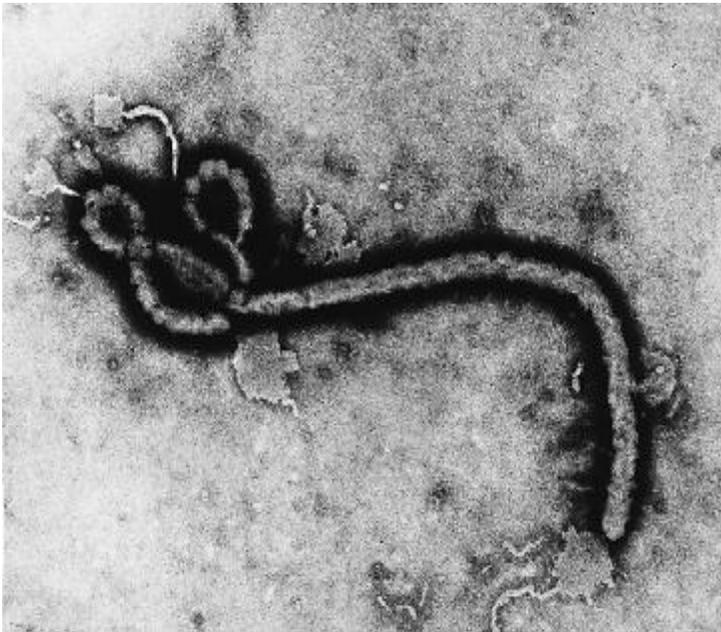


Famille	Genre	Virus	Fièvre hémorragique	Mode de transmission
Flaviviridae	<i>Flavivirus</i>	<i>Amaril</i> <i>Dengue</i> <i>Omsk</i> <i>Kyasanur</i> <i>Alkhurma</i>	Fièvre Jaune Dengues Fièvre hémorragique d'Omsk Maladie de la forêt de Kyasanur Fièvre à virus Alkhurma	Moustiques Moustiques Tiques Tiques Tiques
Bunyaviridae	<i>Phlebovirus</i> <i>Nairovirus</i> <i>Hantavirus</i>	<i>Rift Valley</i> <i>Crimée-Congo</i> <i>Hantaan</i> <i>Puumala</i> <i>Sin Nombre</i>	Fièvre de la Vallée du Rift (FVR) Fièvre Hémorragique de Crimée-Congo (CHF-C) Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal (FHSR) Néphropathie épidémique Hantavirus pulmonary syndrom	Moustiques Tiques Rongeurs Rongeurs Rongeurs
Arenaviridae	<i>Arénavirus</i>	<i>Junin</i> <i>Machupo</i> <i>Guanarito</i> <i>Sabia</i> <i>Lassa</i>	Fièvre Hémorragique d'Argentine FH de Bolivie FH du Venezuela FH du Brésil Fièvre de Lassa	Rongeurs Rongeurs Rongeurs ? Rongeurs
Filoviridae	<i>Filovirus</i>	<i>Marburg</i> <i>Ebola</i>	F.H de Marburg F.H Ebola	? ?

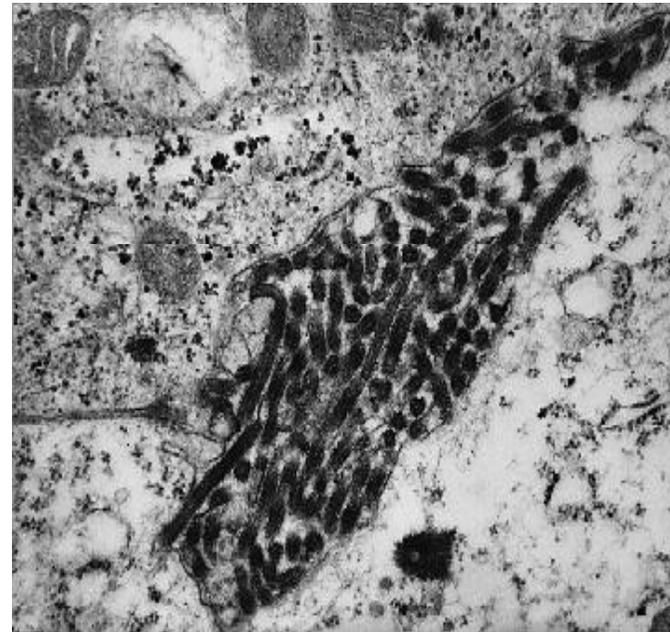
Classification



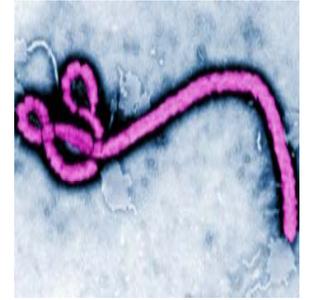
-



EBOLA



MARBURG



Caractères virologiques

Caractères virologiques



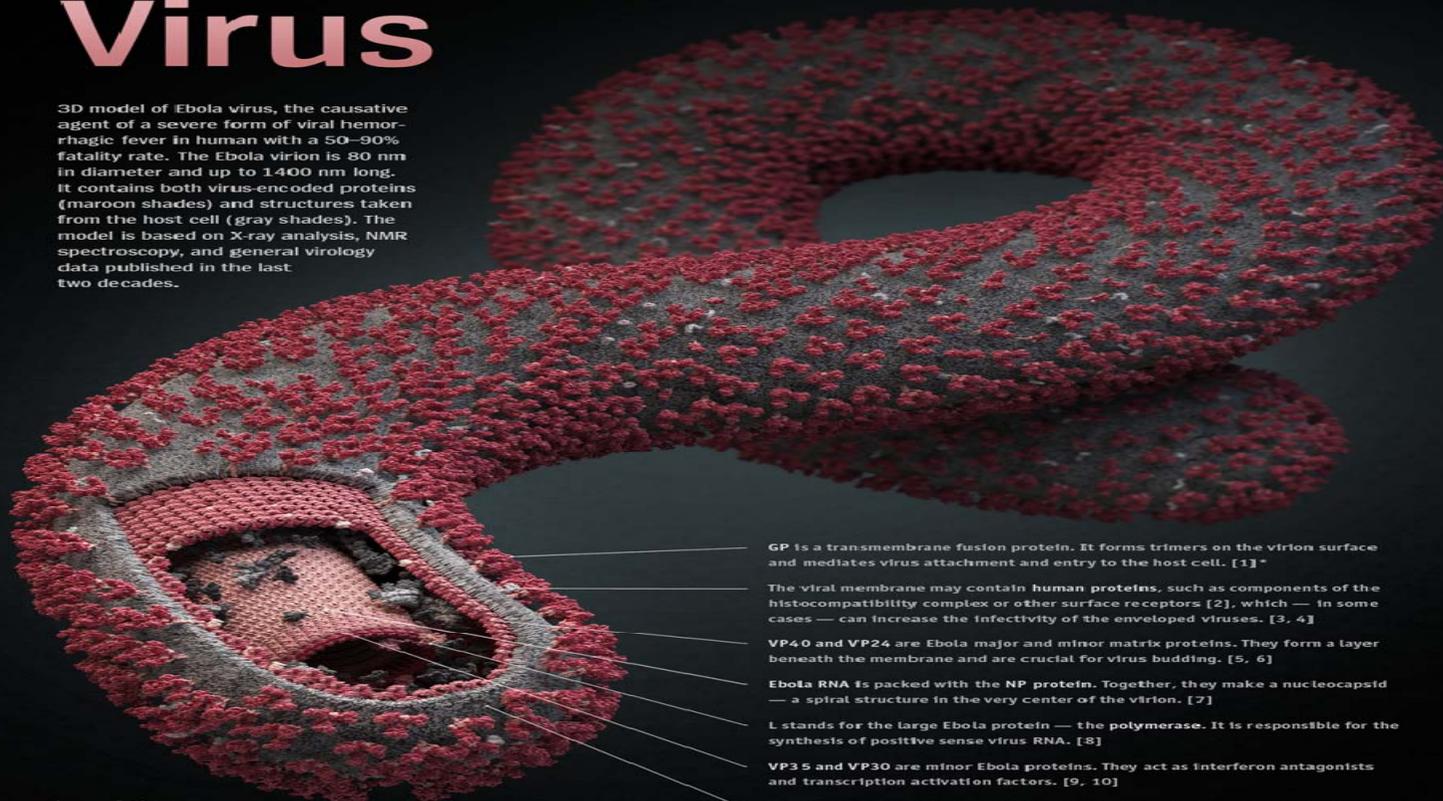
- **Structure du virus:**
 - Virus ayant une forme filamenteuse parfois bifurquée prenant la forme d'un U ou d'un «6»
 - Taille des filaments très variable, jusqu'à 1 400 nm, diamètre = 80 nm
 - Forme infectieuse mesure 790 nm
 - Virus enveloppé avec une nucléocapside tubulaire à symétrie hélicoïdale

Virus Ebola

The Ebola Virus

 **VIRAL PARK**
Project of Visual Science

3D model of Ebola virus, the causative agent of a severe form of viral hemorrhagic fever in human with a 50–90% fatality rate. The Ebola virion is 80 nm in diameter and up to 1400 nm long. It contains both virus-encoded proteins (maroon shades) and structures taken from the host cell (gray shades). The model is based on X-ray analysis, NMR spectroscopy, and general virology data published in the last two decades.



GP is a transmembrane fusion protein. It forms trimers on the virion surface and mediates virus attachment and entry to the host cell. [1]*

The viral membrane may contain human proteins, such as components of the histocompatibility complex or other surface receptors [2], which — in some cases — can increase the infectivity of the enveloped viruses. [3, 4]

VP40 and VP24 are Ebola major and minor matrix proteins. They form a layer beneath the membrane and are crucial for virus budding. [5, 6]

Ebola RNA is packed with the NP protein. Together, they make a nucleocapsid — a spiral structure in the very center of the virion. [7]

L stands for the large Ebola protein — the polymerase. It is responsible for the synthesis of positive sense virus RNA. [8]

VP30 and VP30 are minor Ebola proteins. They act as interferon antagonists and transcription activation factors. [9, 10]

The budding viral particle is wrapped in the lipid membrane taken from the human cell. [11]

10 nm

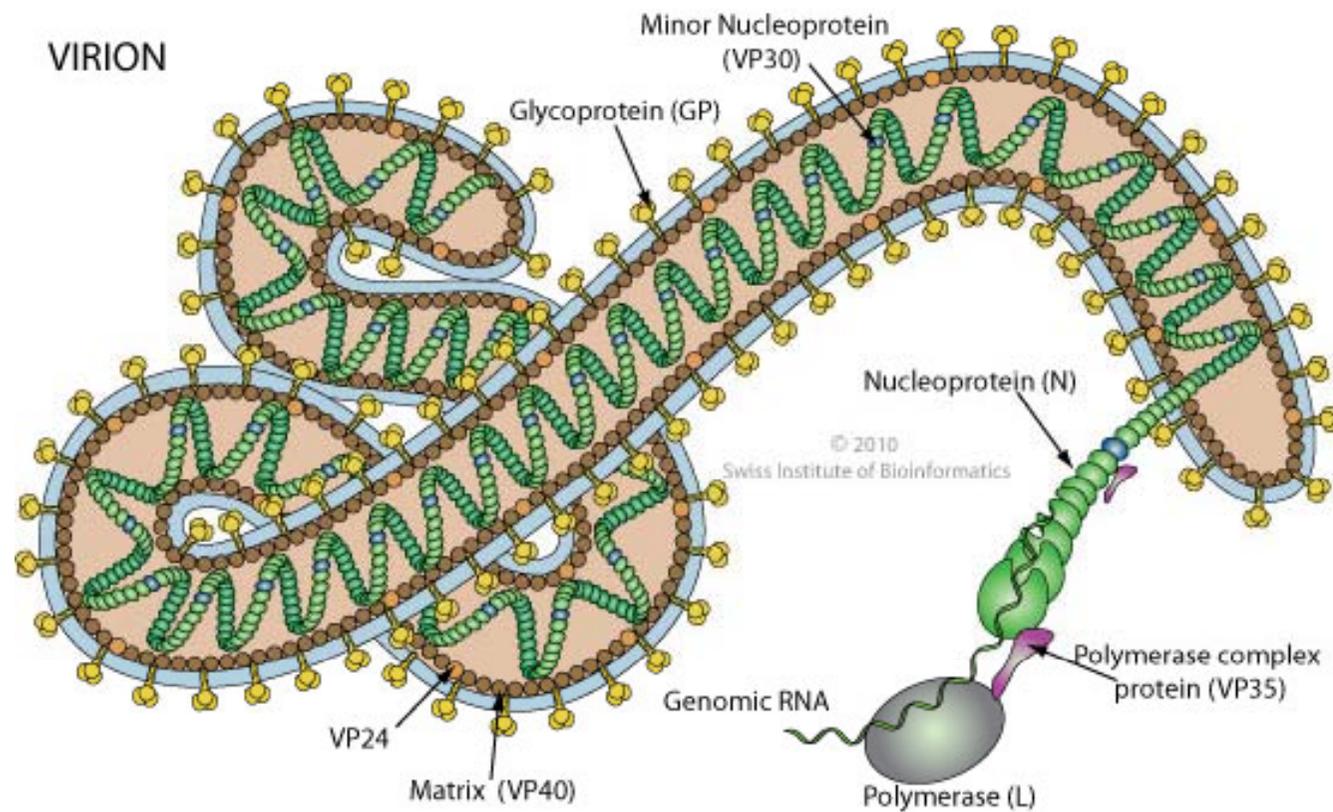
This model contains accurate models of 11 types of Ebola and human proteins, 18900 nucleotides of genomic RNA and more than 2.5 million lipid molecules.

*For more information and references visit www.visualsciencecompany.com/ebola

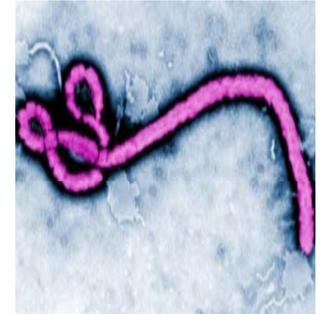
Virus Ebola Zaïre en microscopie électronique



Structure des Filoviridae

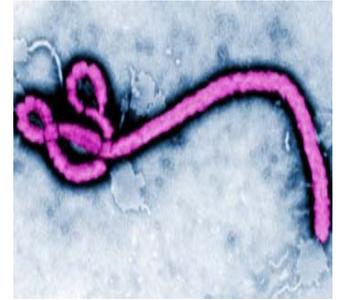


Caractères virologiques

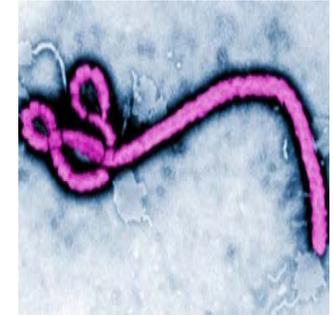


- ***Le génome:***
 - **ARN , monocaténaire linéaire, non segmenté, à polarité négative, d'environ 19 kb**
 - **ARN polymérase**
 - **Code sept protéines virales**

Caractères virologiques

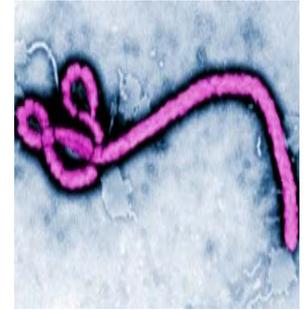


- ***Caractères physico-chimiques :***
 - **Virus enveloppé fragile ne survit pas dans milieu extérieur**
 - **Détruit par la chaleur: 30 minutes à 60 °C, par les UV, les rayons gamma, les solvants des lipides (éther), la bêtapropiolactone**
 - **Inactivé par: eau de javel, savon, détergents, formol...**



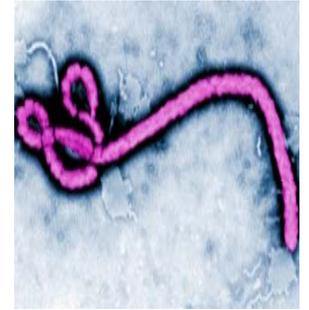
Diagnostic au laboratoire

Produits pathologiques



- **Prélever du sang** dans deux tubes: un tube sec de 10 ml et un tube EDTA de 10 ml
 - **Prélever des tissus**
 - **Autres: urines, LCR**
- **Manipuler avec extrême précaution**
 - **Envoi à un laboratoire de haute sécurité (P4)**

Pré traitement produit pathologique



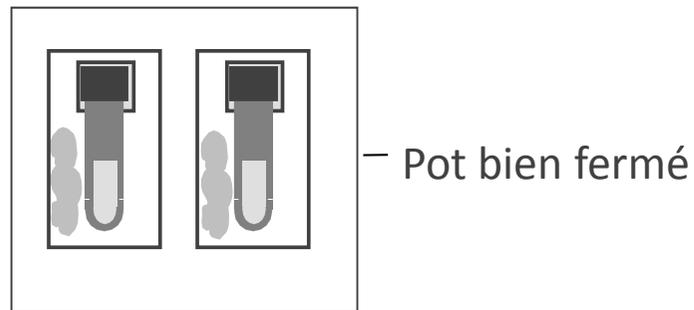
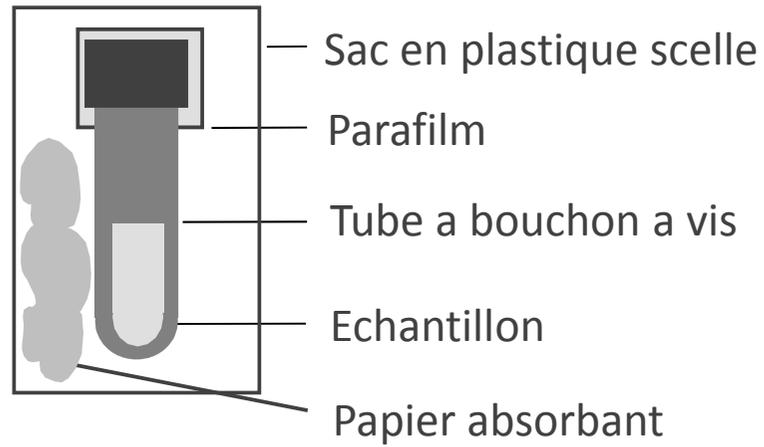
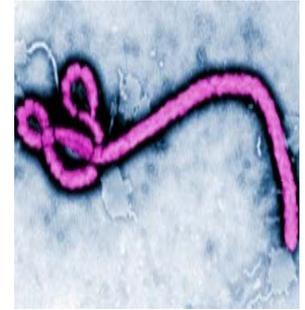
- **Chauffage: 56°C pendant 30 min**
- **Ajout de détergent**

Transport: **Triple emballage**

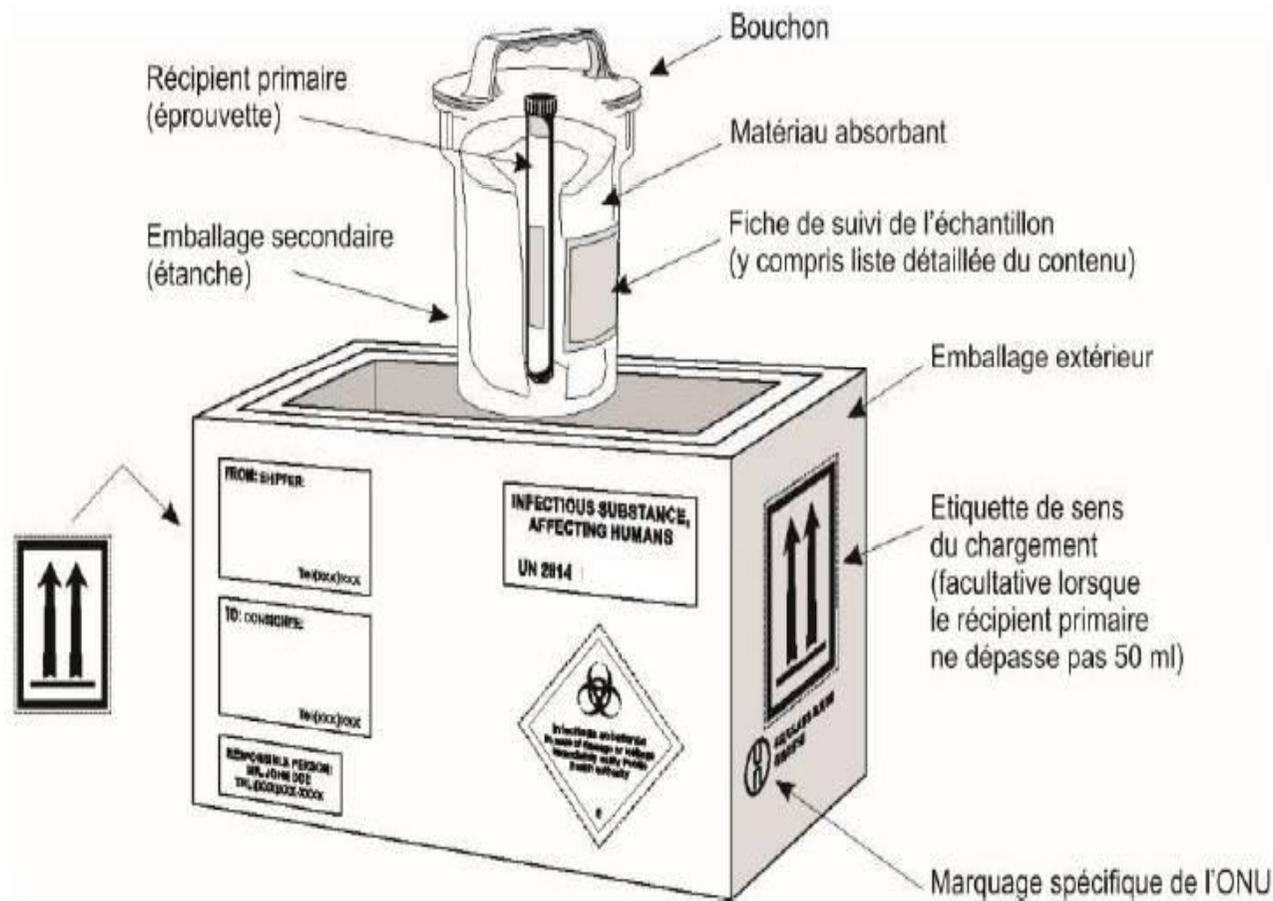
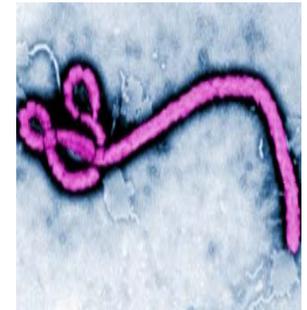


- Tube, **1^{er} emballage** doit être mis dans un sachet avec un tissu absorbant,
- puis ce sachet sera mis dans un pot bien fermé (**2^{ème} emballage**),
- enfin ce pot sera mis dans un carton ou une glacière (**3^{ème} emballage**).

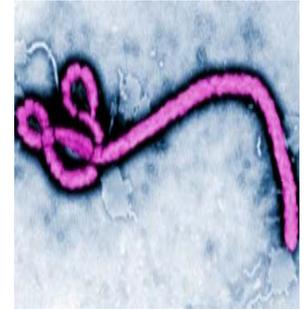
Transport: Triple emballage



Transport: Triple emballage

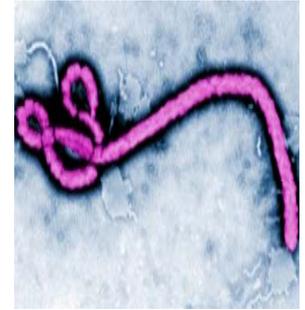


Codes UN



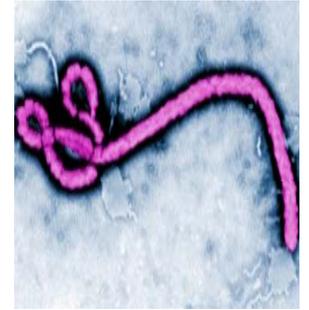
- **Les agents représentant un danger biologique sont classés pour le transport par code UN :**
- **UN 2814:** (Substance infectieuse, affecte les humains)
- **UN 2900** (Substance infectieuse, affecte les animaux)
- **UN 3373** (Échantillon diagnostique *ou* Échantillon clinique *ou* Substance biologique, Catégorie B)
- **UN 3291** (Déchets médicaux)

Transport: Triple emballage



- **Les boîtes UN 2814** de la société Emball Infor (www.emballinfor) peuvent être utilisées. Toutefois un autre type d'emballage (exemples : glacière, carton, ...) peut être accepté en veillant au respect du triple emballage.
- Acheminer les échantillons de façon sécurisée en **respectant la chaîne de froid (+4°C)**, après accord obtenu par téléphone de l'IPD.

Transport: Triple emballage



A contacter

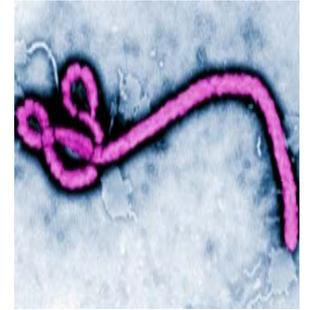
Informer,

- Institut Pasteur de Dakar: 77 270 77 93; 33 839

92 00

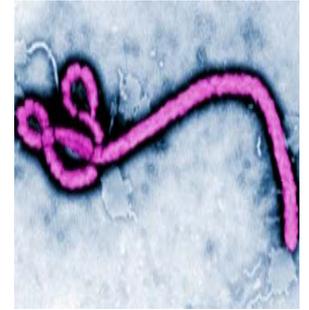
- la DP: 33 869 42 31

Transport: Triple emballage



- Adresser échantillons à: **Unité des Arbovirus et virus des Fièvres Hémorragiques Institut Pasteur de Dakar 36 Avenue Pasteur, Dakar.**
- Mentionner le nom et les coordonnées de l'expéditeur (numéro de mobile) .
- Fiche clinique dûment renseignée par un médecin/personnel de santé qui doit être accessible sans ouvrir l'emballage

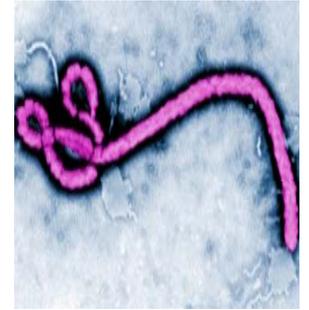
Transport: Triple emballage



A NE PAS FAIRE

- ⇒ **Ne pas Congeler le sang total**
- ⇒ **Ne pas laisser les tubes de sang ouverts sur la paillasse**
- ⇒ **Ne pas secouer le tube de sang total**
- ⇒ **Ne pas mettre les formulaires d'enquête au contact de (s) échantillon (s)**

Techniques au Laboratoire



**Nécessité d'un laboratoire de type P4
(ou P3 amélioré)**



Mesures de confinement des laboratoires

Conception et
équipement
du laboratoire
de
microbiologie
(Mesures de
confinement)

MESURES DE CONFINEMENT A METTRE EN ŒUVRE DANS LES LABORATOIRES DE RECHERCHE, DE DÉVELOPPEMENT ET D'ENSEIGNEMENT	NIVEAUX DE CONFINEMENT		
	2	3	4
A Conception du laboratoire			
1. Signalisation du laboratoire (pictogramme " danger biologique ").	Oui	Oui	Oui
2. Laboratoire séparé des autres locaux au moins par une porte.	Oui	Oui	Oui
3. Accès au laboratoire via un sas. * (oui si pression négative)	Non	Optionnel *	Oui
4. Accès réglementé et verrouillable. - Accès possible pour les seuls travailleurs autorisés.	Oui	Oui	Oui par sas
5. Possibilité de fermer hermétiquement le lieu de travail pour permettre la désinfection.	Optionnel	Oui	Oui
6. Filtration de l'air extrait du lieu de travail (filtre HEPA) avec évacuation de l'air à l'extérieur.	Non	Oui	Oui
7. Filtration de l'air entrant dans le lieu de travail.	Non	Optionnel	Oui
8. Présence d'une fenêtre d'observation ou d'un système équivalent permettant de voir les occupants.	Optionnel	Oui	Oui
9. Moyen de communication avec l'extérieur.	Non	Optionnel	Oui
10. Maintien d'une pression négative dans le laboratoire par rapport aux zones voisines.	Non	Oui (1)	Oui
11. Système d'alarme pour détecter tout changement inacceptable de la pression de l'air.	Non	Oui	Oui
12 Approvisionnement en énergie électrique de secours.	Non	Optionnel	Oui



**Pictogrammes
De
Sécurité**

Risques biologiques





Mesures de confinement des laboratoires

Conception et
équipement
du laboratoire
de
microbiologie
(Mesures de
confinement)

MESURES DE CONFINEMENT A METTRE EN ŒUVRE DANS LES LABORATOIRES DE RECHERCHE, DE DÉVELOPPEMENT ET D'ENSEIGNEMENT	NIVEAUX DE CONFINEMENT		
	2	3	4
A Conception du laboratoire			
B Aménagements internes			
C Pratiques opératoires			
1. Stockage des agents biologiques en lieu sûr.	Oui	Oui	Oui lieu protégé
2. Manipulation des matières infectées et de tout animal contaminé dans un système approprié de confinement (5)	Optionnel	Oui	Oui
3. Utilisation de conteneurs spécifiques pour aiguilles contaminées, objets piquants ou tranchants souillés.	Oui	Oui	Oui
4. Minimisation de la formation d'aérosols.	Oui	Oui	Oui
5. Contrôle de la dissémination des aérosols formés.	Minimiser	Empêcher	Empêcher
6. Gants	Optionnel	Oui	Oui
7. Inactivation du matériel contaminé et des déchets.	Oui	Oui	Oui
8. Sortie du laboratoire après décontamination des équipements susceptibles d'être contaminés (centrifugeuses, PSM _{ou})	Oui	Oui	Oui
9. Inactivation des effluents des éviers et des douches.	Non	Oui	Oui

Oui : exigence. Non : pas d'exigence. Optionnel : doit être décidé, au cas par cas

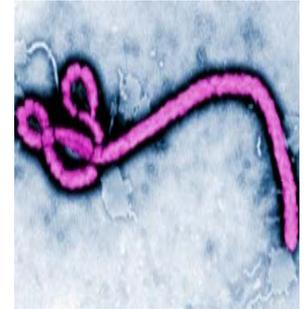
Classe de risque des virus

Groupe de risque	Risque Infectieux	Risque de propagation dans la collectivité	Prophylaxie ou traitement efficace
1	Pas de pathologie	Sans objet	Sans objet
2	Peuvent provoquer une maladie	Peu probable	Oui
3	Peuvent provoquer une grave maladie	Probable	Généralement possible
4	Provoquent une maladie grave	Élevé	Non connu à ce jour

Exemples de virus pathogènes

Virus	Groupe	Vaccin
Adénovirus	2	-
CMV	2	-
VZV	2	+
EBV	2	-
HPV	2	-
Rougeole	2	+
Oreillons	2	+
HBV	3	+
HCV	3	-
HIV	3	-
HTLV	3	-
Rage	3	-
Fièvre jaune	3	+
Fièvres hémorragiques (Virus Ebola ...)	4	-

Techniques au Laboratoire



➤ **PCR (RT-PCR)**

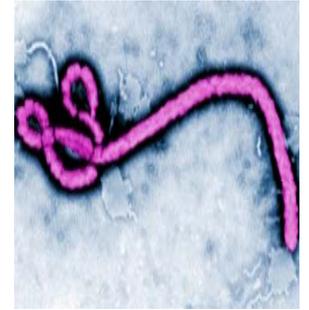
Détecte ARN viraux dans le sang ou les tissus à la phase aiguë.

Séquençage permet de typer les souches virales.

➤ **ELISA:**

Détecte antigène circulant dans le sang ou présent dans les pièces nécropsiques.

Techniques au Laboratoire



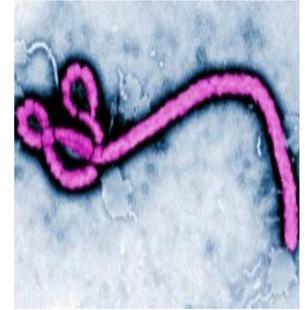
➤ **Microscopie électronique**

Détecte le virus dans les tissus, les prélèvements biologiques et les isolations en culture cellulaire.

➤ **Culture cellulaire:**

Sur cellules Vero E6 . ECP (7 à 10 jours) pas toujours évident, confirmation par IFD.

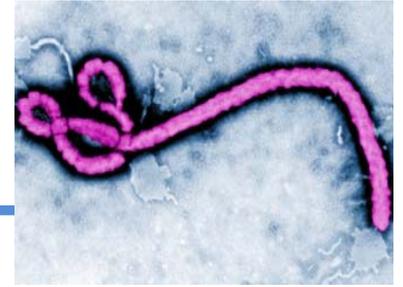
Techniques au Laboratoire



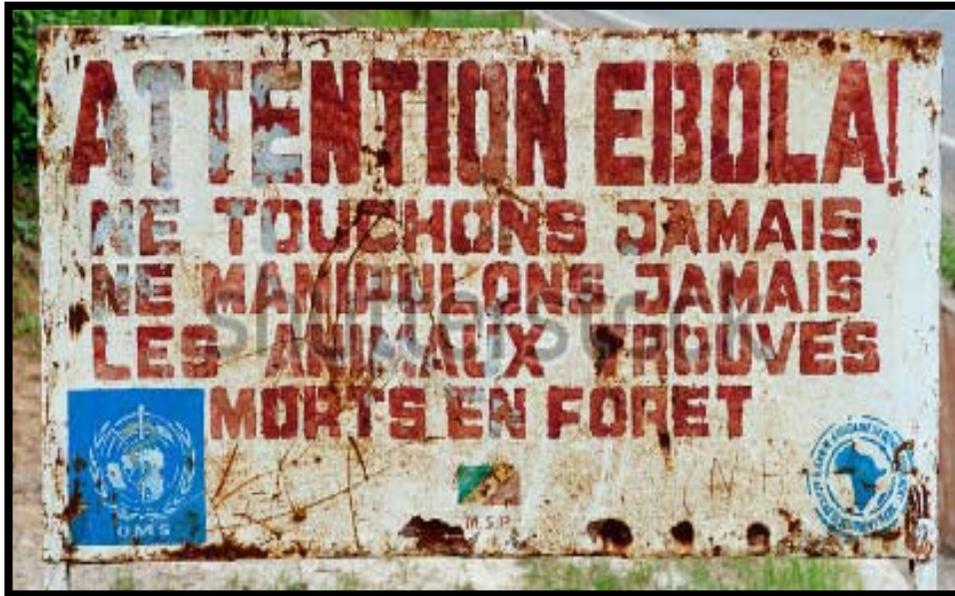
➤ **Sérologie**

- **Tests ELISA de capture d'IgM et de détection d'IgG spécifiques**
- **Tests utilisant antigènes viraux inactivés**
- **Bonne spécificité et sensibilité mais positive tardivement**

Conclusion :



- **Virus fragile mais hautement pathogène**
- **Triple emballage obligatoire pour le transport**
- **Confirmation par un laboratoire spécialisé (IPD)**



**Nous vous remercions pour votre
aimable attention**

