LES LEÇONS DE L'EPIDEMIE A VIRUS MARBURG A DURBA, REPUBLIQUE DEMOCRATIQUE DU CONGO (1998-2000)

H. ZELLER

• *Travail du Centre National de Référence/Centre Collaborateur OMS pour les Arbovirus et les Virus des Fièvres Hémorragiques (H.Z., Chef de Service), Institut Pasteur, Paris.*

• *Correspondance : H. ZELLER, Centre National de Référence/Centre Collaborateur OMS pour les Arbovirus et les Virus des Fièvres Hémorragiques, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15 • Fax : 01 40 61 31 51 • e-mail : hzeller@pasteur.fr •*

Med. Trop. • 2000 • 60 • 23S-26S

En août-septembre 1967, à Marburg et Frankfurt, Allemagne, une épidémie survint parmi le personnel de laboratoires manipulant des singes *(Cercopithecus aethiops)* en provenance d'Ouganda, sous forme d'une maladie aiguë fébrile, compliquée de manifestations hémorragiques graves. Furent dénombrés 25 cas dont 7 décès (1,2). L'enquête montra que 20 de ces malades avaient été en contact avec le sang ou les organes des singes et que les 5 autres n'avaient été en contact qu'avec des suspensions de cellules rénales de ces singes. La contagiosité inter humaine se caractérisa par la survenue de 6 cas secondaires, dont 5 parmi le personnel médical soignant et un cas chez l'épouse d'un patient en convalescence deux mois plus tard, probablement contaminée par voie sexuelle (3). Un autre cas humain et un cas secondaire furent également signalés à Belgrade, Yougoslavie, en septembre 1967, avec une relation avec des singes de la même espèce provenant de la même ferme en Ouganda. Au total 32 cas furent rapportés, dont 7 cas secondaires et 7 décès (19 p. 100) (4).

Le virus isolé à Marburg n'a pas été relié à d'autres virus connus jusqu'en 1976, quand le virus Ebola fut identifié au Soudan et en République Démocratique du Congo (2). Les virus Marburg et Ebola présentent une morphologie et une structure virale voisines, mais n'ont aucune aucune parenté antigénique (5). Ils composent la famille des Filoviridae établie en 1982 au sein de l'ordre des Mononegavirales, virus constitués d'un ARN linéaire à brin négatif. Ils se présentent sous forme de long filaments de taille très variable comprise entre 1 300 à plus de 10 000 nm de longueur, et d'un diamètre uniforme d'environ 80 nm. Ce sont des virus enveloppés avec en surface des spicules de 7 à 10 nm. La nucléocapside est constituée d'un canal central de 20 nm de diamètre entouré d'une capside hélicoïdale striée de 50 nm. L'acide nucléique code pour 7 protéines : la protéine L de 180 kd ou polymérase, la glycoprotéine GP de 125 kd, la nucléoprotéine de 104 kd et 4 protéines désignées respectivement VP40, VP35, VP30 et VP24 (4).

Le virus Marburg est facilement inactivé par la chaleur 1 h à 56°C ou 30 mn à 60°C, par les détergents, les solvants des lipides et les antiseptiques (formaldéhyde, glutaraldéhyde, ammoniums quaternaires, eau de javel), et par irradiation gamma. Il survit pendant 2 semaines dans des échantillons de sang à la température ambiante.

Le début de la maladie, après une incubation estimée entre 3 et 9 jours, est généralement brutal avec une température élevée à 40°C, accompagnée de céphalées frontales et temporales, de myalgies à prédominance lombaire, d'une conjonctivite avec photophobie et de malaise. Nausées, vomissements et diarrhées sont observés à partir du troisième jour, ainsi qu'une leucopénie et une thrombocytopénie, une éruption maculo-papuleuse vers le cinquième ou le sixième jour au niveau de la face, du tronc et des membres (6). A ce stade, peuvent apparaître dans les formes graves des manifestations hémorragiques de type épistaxis, hématémèses, melena, hématurie des voies génitales, hémorragies au point d'injection. Le décès survient par défaillance cardio-vasculaire, par insuffisance rénale aiguë ou par hémorragies digestives profuses ; sinon la convalescence est longue et pénible. La persistance du virus dans le sperme a été observée dans 2 cas pendant des semaines, et chez un malade avec rechute 2 mois plus tard (uvéite).

L'épisode de Marburg a montré d'emblée l'importance des transmissions interhumaines : 7 cas (19 p. 100), dont 5 parmi le personnel soignant (3). Les investigations sérologiques conduites en Ouganda en 1967 n'ont pas permis de démontrer que les singes étaient le réservoir du virus.

Le premier cas humain en Afrique fut identifié en 1975 à Johannesburg : un jeune Australien, suite à un séjour au Zimbabwe début février 1975 puis en Afrique du sud, tomba malade et fut hospitalisé le 15 janvier à Johannesburg où il décéda le 18 février (7). Sa compagne qui l'accompagnait ainsi que l'infirmière qui le soigna tombèrent malades respectivement les 20 et 24 février, mais récupérèrent. L'infirmière développa une uvéite 80 jours après le début des symptômes, avec isolement du virus de la chambre antérieure de l'œil. Par la suite, des cas sporadiques ont été rapportés au Kenya : 2 cas dont 1 décès en 1980 et 1 cas mortel en août 1987. Un ingénieur français travaillant dans une sucrerie à Nzoia près de Bungoma (province occidentale) tomba malade le 8 janvier 1980 (8). Hospitalisé à Kisumu, il fut transféré à Nairobi le 15 où il décéda peu après, avec un diagnostic d'hépatite fulminante et complications hémorragiques. Le médecin qui le soigna tomba malade 9 jours plus tard. Le virus fut isolé dans le sérum au sixième jour de la maladie avec présence également d'anticorps dont le titre augmenta ultérieurement. Il fut retrouvé uniquement

dans le liquide séminal 2 mois après le début de la maladie. En 1987, un jeune Danois de 15 ans en visite chez ses parents à Kisumu visita les 1er et 2 août Kitale ainsi que la grotte Kitum et ses environs au Mont Elgon avec sa famille (6,9). Il se rendit également à Mombasa le 8 août. Il fut hospitalisé le 13 août et décéda le 20. Les enquêtes séro-épidémiologiques, réalisées autour de ces cas, n'ont pas permis d'établir l'origine de la contamination.

L'EPIDEMIE DE DURBA

Fin avril 1999, une épidémie de fièvre hémorragique fut signalée à Watsa, région du Haut Uélé dans la province orientale (chef-lieu : Kisangani), République Démocratique du Congo (10). Le médecin de secteur détecta les premiers cas dès novembre 1998 et alerta à plusieurs reprises ses autorités devant l'urgence de la situation. La maladie touchait essentiellement des mineurs jeunes exploitant illégalement des mines d'or à Durba, avec quelques cas secondaires. Le décès du médecin en avril 1999 fut à l'origine de l'alerte lancée sur la scène internationale. L'ONG Médecins sans Frontières (MSF) Hollande fut la première sur les lieux et fit rapidement part de la situation ; sa logistique permit l'acheminement des premiers prélèvements sur Kampala puis Johannesburg et ainsi la détermination rapide de l'étiologie. L'OMS coordonna l'intervention internationale depuis Kinshasa et Kampala. L'accès à la région de Durba à partir de Kampala (Ouganda) située à 2 heures d'avion fut privilégié, l'accès par voie routière étant difficile. Grâce à l'appui du Haut-Comité aux Réfugiés, après accord entre les deux partis en conflit, deux vols classés «historiques» permirent également aux équipes congolaise/Organisation Mondiale de la Santé, puis française, de rejoindre la zone de Durba à partir de Kinshasa via Goma. Les arrivées de l'équipe internationale s'échelonnèrent entre le 8 et le 13 mai, comportant outre des personnes de MSF, des membres de l'OMS Genève, Harare et Kinshasa, de l'Institut National de Recherche en Biologie (INRB) de Kinshasa, du Center for Disease Control d'Atlanta, de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, du National Institute of Virology (NIV) de Johannesburg et de l'Institut Pasteur et du Service de Santé des Armées (11). Le retard dans le déclenchement de l'alerte et la mortalité élevée ne permirent qu'une enquête rétrospective, dont les données sont demeurées imprécises, incluant probablement parmi les sujets suspects d'autres étiologies (shigellose, typhoïde). Parmi les rares survivants, certains avaient quitté la zone. Moins de 10 cas purent être confirmés au laboratoire en avril-mai 1999 (Tableau I).

Contexte géopolitique.

Le pays est en en guerre permanente depuis plusieurs années. La région a subi aussi les déplacements de populations du Rwanda voisin et la zone au nord (Soudan) est également instable (11). La zone de Watsa est sous occupation de l'armée ougandaise. Antérieurement, elle a connu un développement agricole important (plantations), mais aussi minier à Durba, village situé à 10 km au nord. La société des mines de Kilo et Moto, qui possède notamment un hôpital pour les employés à Watsa, proche de l'hôpital général de district, a été nationalisée. Elle a cessé peu à peu ses activités. Un partenariat conclu avec une société canadienne devait permettre un redémarrage des exploitations, qui est retardé par la situation politique précaire.

Alerte précoce et riposte tardive.

En novembre 1998, le médecin de l'hôpital général, le Dr Bonzali, diplômé de l'Université de Kisangani, en poste depuis deux ans à Watsa, observa deux cas mortels de « diarrhée rouge » chez des mineurs de Durba. Le praticien fit la liaison rapidement avec un syndrome similaire décrit en 1994. Il entreprit une enquête épidémiologique sur le terrain, dont les résultats n'ont pas pu être obtenus. En effet, en 1994, les médecins de Watsa notèrent des cas sporadiques mortels de « diarrhée rouge» frappant tout particulièrement des mineurs jeunes travaillant illégalement dans les mines d'or de Durba, bourgade située à 10 km au nord. La maladie fut baptisée « syndrome de Durba ». L'un des médecins, contaminé, décéda lors de son transfert par avion sur un autre hôpital. Deux infirmiers tombèrent également malades : l'un d'eux en réchappa après une longue convalescence ; chez ce dernier, la présence d'anticorps anti-Marburg (MBG) fut confirmée en 1999.

Tableau I - Episodes d'infections à virus Marburg.

Année	Pays	Localité	Cas total	Cas primaires n	Cas primaires décédés	Cas secondaires n	Cas secondaires décédés	Origine suspectée
1967	Allemagne, Frankfurt	Marburg	30	25	7	5	0	Singes d'Ouganda
1967	Yougoslavie	Belgrade	2	1	0	1	0	Singes d'Ouganda
1975	Zimbabwe?	Non précisée	3	1	1	2	0	Inconnue
1980	Kenya	Kisumu	2	1	1	1	0	Grottes du Mont Elgon?
1987	Kenya	Kisumu	1	1	1	0	0	Grottes du Mont Elgon?
Sous/total			38	29	10	11	0	
1994	R.D.Congo	Durba/Watsa	11?	NP		3	2	Activités d'orpaillage
1998-2000	R.D.Congo	Durba/Watsa	130	NP		5	3	Activités d'orpaillage

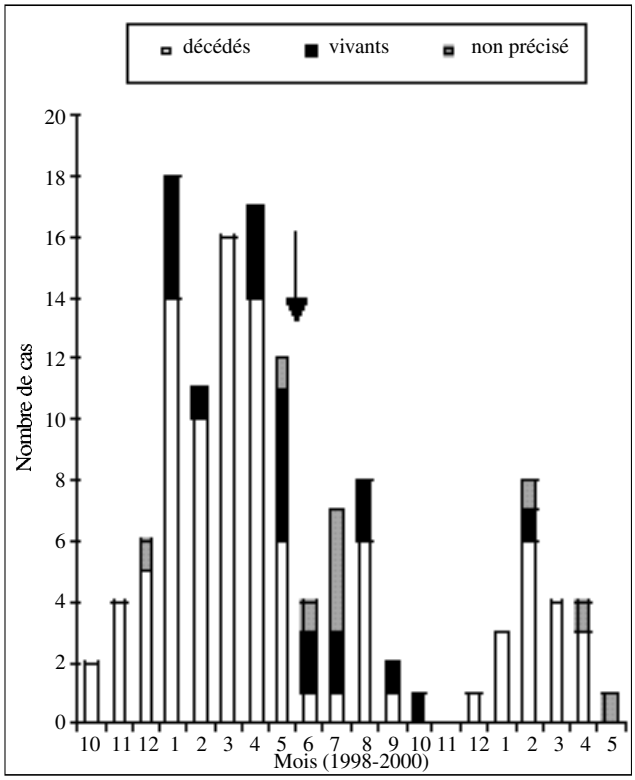

Figure 1 - Epidémie de Durba : répartition mensuelle des cas (octobre 1998-mai 2000.

L'enquête rétrospective montra que l'épidémie débuta en octobre 1998 (2 cas sans hospitalisation). Parmi les 12 cas premiers cas en 1998 dont 11 décès, tous étaient des hommes, d'âge moyen 34 ans, dont 11 travaillaient en tant qu'orpailleurs à Durba. En janvier 1999, le médecin avertit ses autorités de tutelle de l'urgence d'une enquête épidémiologique approfondie devant le nombre croissant de cas. Il envoya un nouveau message pressant le 12 mars 1999 quand plusieurs cas secondaires furent observés. Il tomba malade le 10 avril, avec fièvre, céphalées violentes, toux, une forte asthénie, puis des signes hémorragiques sous forme d'injections conjonctivales et d'hématémèse. Il fut transféré le 20 avril sur Gorumbi puis Isiro (situé à 340 km à l'ouest), où à son arrivée le 22 avril des prélèvements furent effectués. Il décéda le lendemain. Les prélèvements sanguins revinrent en glacière sur Watsa, puis furent expédiés par l'Ouganda sur Johannesburg au NIV pour investigation avec d'autres échantillons. Deux centres d'isolement et de traitement des malades suspects furent installés, ainsi que la formation du personnel soignant dans un premier temps.

Au total, d'octobre 1998 à mai 2000, plus de 130 cas ont été dénombrés, dont plus de 30 confirmés au laboratoire, d'âge moyen 27 ans, principalement des hommes (69 p. 100) dont les deux tiers sont orpailleurs (Fig. 1). La grande majorité des cas (80 p. 100) proviennent de Durba. Les décès représentent 71 p. 100 des cas connus. L'âge moyen pour les cas d'octobre 1998 à octobre 1999 est de 27,0 ans. N'ont été pris en compte depuis fin 1999 que les cas confirmés (R.E. Swanepoel, comm. pers.). La durée de la maladie était de 6 à 7 jours avant le décès. Cinq cas d'infections nosocomiales, dont 4 décès, ont été répertoriés, 1 en mars 1999 et 1 en avril, puis 3 cas en février-mars 2000. Malgré les enseignements prodigués en mai 1999, et les mesures prises (mesures qui n'ont pas forcément été adoptées) en matière d'isolement, d'hygiène et de soins aux patients, les atteintes du personnel soignant se poursuivirent en 2000 (Fig. 1).

Clinique.

Les données essentiellement définies de façon rétrospective montrent que l'infection se caractérise par une maladie fébrile aiguë avec céphalées, douleurs musculaires, toux, diarrhée, gastro-entérite hémorragique, hématémèse, gingivorragie et/ou injection conjonctivale. Néanmoins, une patiente admise pour un syndrome méningé décéda rapidement. Un prélèvement intracardiaque post-mortem pratiqué à titre systématique, permit le diagnostic d'infection à virus Marburg (11). Une enquête en population générale réalisée en mai 1999 à Durba montra, sur plus de 1 000 personnes interrogées et prélevées, dont plus de 400 orpailleurs, l'absence de porteurs d'anticorps anti-Marburg à l'exception d'un homme, orpailleur à temps partiel. Ceci montre que les cas cliniques asymptomatiques d'infection à virus Marburg sont très rares.

Etudes virologiques

Le diagnostic est réalisé par RT-PCR avec plusieurs couples d'amorces au niveau de VP35 principalement, mais aussi L et NP, par isolement viral, antigène capture et sérologie Elisa IgG et IgM, ainsi que par recherche virale au niveau des biopsies. Parmi la douzaine de biopsies de peau effectuées depuis janvier 2000, les deux tiers sont positives, réalisées entre les troisième et huitième jours de la maladie. Les études génomiques, réalisées à partir des prélèvements positifs, montrent que plusieurs virus différents co-circulent. Les arbres phylogéniques apparaissent similaires, que ce soit dans la région codant pour VP 35, L ou NP avec des isolats proches de chacun des autres virus antérieurement isolés : Kenya 1980, Ouganda 1967, Zimbabwe 1975, Kenya 1987 (12).

Réservoir du virus.

Le réservoir du virus Marburg, comme celui d'Ebola, demeure méconnu ainsi que le mode de contamination (13). Des singes furent identifiés à l'origine d'un seul épisode de Marburg en Allemagne et en Yougoslavie, mais ils ne peuvent être considérés comme réservoir car ils sont susceptibles au virus et meurent. Au Kenya, des anticorps anti-Marburg ont été détectés chez 4 sur 136 singes verts *Cercopithecus aethiops* et 1 sur 184 babouins *Papio cyanocephalus* par immunofluorescence dans quatre instituts abritant des singes (14). Dans la grotte Kitum du Mont Elgon au Kenya, où un cas s'est probablement infecté en 1980, aucune trace de virus Marburg ne fut identifiée chez des singes sentinelles. Autour de la mine de Gorumbwa, plus de 500 chauve-souris de 7 genres différents, dont principalement des *Rhinolophus* (44

p. 100) et des *Rousettus* (42 p. 100), et une trentaine de rongeurs ont été capturés en mai et octobre 1999. Les recherches par RT-PCR et détection d'anticorps sont restées négatives.

Contexte d'une émergence.

La mine principale de Gorumbwa semble être le site de contamination principal sinon unique, mais les orpailleurs restent toujours très évasifs quant aux lieux exacts de prospection. Néanmoins, l'émergence de cette virose pourrait être liée à des modifications importantes dans les conditions d'exploitation de la mine de Gorumbwa. Dès 1992-1993, des tâcherons ont été admis à pénétrer dans la mine, pour seconder les mineurs légaux. Ils descendaient dans la mine par les ascenseurs, puis au fil des mois, par les galeries annexes. Des cas de fièvre hémorragique apparurent début 1994 parmi ces orpailleurs. La guerre civile, en 1997, entraîna l'arrêt progressif de l'exploitation industrielle, déclenchant une véritable ruée vers l'or de jeunes orpailleurs illégaux venant d'horizons très divers, travaillant au mépris de toute règle de sécurité, sans aucune planification. Les mineurs travaillent souvent en petites équipes de deux ou trois et restent parfois plusieurs jours au même endroit, augmentant ainsi les temps d'exposition et de contact potentiels, gardant leur territoire de prospection. Les mineurs ont attaqué les piliers principaux qui soutiennent la voûte de la galerie principale, car ces derniers sont situés dans le filon même. En octobre 1999, un éboulement se produisit, entraînant la mort d'au moins une trentaine de personnes. Dans de telles conditions, toute étude de tout type à l'intérieur de la mine est irréalisable. L'arrêt du pompage de l'eau par la société dans les galeries inférieures représente également un facteur important de déplacement progressif de tous les «habitants» de la mine dans un espace de plus en plus restreint.

CONCLUSIONS

Voici plus d'un an qu'une endémie par un filovirus a été confirmée à Durba. Le bilan des actions sur le terrain et des connaissances sur le virus et son épidémiologie est mitigé :

- Deux sites pour l'isolement et le traitement des malades ont été installés, mais le suivi des patients et les soins apportés restent déficients (manque de moyens). L'utilisation de ribavirine n'est pas promue.

- Les manifestations cliniques très diverses rendent difficile le diagnostic sur place sans aucune confirmation de laboratoire. Les transmissions inter humaines et nosocomiales ne sont pas contrôlées malgré les actions initiées. La mortalité est élevée, proche de 80 p. 100 au lieu des 26 p. 100 observés dans les épisodes antérieurs.

- Les communications n'ont pas été améliorées significativement. Les prélèvements pour confirmation doivent être expédiés par Kampala sur l'Afrique du Sud. Quel est le retour d'information sur place ?

- Les études épidémiologiques autour de chaque cas ne sont pas systématiques. Les enquêtes en population générale montrent que les infections asymptomatiques sont rares.

- Un site unique de contamination a été identifié ; l'infection semble liée à une activité souterraine selon un mode sporadique. La recherche du réservoir entreprise chez les chauve-souris et rongeurs collectés autour du site présumé est restée négative.

- Le diagnostic par RT-PCR a été optimisé de même que les tests sérologiques. Ainsi, plusieurs virus différents ont été identifiés dans cette épidémie, laissant supposer des sources de contamination différentes.

- Le virus Marburg, comme Ebola, est présent au niveau de la peau chez l'homme.

Depuis plusieurs mois, l'OMS cherche à installer une base logistique permanente indispensable pour un suivi correct de patients avec des soins adéquats, une enquête épidémiologique systématique autour des cas récents, un suivi des contacts et des études écologiques en continu. Cependant, les conditions de guerre actuelles dans la province empêchent la réalisation de ce projet.

REFERENCES

1 - BONIN O. - The Cercopithecus monkey disease in Marburg and Frankfurt (Main) 1967. *Acta Zool. Pathol. Antverp.* 1969 ; **48** : 319-331.

2 - KISSLING R.E., MURPHY F.A., HENDERSON B.E. - Marburg virus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1970 ; **174** : 932-945.

3 - SMITH C.E. - Lessons from Marburg disease. *Sci. Basis Med. Annu. Rev.* 1971 ; 58-80.

4 - FELDMANN H., SLENCZKA W., KLENK H.D. - Emerging and re-emerging of filoviruses. *Arch. Virol.* 1996 ; **11 Suppl.** : 77-100.

5 - KILEY M.P., BOWEN E.T., EDDY G.A. et Coll. - *Filoviridae* : a taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology* 1982 ; **18** : 24-32.

6 - SLENCZKA W.G. - The Marburg virus outbreak of 1967 and subsequent episodes. In «KLENK H. - Marburg and Ebola viruses». Springer ed., Berlin, 1999, pp 49-75.

7 - GEAR J.S., CASSEL G.A., GEAR A.J. et Coll. - Outbreak of Marburg virus disease in Johannesburg. *Br. Med. J.* 1975 ; **4** : 489-493.

8 - SMITH D.H., JOHNSON B.K., ISAACSON M. et Coll. - Marburg virus disease in Kenya. *Lancet* 1982 ; **i** : 816-820.

9 - JOHNSON E.D., SILVERSTEIN D., JOHNSON B.K. et Coll. - Characterization of a new Marburg virus isolated from a 1987 fatal case in Kenya. *Arch. Virol.* 1996 ; **11 Suppl.** : 101-114.

10 - ANONYMOUS - Marburg fever, Democratic Republic of the Congo. *REH* 1999 ; n° 19 :145.

11 - BERTHERAT E., TALARMIN A., ZELLER H. ET LE COMITE INTERNATIONAL DE COORDINATION SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DE L'EPIDEMIE DE DURBA - La République du Congo : entre guerre civile et virus Marburg. *Med. Trop.* 1999 ; **59** : 201-204.

12 - SANCHEZ A., TRAPPIER S.G., STROHER U. et Coll. - Variation in the glycoprotein and VP35 genes of Marburg virus strains. *Virology* 1998 ; **240** : 138-146.

13 - MONATH T.P. - Ecology of Marburg and Ebola Viruses: speculations and directions for future research. - *J. Infect. Dis.* 1999 ; **179 Suppl. 1** : S127-S138.

14 - JOHNSON B.K., GITAU L.G., GICHOGO A. et Coll. - Marburg, Ebola and Rift Valley Fever virus antibodies in East African primates. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1982 ; **76** : 307-310.