

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo : l'essentiel pour le praticien

Flusin O¹, Iseni F¹, Rodrigues R², Paranhos-Baccalà G², Crance JM¹, Marianneau P³, Bouloy M⁴, Peyrefitte CN^{1,2,5}

1. Unité de virologie, Institut de Recherche Biomédicale des Armées-CRSSA antenne de Grenoble, La Tronche
2. Laboratoire des pathogènes émergents, Fondation Mérieux, Lyon
3. CNR des fièvres hémorragiques virales UBIVE, Lyon
4. Institut Pasteur, Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus, Paris
5. Equipe P4 défense résidente, Lyon

Med Trop 2010; **70** : 429-438

RÉSUMÉ • La fièvre hémorragique de Crimée-Congo (FHCC) est une maladie transmise par des tiques qui est répartie sur plus d'une trentaine de pays en Europe, en Asie et en Afrique. L'agent causal est le virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (VFHCC) du genre *Nairovirus* (famille des *Bunyaviridae*), qui est caractérisé par une grande variabilité génétique. L'homme se contamine par morsure de tique ou par contact avec des fluides biologiques d'animaux ou de sujets infectés. Le tableau clinique est marqué par des symptômes initiaux peu spécifiques puis une progression vers une phase hémorragique qui peut engager le pronostic vital dans 10 à 50 % des cas. Les signes biologiques montrent classiquement une thrombopénie, une élévation des enzymes de cytolysse hépatique ou musculaire et de cholestase ainsi que des troubles de la coagulation. La pathogenèse est encore mal comprise mais elle pourrait être associée à une production élevée de médiateurs solubles tels que des cytokines pro-inflammatoires et un dysfonctionnement de la réponse immunitaire innée. Le diagnostic de certitude repose sur l'isolement viral, la détection du génome par des techniques moléculaires (RT-PCR) ou la détection d'anticorps anti-VFHCC par sérologie. Il n'existe aucun traitement spécifique de la maladie et à ce jour, l'efficacité de la ribavirine reste controversée. En l'absence de vaccin, la prophylaxie est basée essentiellement sur la lutte antivectorielle, la protection et l'information des populations et des personnels soignants.

MOTS-CLÉS • *Bunyaviridae*. *Nairovirus*. Crimée-Congo. Fièvre hémorragique virale. Tique.

CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER: BASICS FOR GENERAL PRACTITIONERS

ABSTRACT • Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) is a tick-borne disease described in more than 30 countries in Europe, Asia and Africa. The causative agent is the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) that is a member of the genus *Nairovirus* of the family *Bunyaviridae*. CCHFV that is characterized by a high genetic variability is transmitted to humans by tick bites or contact with fluids from an infected individual or animal. The initial symptoms of CCHF are nonspecific and gradually progress to a hemorrhagic phase that can be lethal (case-fatality rate: 10 to 50%). Characteristic laboratory findings of CCHF are thrombocytopenia, elevated liver and muscle enzymes, and coagulation defects. The pathogenesis of CCHF remains unclear but might involve excessive pro-inflammatory cytokine production and dysfunction of the innate immune response. Diagnosis of CCHF is based mainly on isolation of the virus, identification of the viral genome by molecular techniques (RT-PCR), and serological detection of anti-CCHFV antibodies. There is currently no specific treatment for CCHFV infection and the efficacy of ribavirin is controversial. In absence of an effective vaccine, prevention is based mainly on vector control, protection measures, and information to increase the awareness of the population and of healthcare workers.

KEY WORDS • *Bunyaviridae*. *Nairovirus*. Crimean-Congo. Viral hemorrhagic fever. Tick.

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo (FHCC) est une zoonose virale d'importance croissante. Transmise par des tiques, elle est fatale pour l'homme dans 10 à 50 % des cas et est largement répandue en Europe du Sud-est, en Afrique, au Moyen-Orient et en Asie (1, 2). L'agent responsable de la maladie est le virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (VFHCC) qui est un virus de classe 4, listé par le CDC (Centers for Disease Control and prevention) dans la catégorie C des agents du bio-terrorisme (2). Ce virus est à l'origine d'infections à fort potentiel nosocomial faisant couramment des victimes chez le personnel

soignant. Ces contaminations résultent de mauvaises conditions d'hygiène dans les structures hospitalières et/ou d'une méconnaissance de la maladie, de ses modes de transmission ou de son diagnostic. Pour les pays endémiques, la FHCC pose un véritable problème de santé publique d'autant plus que depuis dix ans, on assiste à une recrudescence des cas sporadiques et des épidémies particulièrement en Iran, en Turquie et en ex-Yougoslavie (3). En outre, cette maladie est susceptible de représenter une menace pour la France pour deux raisons principales : (i) un risque d'importation par des sujets infectés ayant séjourné en zones d'endémie ou par des tiques ou des animaux infectés ; (ii) un risque de transmission aux personnels militaires déployés dans des régions où circule le virus. Dans cette revue, nous nous proposons d'apporter

au praticien les éléments essentiels concernant la FHCC qui mérite d'être mieux connue. Nous décrirons plus particulièrement les aspects épidémiologiques, cliniques et physiopathologiques de la maladie ainsi que le diagnostic de certitude. Les moyens de lutte contre l'infection seront également discutés.

Historique

Les premières descriptions de FHCC remontent au 12^e siècle, dans une région correspondant à l'actuel Tadjikistan. A cette époque déjà, l'implication des poux et des tiques dans la transmission de la maladie fut évoquée (1, 4). Au XX^e siècle, durant la seconde guerre mondiale, une infection jusque là inconnue dans la pénin-

• Correspondance : o.flusin@crssa.net
• Article reçu le 2/03/2010, définitivement accepté le 9/07/2010.

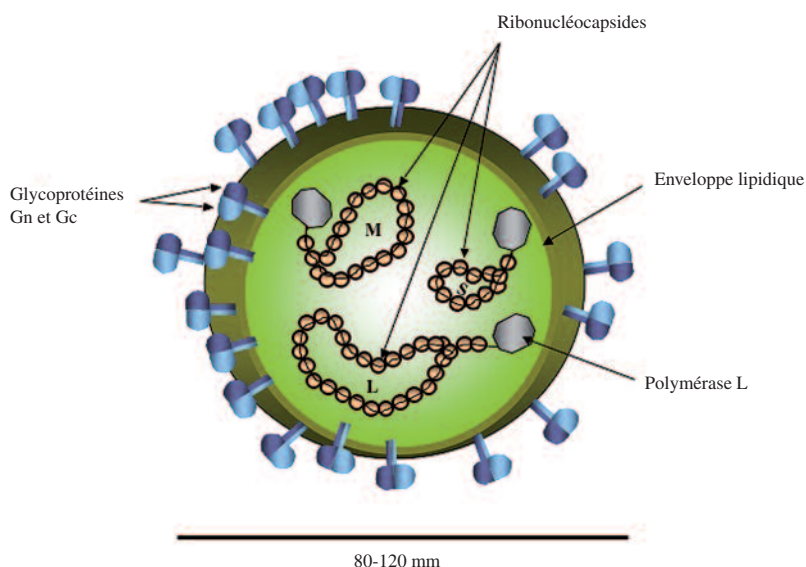


Figure 1. Représentation schématique de la structure du VFHCC.

sule de Crimée toucha environ 200 militaires de l'ex Union-Soviétique venus aider des exploitants agricoles pour les récoltes (2). Les sujets présentèrent une fièvre associée, pour certains, à une prostration et pour d'autres à des hémorragies sévères entraînant la mort dans 10 % des cas. La plupart d'entre eux déclarèrent avoir été mordus par des tiques. Cette infection fut alors appelée fièvre hémorragique de Crimée (FHC) (4). En 1956, un nouveau virus fut isolé au Congo belge (actuelle République Démocratique du Congo) à partir d'un patient fébrile puis du médecin l'ayant suivi ; il fut nommé virus Congo (5).

L'équipe de Chumakov isola, pour la première fois en 1967, le virus de la FHC sur des souriceaux nouveau-nés inoculés avec du sang de patients en phase aiguë (6). En 1969, Casals et Chumakov démontrèrent que les virus isolés en Crimée et au Congo étaient sérologiquement identiques (6-8). Ils furent alors nommés virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (4). Durant 30 ans, le VFHCC ne s'est manifesté que de manière sporadique en Afrique, en Europe du sud-est, au Moyen-Orient et en Asie (1). Cependant, depuis le début du 21ème siècle, on observe une incidence accrue du nombre de cas et une extension des zones géographiques de séroprévalence humaine et animale et de présence de tiques infectées (1, 9). Cette infection constitue une préoccupation majeure de santé publique pour des pays endémiques comme l'Iran avec 528 cas notifiés depuis 10 ans (10) et d'autres nations en Europe. Depuis 2002, la Turquie a déclaré 4400 cas confirmés de FHCC avec des taux de mortalité pouvant atteindre 60 % en 2008-2009 (11). La

Fédération de Russie a enregistré 1 300 cas entre 2000-2009 (11). En Bulgarie, plus de 1500 cas (17 % de décès) ont été enregistrés depuis 1953 (11). Des épidémies ont éclaté au Kosovo en 2001 et 2009-2010 ainsi qu'en Albanie en 2001-2003 (12-14). Les premiers cas de FHCC ont été diagnostiqués en France en 2004 (cas importé du Sénégal) (15, 16) et en Grèce en 2008 (3, 11). Compte tenu de son potentiel d'émergence, l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) a déclaré la FHCC comme l'une des maladies prioritaires pour l'Union Européenne (3). En outre, cette infection représente un risque non négligeable pour les pays occidentaux qui déplacent des personnels dans ces

régions. En septembre 2009, un soldat américain déployé en Afghanistan est décédé de la FHCC après avoir été mordu par une tique (17).

L'agent causal

Le VFHCC appartient au genre *Nairovirus* de la famille des *Bunyaviridae*. Cette famille virale comprend également les Orthobunyavirus, Hantavirus, Phlebovirus et Tospovirus. Le genre *Nairovirus* regroupe 34 virus transmis par des tiques. Ils sont classés en 7 sérogroupes dont les plus importants sont le groupe FHCC qui comprend le VFHCC et le virus Hazara ainsi que le groupe Nairobi Sheep Disease (NSD) auquel appartient le virus NSD et le virus Dugbe. Le VFHCC et le virus NSD sont les seuls nairovirus connus pathogènes pour l'homme (1, 2, 18).

Les virions FHCC sont des particules enveloppées, plutôt sphériques, d'un diamètre d'environ 80-120 nm (figure 1). Le génome du virus est constitué de trois brins d'ARN monocaténaire de polarité négative (19), organisés sous forme de trois ribonucléoprotéines (RNPs) à structure hélicoïdale et d'apparence circulaire en raison de la complémentarité des extrémités 5' et 3'. Ces trois segments L (Large), M (Medium) et S (Short), codent respectivement l'ARN polymérase ARN-dépendante, les deux glycoprotéines d'enveloppe (Gn et Gc) et la nucléoprotéine (1, 18).

L'analyse des séquences génomiques du VFHCC a montré que les diffé-

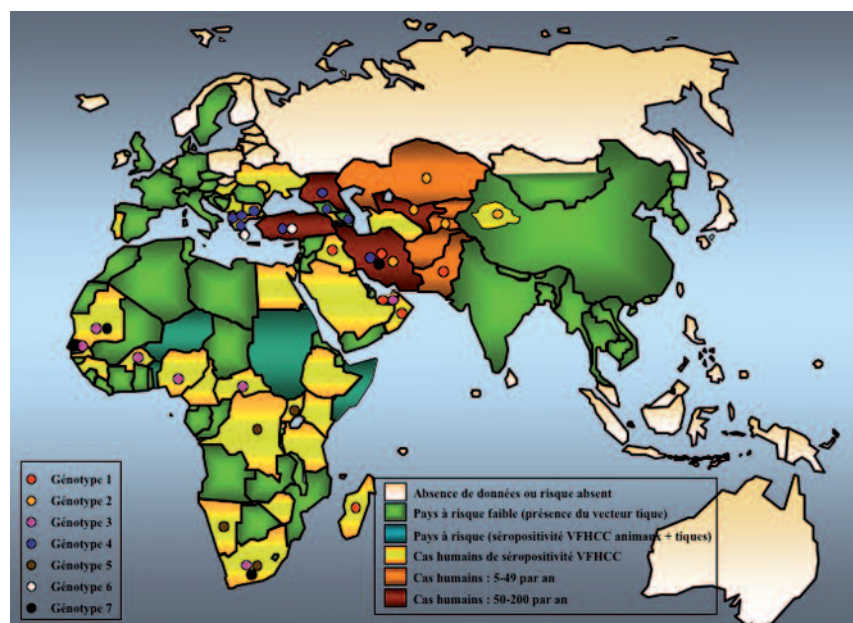


Figure 2. Distribution géographique de la FHCC et des génotypes du VFHCC.

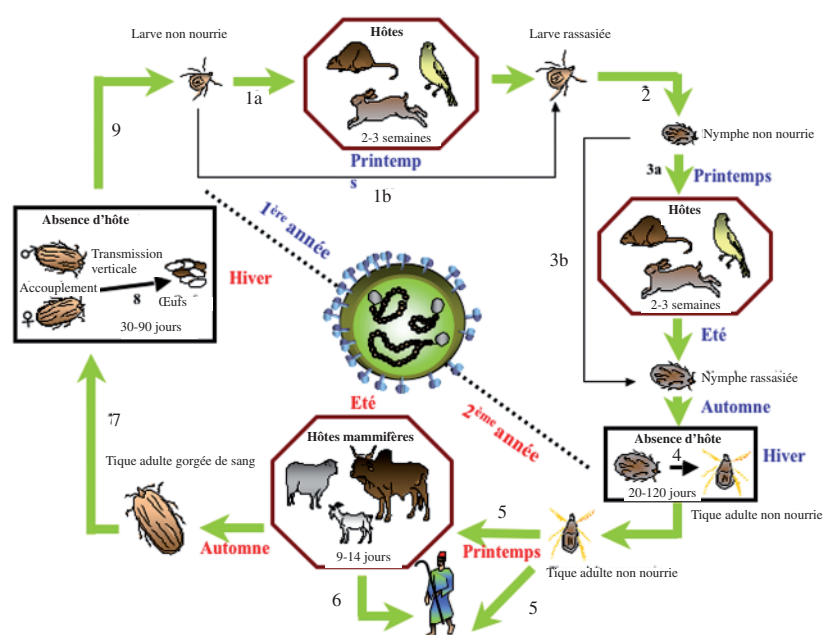


Figure 3. Cycle de circulation du VFHCC.

1a : une larve infectée se nourrit sur un petit mammifère pendant 2-3 semaines avant de retomber au sol dès qu'elle est gorgée de sang ; le petit mammifère devient infectueux ; 1b : le VFHCC peut être transmis à des larves naives au cours d'un repas sanguin sur un hôte réfractaire au virus (oiseaux) sur lequel se nourrissent des larves infectées ; 2 : la larve infectée se mue en une nymphe infectée (transmission trans-stadiale du virus) ; 3a : une nymphe infectée se nourrit sur un petit mammifère pendant 2-3 semaines avant de retomber au sol dès qu'elle est gorgée de sang ; 3b : des nymphes naives peuvent s'infecter au cours d'un repas sanguin sur un hôte réfractaire au virus (oiseaux) sur lequel se nourrissent des nymphes infectées ; 4 : la nymphe infectée se mue en une tique adulte infectée mâle ou femelle (transmission trans-stadiale du virus) pendant une période de 3 semaines (qui peut aller jusqu'à 4 mois si l'hiver s'installe) ; 5 : des tiques adultes se cachent dans le sol, cherchant un hôte potentiel en détectant certains signaux (CO₂, vibration, température du corps) puis assurent une transmission horizontale du virus en mordant un homme ou un autre grand mammifère ; 6 : l'homme peut s'infecter par contact avec des fluides biologiques ou des tissus provenant de grands vertébrés infectés ; 7 : des tiques femelles adultes naives s'infectent en s'accouplant avec des tiques mâles infectées (transmission sexuelle du virus) ; 8 : les femelles adultes infectées transmettent le virus à un certain nombre d'œufs issus de la ponte (plus de 7000 œufs) (transmission verticale) ; 9 : l'éclosion des œufs aboutit à la naissance de larves infectées mais aussi de larves non infectées.

rentes souches virales isolées dans diverses régions du monde et au cours de plusieurs épidémies, présentaient une grande variabilité et pouvaient être groupées en 7 génotypes (20-23). Une étude de 2010 fondée sur l'analyse de plus d'une centaine de séquences partielles issues du segment S a permis de considérer le VFHCC comme un pathogène circulant facilement d'un pays à un autre (24). Cette analyse a aussi montré une prédominance des génotypes 3-5-7 en Afrique, des génotypes 1-2 en Asie et Moyen-Orient, alors qu'en Europe circulent principalement les génotypes 4-6 (figure 2).

Epidémiologie

Répartition géographique

La FHCC est la maladie virale transmise par les tiques dont la zone d'extension géographique est la plus grande sans être exclusivement tropicale. La cir-

culatation du virus recoupe actuellement celle des tiques du genre *Hyalomma* (2, 4). Il reste encore un potentiel d'extension car ni la FHCC ni le VFHCC n'ont été détectés, à ce jour, en Amérique et en Australie. La FHCC sévit selon un mode endémique dans les biotopes de steppe, de savane et de semi-désert de plus de 30 pays en Afrique, en Europe du sud-est, au Moyen Orient et en Asie (2, 9) (figure 2). Il existe une recrudescence saisonnière estivale des cas sporadiques étroitement liée à des épisodes épi-zootiques chez les hôtes amplificateurs (mammifères sauvages et domestiques) (1). La FHCC peut aussi se manifester selon un mode épidémique qui résulte d'une propagation essentiellement nosocomiale (1).

Cycle de circulation du VFHCC : vecteur et réservoir

Le VFHCC a été détecté dans plusieurs espèces de tiques appartenant aux familles *Ixodidae* (tiques dures) ou

Argasidae (tiques molles) (2, 4). Toutefois, les tiques du genre *Hyalomma* (famille *Ixodidae*) constituent le principal réservoir du virus à long terme et le vecteur de la maladie (4, 25). La survenue de FHCC en Europe, en Asie et en Afrique coïncide avec la distribution géographique globale des tiques *Hyalomma*. Les tiques *Hyalomma marginatum marginatum* sont rencontrées plus spécialement en Europe du sud-est et pour la première fois en 2006, une femelle a été détectée dans le sud de l'Allemagne et au Pays-Bas (3, 26). Le virus peut persister pendant toute la vie de la tique et se transmet du stade larvaire au stade adulte (transmission trans-stadiale). Il existe également une transmission verticale et sexuelle, démontrées expérimentalement chez la tique *Hyalomma truncatum* (27). Enfin, des études ont montré que des tiques naives pouvaient s'infecter en réalisant un repas sanguin sur un hôte réfractaire au VFHCC sur lequel se nourrissent des tiques infectées (28).

Le VFHCC circule dans la nature selon un cycle enzootique tique-vertébré-tique (figure 3). Les grands vertébrés sauvages et domestiques, sur lesquels les tiques vont se gorger de sang, contribuent à l'amplification du virus et représentent les hôtes principaux des tiques adultes. Des enquêtes séroépidémiologiques réalisées dans des zones d'endémie ont mis en évidence une forte prévalence en anticorps anti-VFHCC chez les animaux d'élevage tels que les chevaux, les ânes, chèvres, moutons, bovins, ovins et cochons ainsi que chez de grands herbivores sauvages (girafes, rhinocéros, buffles). Par ailleurs, le VFHCC a été isolé à partir de nombreux petits mammifères sauvages (hérissons, lièvres, rongeurs, genettes), cibles privilégiées des tiques immatures (larves et nymphes) (1, 2, 4). Bien que de nombreuses espèces animales puissent être infectées, le VFHCC n'est pathogène que chez l'homme, le souriceau nouveau-née (29) et un modèle létal de souris génétiquement modifiée (30). La plupart des oiseaux semblent réfractaires à l'infection mais pourraient toutefois jouer un rôle dans la dissémination du VFHCC, en particulier les oiseaux migrateurs lorsqu'ils sont infestés par des tiques immatures infectées (31, 32). Les autruches sont la seule espèce aviaire connue pour être sensible à l'infection (33) et plusieurs cas de contamination humaine ont été déclarés au cours de deux épidémies survenues dans des élevages en Afrique du Sud (2).

Modes de transmission à l'homme

Il existe deux modes de transmission du VFHCC à l'homme : par morsure de tiques infectées et par contact d'une peau lésée (coupures et écorchures) ou d'une muqueuse avec des fluides biologiques ou des tissus infectés provenant : (i) de tiques écrasées ; (ii) d'animaux sauvages ou d'élevage durant la courte période de virémie ; (iii) de sujets malades en phase virémique, spécialement en milieu hospitalier (transmission interhumaine nosocomiale) (1, 2). Une transmission interhumaine est toutefois rarement retrouvée sauf si des conditions favorables sont réunies tels qu'une promiscuité avec un sujet malade présentant des hémorragies ou des comportements à risque réalisés dans des structures médicales en l'absence de précautions suffisantes (injection ou prélèvements sanguins effectués sans protection, actes chirurgicaux) (34-36). L'infection par voie aérienne a été évoquée lors de l'apparition de plusieurs cas en Russie, qui n'ont cependant pas fait l'objet d'une étude bien documentée (4, 25). Les cas secondaires sont rares et à l'heure actuelle, un seul cas tertiaire a été décrit lors d'une épidémie survenue en Albanie en 2001 (13). Des cas de transmission horizontale mère-enfant ont été rapportés par des équipes japonaises (37) et turques (38), cependant l'allaitement ne semble pas être une source de contamination pour le nourrisson (39).

Facteurs écologiques

L'analyse des différentes épidémies a permis d'identifier des facteurs écologiques (tels que le changement climatique et les bouleversements de l'écosystème) impliqués dans la prolifération des tiques et la survenue de FHCC (3, 40, 41). Dans l'hémisphère nord, la tique *Hyalomma marginatum marginatum* est particulièrement active après une augmentation de la température au printemps (avril-mai) et les tiques immatures se nourrissent préférentiellement en été, de mai à septembre (1, 40). Parmi les modifications de l'environnement pouvant bouleverser l'écosystème, on retrouve le réchauffement climatique, le délabrement des régions agricoles, les déplacements de population lors des conflits armés, l'introduction d'individus immunologiquement naïfs dans une zone d'endémie, la collectivisation massive de l'agriculture, l'aménagement des plaines d'inondation en terres arables et le contrôle des crues (1).

Populations à risques

Les fermiers au contact direct avec le bétail et autres animaux constituent le groupe le plus à risque en zone d'endémie (1, 9, 42). L'analyse d'épidémies récentes en Turquie a révélé que la maladie avait affecté les agriculteurs dans 90% des cas (43-45). Les personnels de santé forment le second groupe le plus touché par l'infection au VFHCC et notamment les personnels hospitaliers soignant des patients hémorragiques. Les interventions les plus risquées sont celles qui consistent à stopper des hémorragies gastro-intestinales et les opérations urgentes sur des patients infectés (1, 34, 46). Des travaux menés au Pakistan ont conclu que le sang est le produit le plus contaminant (47). Toutefois, des études récentes de séroprévalence sur des personnels de santé iraniens exposés ont montré une séropositivité plus fréquente chez deux catégories de sujets : ceux dont la peau saine a été en contact avec des fluides biologiques non sanguins et ceux qui ont eu des contacts percutanés (48). Les vétérinaires et les personnels travaillant dans des abattoirs destinés aux grands mammifères domestiques sont aussi des professions à risque. L'infection des sujets a lieu habituellement au cours de l'abattage (1, 49). La consommation

de viande provenant d'un animal infecté ne constitue pas un risque en lui-même puisque le virus est inactivé par l'acidification des tissus après la découpe et surtout par la cuisson (1). Enfin, tout individu pratiquant des activités (excursions, camping) en zones d'endémie est particulièrement exposé aux morsures de tiques (1, 9) et c'est la raison pour laquelle les militaires doivent être considérés comme une population à risque lorsqu'ils sont déployés dans ces régions.

Caractéristiques cliniques et biologiques de l'infection

Tableau clinique

L'infection par le VFHCC se manifesterait de manière inconstante puisque, d'après une ancienne étude russe, seule 1 infection sur 5 serait symptomatique (50).

Typiquement, le tableau clinique comporte trois phases successives : pré-hémorragique, hémorragique et convalescence (tableau 1). La durée de la période d'incubation varie de 1 à 6 jours selon la charge virale et le mode d'infection : elle est plus courte en cas de transmission vectorielle (4, 44, 51).

Tableau 1 : Manifestations cliniques et biologiques de la FHCC

Tableau clinique			
Incubation	Phase préhémorragique	Phase hémorragique	Convalescence
- 1-3 jours après morsure de tiques. - 5-6 jours après contact avec du sang ou autre liquide biologique.	Début brutal associant : - Syndrome pseudo-grippal : fièvre (39-41°C), frissons, céphalées et arthromyalgies. - Troubles digestifs : nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales diffuses. - Troubles de l'humeur : confusion, agressivité puis dépression et insomnie. Entre le 2 ^e et le 4 ^e jour : - Asthénie et somnolence. - Troubles cardiovasculaires : tachycardie, hypotension. - Lymphadénopathies, hépatomégalie, hépatalgies. - Hyperhémie : face, poitrine, conjonctive.	Entre le 3 ^e et le 6 ^e jour : - Hémorragies sous cutanées : pétéchies, ecchymoses au niveau des muqueuses et de la peau. - Hémorragies externes : épistaxis, hémoptysies, hématoméses, mélénas, hématuries, ménométrorragies. - Hémorragies internes : pulmonaire, rétro-péritonéale, intracrânienne. - Défaillance multiviscérale : insuffisance hépatorénale, insuffisance cardio-pulmonaire. Entre le 5 ^e et le 14 ^e jour - Décès au 10 ^e jour environ : 30 % des cas en moyenne. - Ou convalescence	Asthénie persistante, tachycardie, pouls labile, alopecie, polynévrite, xérostomie, amnésie, baisse de l'acuité visuelle, surdité.
Données biologiques			
Leucopénie, thrombopénie Elévation des ASAT-ALAT Elévation LDH, CPK Diminution de l'hémoglobine Troubles de la coagulation : allongement TP et TPPa, diminution fibrinogène, CIVD			

Abréviations : ALAT (alanine aminotransférase), ASAT (aspartate aminotransférase), LDH (lactate déshydrogénase), CPK (créatine phosphokinase), TP (temps de prothrombine), TPPa (temps de thromboplastine activée), CIVD (coagulation intravasculaire disséminée)

La phase pré-hémorragique dure entre 1 et 7 jours (3 jours en moyenne) (1, 4). Elle débute par un syndrome pseudo-grippal avec une fièvre élevée (39-41°C), frissons, des arthromyalgies et des céphalées (1, 2, 4), associé parfois à des troubles digestifs (25, 51, 52). Par la suite, la fièvre devient intermittente et persiste généralement 4 à 5 jours. Elle s'accompagne occasionnellement de troubles de l'humeur (51, 53). Entre le deuxième et le quatrième jour, la symptomatologie s'enrichit de désordres hépatiques et cardiaques (1). Récemment, un érythème noueux a également été rapporté chez un patient (54).

La phase hémorragique, dont le développement est rapide, débute entre le 3^e et le 6^e jour de la maladie. Aucun lien de causalité n'a été retrouvé entre la température du sujet fébrile et la survenue des hémorragies (1, 4). Cette phase se manifeste, dans un premier temps, par des pétéchies voire de larges ecchymoses, puis, rapidement divers types d'hémorragies externes apparaissent (1, 25). Le tableau clinique s'aggrave avec la survenue d'une hépatosplénomégalie (4) et surtout d'hémorragies internes : pulmonaires (alvéolaires et pleurales) (55-57), intra-abdominales ou intracérébrales (1, 2). Dans une étude récente menée en Turquie, des saignements sub-conjonctivaux et rétinien superficiels ont également été rapportés (58). Les formes cliniques sévères sont caractérisées par une insuffisance rénale, une déficience hépatique avec ictère et une détresse cardio-pulmonaire qui engagent le pronostic vital (42, 51, 59). Le décès survient dans 10 à 50% des cas (4, 10) entre le 5^e et le 14^e jour de la maladie (51). Une mortalité particulièrement élevée a été observée lors d'épidémies aux Emirats Arabes Unis (73%) et en Chine (80%) (52, 60). Cette variabilité pourrait s'expliquer par la présence de facteurs liés à l'hôte ou de co-infection (un terrain débilite), par des différences d'accessibilité et de qualité des systèmes de santé et, potentiellement, par des différences de virulence des souches virales. Toutefois, aucune corrélation entre la sévérité des symptômes et une souche particulière n'a été établie (61).

Pour les patients dont l'issue est favorable, la phase de convalescence apparaît 10 à 20 jours après le début de l'infection et peut être très longue. Elle est caractérisée par la persistance, pendant une ou plusieurs années, de troubles cardiaques, neurologiques, ophtalmologiques ou auditifs qui sont rarement définitifs (2, 9, 61).

Tableau 2. Facteurs prédictifs de mortalité de la FHCC

Critères cliniques	
Ecchymoses (64)	
Hématémèses (1, 61, 64, 65)	
Mélénas (1, 61, 64, 65)	
Somnolence (1, 61, 64, 65)	
Critères biologiques	
Tests de routine	Valeurs
Diminution des Plaquettes	≤90x10 ⁹ /L (63)
Diminution de l'hémoglobine	≤20x10 ⁹ /L (1, 61, 64)
Elévation des ASAT	<13,5 g/dL (63)
Elévation des ALAT	≥117 UI/L (63)
Elévation des LDH	≥200 UI/L (1, 61, 64, 65)
Elévation de la CPK	≥71 UI/L (63)
Elévation de la CRP	≥150 UI/L (1, 61, 64, 65)
Allongement du TP	≥508 UI/L (63, 64)
Allongement du TPPa	≥267 UI/L (63, 64)
Diminution du fibrinogène	≥0,59 mg/dL (63)
Tests spécialisés	≥18 s (64, 65)
Charge virale	≥ 34 s (63)
Elévation du TNF	≥ 60 s (1, 61, 64, 65)
Elévation de l'IL-6	≥ 60 s (1, 61, 64, 65)
Elévation de l'acide hyaluronique	≤110 mg/dL (1, 61, 65)
Elévation de l'ICAM-1	≥10 ⁶ copies/mL (66)
Elévation du VCAM-1	≥37,9 pg/mL (67)
Elévation de la VEGF-A	≥269,7 pg/mL (67)
Elévation des lymphocytes cytotoxiques CD3+CD8+	≥1 583,6 ng/mL (68)
Diminution de la chitotriosidase	≥359 ng/mL (68)
	≥181 ng/mL (68)
	≥892,4 pg/mL (68)
	≥ 32% (69)
	16,5-45,7 nmol/mL/h (70)

Biologie

Les premiers jours de la maladie sont caractérisés par la survenue d'une leucopénie et d'une thrombopénie (1, 51, 62). Puis, les patients vont rapidement présenter une cytolysse et une cholestase hépatiques ainsi qu'une augmentation des enzymes musculaires (2, 61, 63). De plus, des altérations des mécanismes de la coagulation sont généralement observées et peuvent conduire à l'installation d'une coagulation intravasculaire disséminée (2, 9). Enfin, les analyses d'urine mettent en évidence une protéinurie et une hématurie (9).

Facteurs prédictifs de mortalité

Plusieurs études ont défini, au cours de la FHCC, des facteurs prédictifs de mortalité cliniques ou biologiques qui sont décrits dans le tableau 2. Parmi les critères cliniques, on retrouve des hémorragies digestives et cutanées et un état léthargique (1, 61, 64, 65). Les éléments biologiques associent, outre les paramètres décrits précédemment, une charge virale importante (66), une élévation des taux des cytokines proinflammatoires TNFα, IL-6 (67), des concentrations accrues de certains marqueurs phénotypiques de lésion endothéliale (l'acide hyaluronique, le facteur A de

croissance de l'endothélium vasculaire VEGF-A, la molécule d'adhésion intercellulaire de type 1 ICAM-1 et la molécule d'adhésion de cellule vasculaire de type 1 VCAM-1) (68) ainsi qu'une augmentation des lymphocytes cytotoxiques CD3+CD8+ (69). Récemment, il a été montré que l'abaissement du taux de chitotriosidase sérique pourrait constituer un marqueur des formes sévères de l'infection (70).

Physiopathologie

Peu de données sont actuellement disponibles concernant les cellules cibles du VFHCC et le rôle de la réponse immune dans la pathogenèse. Il a toutefois été émis l'hypothèse que le VFHCC est susceptible d'interférer avec les mécanismes de défense de l'hôte (71, 72). Des études sur des patients infectés ont récemment montré qu'il y a une augmentation du nombre de cellules NK (Natural Killer) dans le sang périphérique (73) ainsi qu'une forte activation des macrophages (74). Il a également été observé, par immunofluorescence sur des coupes nécropsiques, que les cellules endothéliales peuvent également être infectées par le VFHCC (75). Par ailleurs, des études cliniques ont mis en évidence un taux sanguin élevé d'IL-6 et de TNFα chez les patients qui décèdent. D'autres travaux

ont associé l'issue fatale de la maladie avec une augmentation de l'IL-10 et de l'IFN α (1, 76) mais également, pour les individus qui survivent, une élévation de l'IL-12 (77). Enfin, des modèles *in vitro* ont montré l'effet inhibiteur de l'IFN α sur la réplication du VFHCC (78). L'ensemble de ces études suggèrent que les hémorragies liées à l'infection pourraient être associées à une production élevée de cytokines pro-inflammatoires (71, 79) mais aussi de cytokines régulatrices (IL-10) qui inhiberait la réponse immunitaire cellulaire par diminution de la production d'IL-12. Il a été récemment montré que les macrophages et les cellules dendritiques (acteurs essentiels de la réponse innée et liens fondamentaux entre la réponse immunitaire adaptative précoce et la réponse tardive) sont sensibles et permissifs au VFHCC (79, 80). Il a été noté que la production de virus dans les macrophages est supérieure à celle des cellules dendritiques (80). Ces deux types cellulaires pourraient jouer un rôle clef dans la pathogenèse de la FHCC en particulier dans les premières étapes de l'infection (71, 80). Toutefois, la contribution des macrophages à la pathogenèse de la maladie apparaît plus importante que celle des cellules dendritiques. Elle pourrait être liée à une production élevée de TNF α par les macrophages infectés par le VFHCC (80). Par ailleurs, il a été observé que le VFHCC induit une maturation partielle des cellules dendritiques (80). Ainsi, après morsure de tique, ces cellules présentatrices d'antigène constitueraient un premier relais de réplication virale facilitant la dissémination du virus (81). Elles contribueraient à la charge virale sanguine, du niveau de laquelle semble dépendre l'issue de la maladie (77, 82).

Diagnostic

Le diagnostic de FHCC doit être évoqué devant un sujet qui présente : (i) un état fébrile, des arthralgies ou des saignements ; (ii) un interrogatoire avec la notion de voyages ou d'activités en zones d'endémie, d'exposition à des tiques ou à du sang d'animaux domestiques potentiellement virémique. L'association au tableau clinique d'une thrombopénie, d'une cytolyse hépatique et d'une élévation des LDH et des CPK permettent de considérer le patient comme un cas suspect (1, 9). Sa prise en charge nécessite une confirmation du diagnostic par des examens virologiques et sérologiques associés obligatoirement à des mesures d'isolement et de protection du

personnel de santé. La précocité du diagnostic est un élément essentiel pour la survie du patient et la prévention de la transmission de l'infection aux personnels soignants particulièrement exposés (2).

Diagnostic biologique de certitude

Les échantillons infectés par le VFHCC ne peuvent être manipulés que dans un laboratoire de sécurité maximale niveau 4 (P4) (1, 2, 83). Le diagnostic de certitude est habituellement mené à partir de prélèvements de sang, plasma, sérum, ou autres fluides biologiques (salive, urine...) et biopsies (16, 51, 83, 84). Il repose sur : (i) des techniques de recherche directe de l'agent pathogène : isolement du virus, détection du génome viral par RT-PCR, ainsi que des antigènes viraux ; (ii) des tests immunologiques permettant la détection des anticorps IgM et IgG anti-VFHCC.

• Prélèvements et transport des échantillons

En cas de suspicion de FHCC en France et avant tout prélèvement, il est nécessaire de prendre contact avec le centre national de référence des fièvres hémorragiques virales (Institut Pasteur 21 avenue Tony Garnier 69365 Lyon cedex 07, tel +33-4-37-28-24-40). Les prélèvements de sang, plasma ou sérum sont réalisés sur tube sec avec ou sans gel et les biopsies sont fixées dans du formol (16, 51). Lorsqu'un diagnostic en biologie moléculaire ou par isolement est envisagé, les échantillons sont transportés à 4°C pour un transfert de courte durée ou dans de la carboglace si l'envoi est différé. Ils peuvent être conservés à température ambiante pour une demande de sérologie ou l'analyse d'un tissu. Il est impératif de joindre une fiche de renseignements cliniques et épidémiologiques. Enfin, les conditions de transport des prélèvements sous triple emballage doivent suivre la réglementation IATA (International Air Transport Association) pour le transport aérien, ou ADR (accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route) pour les transports routiers (83). Il est important de noter que d'autres laboratoires dans le monde ont la capacité de réaliser un diagnostic de FHCC (85).

• Mise en évidence directe du virus

Très spécifique et sensible, la détection moléculaire par RT-PCR d'une région du segment S est la technique la plus utilisée pour le diagnostic rapide d'une infection par le VFHCC (86, 87). Elle peut

être réalisée dans un laboratoire non confiné après avoir ajouté à l'échantillon une solution de lyse pour l'extraction des ARN viraux tels que le tampon AVL (Qiagen) ou le Trizol[®] (88). Différents protocoles de RT-PCR conventionnelle, simple ou nichée, ont été décrits (87, 89-91). L'identification précise des souches virales nécessite le séquençage des produits de PCR et la comparaison avec les séquences disponibles dans les banques de données type GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Plus récemment, des méthodes de quantification de la charge virale par RT-PCR en temps réel ont été développées dans le but d'améliorer la rapidité, la sensibilité et la spécificité du diagnostic moléculaire (86, 92-94). En 2007, l'équipe de Paragas a mis au point une RT-PCR temps réel utilisant une sonde Taq-Man[®] MGB (minor groove binder) courte qui assure une grande stabilité d'hybridation avec la séquence cible. Cette technique spécifique de 18 souches de VFHCC est très sensible avec une limite de détection de 10 copies de génome par réaction (95). Enfin, en 2009, un groupe allemand, en collaboration avec plusieurs partenaires européens, a conçu une puce ADN permettant un diagnostic rapide, spécifique et sensible (limite de détection de 6,3 copies de génome par réaction) de plusieurs isolats de VFHCC issus de différentes zones d'endémie (96).

Le VFHCC peut être isolé à partir de prélèvements sanguins ou de suspension de tissus, après inoculation intracérébrale de souriceaux nouveau-nés ou en infectant différentes lignées cellulaires : Vero ou VeroE6, BHK-21, SW13, LLC-MK2 (1, 2, 83). La culture du virus sur cellules est une technique simple à réaliser, plus rapide (2-5 jours) mais beaucoup moins sensible que celle sur souriceaux (97). La détection du virus n'est possible que si le prélèvement est réalisé durant les 5 premiers jours de l'infection, au moment où la virémie est la plus importante (1, 2). En fonction de la lignée cellulaire et de la souche virale, le VFHCC produit généralement peu ou pas d'effet cytopathique (2, 97). L'identification du virus, nécessaire après isolement, s'appuie sur l'immunofluorescence directe au moyen d'une ascite de souris hyperimmune spécifique du virus ou d'anticorps monoclonaux dirigés contre la nucléoprotéine virale (87, 98, 99).

La détection des antigènes du VFHCC permet d'obtenir un diagnostic rapide de la phase aiguë de l'infection (97). Pour cela, deux techniques sont utilisées : l'hémagglutination passive inverse et le test

d'immunocapture ELISA qui semble plus sensible (83, 97). Enfin, l'immunohistochimie est un outil intéressant pour le diagnostic post-mortem sur des biopsies fixées au formol (75).

• *Détection des anticorps*

A un stade plus avancé de la maladie, le diagnostic peut se faire par la recherche des anticorps IgM et IgG dirigés contre la nucléoprotéine virale. Cependant, la réponse en anticorps est rarement observée chez des sujets qui décèdent (100). La confirmation d'une infection récente repose sur : (i) la détection d'IgM spécifiques ; (ii)

la mise en évidence d'une séroconversion ; (iii) une augmentation supérieure à 4 fois du titre d'anticorps spécifiques entre deux échantillons de sang successifs (1, 9, 83). Utilisées en routine, les techniques d'immunofluorescence indirecte sur lame contenant des cellules infectées et fixées (IFI) et d'ELISA permettent la détection des anticorps IgM et IgG environ 7 jours, après le début des symptômes (100). Les IgM spécifiques ont un titre maximal à la fin de la 2^e ou au début de la 3^e semaine de la maladie et disparaissent au terme du 4^e mois. Les IgG commencent à diminuer au moment de la disparition des IgM mais restent détec-

tables pendant au moins 5 ans (2, 100). Le test ELISA, plus sensible que l'IFI (101), est très utile pour la réalisation d'enquêtes épidémiologiques. Récemment, des nucléoprotéines recombinantes ont été produites pour le diagnostic sérologique de la FHCC, mais il n'existe à l'heure actuelle aucun kit commercial (98, 102).

Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de la FHCC est présenté dans le tableau 3. Il est particulièrement difficile en raison d'une part de la large répartition géographique de

Tableau 3. Diagnostic différentiel de la FHCC (adapté d'Ergonul et al. 2006).

Maladies	Répartition géographique	Transmission	Critères cliniques et biologiques
Maladies infectieuses			
Bactérioses			
Brucellose	Mondiale (Bassin méditerranéen, Péninsule Arabe, Inde, Amérique Centrale et du Sud)		Pancytopenie, agglutination Wright
Fièvre Q	Mondiale	Tique	Sérologie (ELISA ou IFAT)
Leptospirose	Mondiale	Rongeurs	Test agglutination
Lyme	Mondiale (principalement hémisphère Nord)	Tique	Sérologie (ELISA), immunoblot
Rickettsiose	Mondiale	Tique	Test Weil-Félix
Salmonellose	Mondiale		Test Widal
Méningite à méningocoques	Mondiale (principalement Afrique Sub-saharienne)	Interhumaine	Syndrome méningé, purpura, analyse bactériologique du LCR, Agglutination au latex, PCR
Parasitoses			
Erlishiose	Amérique, Europe, Moyen-Orient, Asie du Sud Est	Tique	Sérologie (ELISA)
Paludisme	Mondiale	Moustique	Frottis sanguin
Viroses			
Infections virales non hémorragiques			
Encéphalite à tique	Hémisphère Nord	Tique	ELISA
Hépatites virales	Mondiale		Ictère, bilirubinémie sérologie
Autres infections virales hémorragiques			
Arenaviridae			
Fièvre hémorragique Amérique du Sud	Argentine, Bolivie, Brésil et Venezuela	Interhumaine	Symptômes neurologiques
Fièvre de Lassa	Afrique de l'Est	Interhumaine	Pharyngite, douleur rétrosternale, protéinurie, complications du SNC
Bunyaviridae			
Fièvre à hantavirus avec syndrome rénal	Mondiale	Rongeurs	Symptômes rénaux, sérologie, PCR
Fièvre à hantavirus avec syndrome pulmonaire	Amérique	Interhumaine	Symptômes pulmonaires, sérologie, PCR
Fièvre de la Vallée du Rift	Afrique Sub-saharienne	Moustique	Hépatite, vascularite de la rétine, encéphalite
Filoviridae			
Fièvre hémorragique Ebola et Marburg	Afrique et Philippines	Chauves-souris, Interhumaine	Prostration et perte de poids marquée. Hépatite, uvéite, orchite, arthralgies durant la convalescence.
Hépatite, uvéite, orchite, arthralgies durant la convalescence			
Flaviviridae			
Dengue	Zones tropicales et subtropicales, mondiale	Moustique	Rash maculaire généralisé
Fièvre jaune	Afrique, Amérique du Sud	Moustique	Ictère
Fièvre hémorragique d'Omsk	Sibérie Occidentale	Tique	Séquelles neuropsychiatriques
Maladie de la forêt de Kyanasur	Inde	Tique	Edème pulmonaire hémorragique, défaillance rénale, symptômes neurologiques
Maladies non infectieuses			
Déficience en vitamine B12	Mondiale		Pancytopenie et taux de vitamine B12 dans le sérum
Neutropénie fébrile	Mondiale		Maladie sous-jacente

la maladie et d'autre part de la non-spécificité des symptômes au moment de la phase pré-hémorragique (61). Dans un premier temps, il faut veiller à éliminer d'autres pathologies caractérisées aussi par une fièvre associée ou non à des hémorragies : (i) celles à distribution mondiale tels que le paludisme, la méningite à méningocoque, la dengue ou les fièvres à hantavirus ; (ii) celles retrouvées en Afrique : la fièvre jaune, la fièvre de Lassa, les infections à filovirus Ebola et Marburg ou la fièvre de la vallée du Rift ; (iii) d'autres localisées à un pays ou une région : la maladie de la forêt de Kyanasur (Inde), la fièvre hémorragique d'Omsk (Sibérie occidentale) ou la fièvre hémorragique Alkhurma (Arabie Saoudite) (1, 2, 45, 61, 103). De plus, la notion de contact avec des tiques ou des rongeurs doit faire écarter, outre les viroses à l'origine de saignements citées précédemment, l'encéphalite à tiques, mais également des maladies bactériennes comme la fièvre boutonneuse méditerranéenne, la maladie de Lyme, la fièvre Q, l'ehrlichiose ou la leptospirose. Enfin, pour des sujets exposés aux liquides biologiques de ruminants domestiques, il faut penser à la brucellose, anthroponose ubiquitaire (1, 61).

Traitement

Pour le traitement des infections par le VFHCC, l'OMS recommande l'utilisation de la ribavirine à la posologie suivante : 30 mg/kg en dose de charge, puis 15 mg/kg toutes les 6 heures pendant 4

jours et enfin 7,5 mg/kg toutes les 8 heures pendant 6 jours, la durée totale du traitement est de 10 jours (1, 104). Toutefois, l'efficacité de cette molécule a été remise en question par deux études cliniques récentes qui, d'une part, n'ont pas montré d'effet bénéfique de la ribavirine (105, 106), et d'autre part, ont noté une augmentation de la durée d'hospitalisation liée à des effets indésirables. Cependant, d'autres travaux ont souligné l'usage avantageux de cette molécule (107) en particulier lorsque son administration est très précoce (108). Même si l'efficacité de la ribavirine a été démontrée lors d'études *in vitro* (62, 109) et *in vivo* (29), le traitement reste principalement symptomatique par l'administration de substituts sanguins selon l'hémostase des patients (1, 2, 104, 110). L'utilisation de méthylprednisolone à forte dose a également été testée sur cinq patients et a montré un effet bénéfique (111). Cependant la durée de traitement ainsi que la fréquence d'administration des corticoïdes doivent être déterminées lors d'études menées sur de grands effectifs.

A ce jour, l'utilisation de la ribavirine, conseillée par l'OMS, demeure le traitement de choix lors de l'infection par le VFHCC qui doit être systématiquement associé à des mesures thérapeutiques symptomatiques.

Prophylaxie

Dans les années 70, un vaccin inactivé expérimental, produit à partir de cerceaux de souris nouveaux-nés infectés,

a été élaboré en Bulgarie, mais il n'a pas démontré son efficacité chez l'homme (1, 104, 112). La prophylaxie repose donc sur des mesures simples de lutte contre la transmission de la maladie au sein des structures de santé, mais aussi plus généralement au niveau des populations vivant en zones d'endémie. La prévention du risque nosocomial (113) consiste à : (i) isoler les patients si possible dans une chambre à pression négative ; (ii) porter des vêtements protecteurs pour le personnel soignant ; (iii) respecter les précautions universelles d'hygiène (matériels à usage unique, traitement et circuit spécifique des excréta et des déchets médicaux) ; (iv) former le personnel médical au risque d'infection par le VFHCC (114, 115). En outre, pour les populations séjournant dans des régions de circulation du VFHCC, la prévention du risque associe deux types d'actions individuelles et collectives : (i) des mesures environnementales de lutte antivectorielle (déparasitage par des acaricides type Permethrine) et d'éviction des morsures de tiques (limitation des contacts avec la végétation, port de vêtements couvrant les parties découvertes, utilisation de répulsifs cutanés type Autan[®], retrait des tiques le plus rapidement possible avec précaution au moyen de crochets spéciaux type Tire-Tic) ; (ii) des mesures d'information pour inciter les individus à consulter au moindre signe évocateur de FHCC (116). Toutes ces stratégies s'inscrivent dans un cadre plus général de contrôle des maladies virales préconisées par des structures telles que ARBO-ZOONET (117). ■

RÉFÉRENCES

- Ergönül O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis* 2006; 6 : 203-14.
- Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res* 2004; 64 : 145-60.
- Maltezou HC, Andonova L, Andraghetti R, Bouloy M, Ergonul O, Jongejan F, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill* 2010; 15 : 19504.
- Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol* 1979; 15 : 307-417.
- Simpson DJ, Knight EM, Courtois G, Williams MC, Weinbren MP, Kibukamusoke JW. Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. I. Human isolations—clinical notes. *East Afr Med J* 1967; 44 : 86-92.
- Chumakov MP, Butenko AM, Shalunova NV, Mart'ianova LI, Smirnova SE, Bashkirtsev IuN, et al. New data on the viral agent of Crimean hemorrhagic fever. *Vopr Virusol* 1968; 13 : 377.
- Casals J. Antigenic similarity between the virus causing Crimean hemorrhagic fever and Congo virus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1969; 131 : 233-6.
- Chumakov MP, Smirnova SE, Tkachenko EA. Relationship between strains of Crimean haemorrhagic fever and Congo viruses. *Acta Virol* 1970; 14 : 82-5.
- Mardani M, Keshtkar-Jahromi M. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Arch Iran Med* 2007; 10 : 204-14.
- Chinikar S, Ghiasi SM, Hewson R, Moradi M, Haeri A. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran and neighboring countries. *J Clin Virol* 2010; 47 : 110-4.
- Epidemiology for Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: Turkey, Russian Federation, Bulgaria, Greece, Albania, Kosovo. [updated August 2008] disponible sur : http://www.euro.who.int/surveillance/outbreaks/20080806_1.
- Collaku P. Kosovo: fourth victim died of Crimean Congo Fever. [updated June 2010] disponible sur : <http://www.balkaninsight.com/en/main/news/28638/>.
- Papa A, Bino S, Llagami A, Brahimaj B, Papadimitriou E, Pavlidou V, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania, 2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21 : 603-6.
- Papa A, Bozovi B, Pavlidou V, Papadimitriou E, Pelemis M, Antoniadis A. Genetic detection and isolation of crimean-congo hemorrhagic fever virus, Kosovo, Yugoslavia. *Emerg Infect Dis* 2002; 8 : 852-4.
- Tall A, Sall AA, Faye O, Diatta B, Sylla R, Faye J, et al. Deux cas de fièvre hémorragique de Crimée-Congo (FHCC) contractée au Sénégal, en 2004, par des résidentes temporaires. *Bull Soc Pathol Exot* 2009; 102 : 159-61.
- Tarantola A, Nabeth P, Tattevin P, Michelet C, Zeller H. Incident Management Group. Lookback exercise with imported Crimean-Congo hemorrhagic fever, Senegal and France. *Emerg Infect Dis* 2006; 12 : 1424-6.
- Virus claims soldier. Infection came from Afghanistan tick bite. [updated September 2009] disponible sur : <http://www.andalusianews.com/news/2009/sep/17/virus-claims-local-soldier/>.
- Schmaljohn CS, Nichol ST. Bunyaviridae. The Viruses and their Replication. In *Fields Virology*. Volume 2. Fifth edition. Edited by Knipe D.M. HPM, Griffin D.E. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins ed, 2007, pp 1741-89.

19. Elliott RM, Schmaljohn CS, Collett MS. Bunyaviridae genome structure and gene expression. *Curr Top Microbiol Immunol* 1991; 169 : 91-141.
20. Anagnostou V, Papa A. Evolution of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus. *Infect Genet Evol* 2009; 9 : 948-54.
21. Deyde VM, Khristova ML, Rollin PE, Ksiazek TG, Nichol ST. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. *J Virol* 2006; 80 : 8834-42.
22. Hewson R. Molecular epidemiology, genomics, and phylogeny in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. In «Ergonul O, Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective». Dordrecht, Springer ed, The Netherlands, 2007, pp 45-55.
23. Morikawa S, Saijo M, Kurane I. Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2007; 30 : 375-89.
24. Mild M, Simon M, Albert J, Mirazimi A. Towards an understanding of the migration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Gen Virol* 2010; 91 :199-207.
25. Watts DM, Ksiazek TG, Linthicum KJ, Hoogstraal H. Crimean-Congo hemorrhagic fever. In The arboviruses: epidemiology and ecology. Volume 2. Edited by Monath TP. Boca Raton, FL: USA: CRC Press ed, 1988, pp 177-260.
26. Kampen H, Poltz W, Hartelt K, Wölfel R, Faulde M. Detection of a questing *Hyalomma marginatum marginatum* adult female (Acari, Ixodidae) in southern Germany. *Exp Appl Acarol* 2007; 43 : 227-31.
27. Gonzalez JP, Camicas JL, Comet JP, Faye O, Wilson ML. Sexual and transovarian transmission of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in *Hyalomma truncatum* ticks. *Res Virol* 1992; 143 : 23-8.
28. Gordon SW, Linthicum KJ, Moulton JR. Transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in two species of *Hyalomma* ticks from infected adults to cofeeding immature forms. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48 : 576-80.
29. Tignor GH, Hanham CA. Ribavirin efficacy in an *in vivo* model of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHF) infection. *Antiviral Res* 1993; 22 : 309-25.
30. Bereczky S, Lindegren G, Karlberg H, Akerström S, Klingström J, Mirazimi A. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection is lethal for adult 1 type 1 interferon receptor knock-out mice. *J Gen Virol* 2010; 91 : 1473-7.
31. Zeller HG, Comet JP, Camicas JL. Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by west African wild ground-feeding birds to *Hyalomma marginatum rufipes* ticks. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50 : 676-81.
32. Zeller HG, Comet JP, Camicas JL. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection in birds: field investigations in Senegal. *Res Virol* 1994; 145 : 105-9.
33. Swanepoel R, Leman PA, Burt FJ, Jardine J, Verwoerd DJ, Capua I, et al. Experimental infection of ostriches with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Epidemiol Infect* 1998; 121 : 427-32.
34. Aradaib IE, Erickson BR, Mustafa ME, Khristova ML, Saeed NS, Elageb RM, et al. Nosocomial outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Sudan. *Emerg Infect Dis* 2010; 16 : 837-9.
35. Gürbüz Y, Sencan I, Öztürk B, Tütüncü E. A case of nosocomial transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever from patient to patient. *Int J Infect Dis* 2009; 13 : e105-7.
36. Mardani M, Keshkar-Jahromi M, Ataie B, Adibi P. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus as a nosocomial pathogen in Iran. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81 : 675-8.
37. Saijo M, Tang Q, Shimaya B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, et al. Possible horizontal transmission of crimean-congo hemorrhagic fever virus from a mother to her child. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57 : 55-7.
38. Ergonul O, Celikbas A, Yildirim U, Zenciroglu A, Erdogan D, Ziraman I, et al. Pregnancy and Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16 : 647-50.
39. Erbay A, Cevik MA, Onguru P, Gözel G, Akinci E, Kubar A, et al. Breastfeeding in Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Scand J Infect Dis* 2008; 40 : 186-8.
40. Gale P, Estrada-Peña A, Martinez M, Ulrich RG, Wilson A, Capelli G, et al. The feasibility of developing a risk assessment for the impact of climate change on the emergence of Crimean-Congo haemorrhagic fever in livestock in Europe: a Review. *J Appl Microbiol* 2009.
41. Randolph SA, Rogers DJ. Ecology of tick-borne disease and the role of climate. In «Ergonul O, Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective». Dordrecht, Springer ed, The Netherlands, 2007, pp 167-86.
42. Özkurt Z, Kiki I, Erol S, Erdem F, Yilmaz N, Parlak M, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Turkey: clinical features, risk factors and efficacy of ribavirin therapy. *J Infect* 2006; 52 : 207-15.
43. Bakir M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran MA, Vahaboglu H et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol* 2005; 54 : 385-9.
44. Ergönül O, Celikbas A, Dokuzoguz B, Eren S, Baykam N, Esener H. Characteristics of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and impact of oral ribavirin therapy. *Clin Infect Dis* 2004; 39 : 284-7.
45. Karti SS, Odabasi Z, Korten V, Yilmaz M, Sonmez M, Caylan R, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis* 2004; 10 : 1379-84.
46. Shepherd AJ, Swanepoel R, Shepherd SP, Leman PA, Blackburn NK, Hallett AF. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part V. Virological and serological observations. *S Afr Med J* 1985; 68 : 733-6.
47. Altaf A, Luby S, Ahmed AJ, Zaidi N, Khan AJ, Mirza S, McCormick J, Fisher-Hoch S. Outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Quetta, Pakistan: contact tracing and risk assessment. *Trop Med Int Health* 1998; 3 : 878-82.
48. Mardani M, Rahnavardi M, Rajaeinejad M, Naini KH, Chinikar S, Pourmalek F, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever among health care workers in Iran: a seroprevalence study in two endemic regions. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76 : 443-5.
49. Swanepoel R, Shepherd AJ, Leman PA, Shepherd SP, Miller GB. A common-source outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever on a dairy farm. *S Afr Med J* 1985; 68 : 635-7.
50. Goldfarb LG, Chumakov MP, Myskin AA, Kondratenko VF, Reznikova OY. An epidemiological model of Crimean hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1980; 29 : 260-4.
51. Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, Leman PA, Mynhardt JH, Harvey S. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11 : S794-800.
52. Schwarz TF, Nsanze H, Ameen AM. Clinical features of Crimean-Congo haemorrhagic fever in the United Arab Emirates. *Infection* 1997; 25 : 364-7.
53. Swanepoel R, Shepherd AJ, Leman PA, Shepherd SP, McGillivray GM, Erasmus MJ, et al. Epidemiologic and clinical features of Crimean-Congo hemorrhagic fever in southern Africa. *Am J Trop Med Hyg* 1987; 36 : 120-32.
54. Bijani B, Mardani M, Toosi P. Erythema nodosum in the course of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Trop Doct* 2010; 40 : 123-4.
55. Doganci L, Ceyhan M, Tasdeler NF, Sarikayalar H, Tulek N. Crimean Congo hemorrhagic fever and diffuse alveolar haemorrhage. *Trop Doct* 2008; 38 : 252-4.
56. Sannikova IV, Pacechnikov VD, Maleev VV. Respiratory lesions in Congo-Crimean hemorrhagic fever. *Ter Arkh* 2007; 79 : 20-3.
57. Tanir G, Tuygun N, Balaban I, Doksöz O. A case of Crimean-congo hemorrhagic fever with pleural effusion. *Jpn J Infect Dis* 2009; 62 : 70-2.
58. Engin A, Erdogan H, Ozec AV, Elaldi N, Toker MI, Bakir M, et al. Ocular findings in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Am J Ophthalmol* 2009; 147 : 634-8 e1.
59. Engin A, Yilmaz MB, Elaldi N, Erdem A, Yalta K, Tandogan I, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: does it involve the heart? *Int J Infect Dis* 2009; 13 : 369-73.
60. Yen YC, Kong LX, Lee L, Zhang YQ, Li F, Cai BJ, et al. Characteristics of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (Xinjiang strain) in China. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34 : 1179-82.
61. Ergonul O. Clinical and pathologic features of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. In Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective. Ergonul O, Whitehouse CA. Dordrecht, Springer ed, The Netherlands, 2007, pp 207-20.
62. Watts DM, Ussery MA, Nash D, Peters CJ. Inhibition of Crimean-Congo hemorrhagic fever viral infectivity yields *in vitro* by ribavirin. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 41 : 581-5.
63. Yilmaz G, Koksali I, Topbas M, Yilmaz H, Aksoy F. The effectiveness of routine laboratory findings in determining disease severity in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever: severity prediction criteria. *J Clin Virol* 2010; 47 : 361-5.
64. Cevik MA, Erbay A, Bodur H, Gülderen E, Bastug A, et al. Clinical and laboratory features of Crimean-Congo hemorrhagic fever: predictors of fatality. *Int J Infect Dis* 2008; 12 : 374-9.
65. Ergonul O, Celikbas A, Baykam N, Eren S, Dokuzoguz B. Analysis of risk-factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12 : 551-4.
66. Duh D, Saksida A, Petrovec M, Ahmeti S, Dedushaj I, Panning M, et al. Viral load as predictor of Crimean-Congo hemorrhagic fever outcome. *Emerg Infect Dis* 2007; 13 : 1769-72.
67. Ergonul O, Tuncbilek S, Baykam N, Celikbas A, Dokuzoguz B. Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2006; 193 : 941-4.
68. Öztürk B, Kuscü F, Tutuncu E, Sencan I, Gurbuz Y, Tuzun H. Evaluation of the association of serum levels of hyaluronic acid, sICAM-1, sVCAM-1, and VEGF-A with mortality and prognosis in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol* 2010; 47 : 115-9.
69. Akinci E, Yilmaz M, Bodur H, Ongürü P, Bayazit FN, Erbay A, et al. Analysis of lymphocyte subgroups in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Int J Infect Dis* 2009; 13 : 560-3.

70. Kurt YG, Cayci T, Onguru P, Akgul EO, Yaman H, Aydin I, et al. Serum chitotriosidase enzyme activity in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47 : 1543-7.
71. Bray M. Comparative pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever and Ebola hemorrhagic fever In «Ergonul O, Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective». Dordrecht, Springer ed, The Netherlands, 2007, pp 221-31.
72. Weber F, Mirazimi A. Interferon and cytokine responses to Crimean Congo hemorrhagic fever virus; an emerging and neglected viral zoonosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19 : 395-404.
73. Yilmaz M, Aydin K, Akdogan E, Sucu N, Sonmez M, Omay SB, Koksai I. Peripheral blood natural killer cells in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol* 2008; 42 : 415-7.
74. Onguru P, Akgul EO, Akinci E, Yaman H, Kurt YG, Erbay A, et al. High serum levels of neopterin in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relation with mortality. *J Infect* 2008; 56 : 366-70.
75. Burt FJ, Swanepoel R, Shieh WJ, Smith JF, Leman PA, Greer PW, et al. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121 : 839-46.
76. Papa A, Bino S, Velo E, Harxhi A, Kota M, Antoniadis A. Cytokine levels in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol* 2006; 36 : 272-6.
77. Saksida A, Duh D, Wraber B, Dedushaj I, Ahmeti S, Avsic-Zupanc T. Interacting roles of immune mechanisms and viral load in the pathogenesis of crimean-congo hemorrhagic fever. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17 : 1086-93
78. Andersson I, Lundkvist A, Haller O, Mirazimi A. Type I interferon inhibits Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in human target cells. *J Med Virol* 2006; 78 : 216-22.
79. Connolly-Andersen AM, Douagi I, Kraus AA, Mirazimi A. Crimean Congo hemorrhagic fever virus infects human monocyte-derived dendritic cells. *Virology* 2009; 390 : 157-62.
80. Peyrefitte CN, Perret M, Garcia S, Rodrigues R, Bagnaud A, Lacote S, et al. Differential activation profiles of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus- and Dugbe virus-infected antigen-presenting cells. *J Gen Virol* 2010; 91 : 189-98.
81. Gowen BB, Holbrook MR. Animal models of highly pathogenic RNA viral infections: hemorrhagic fever viruses. *Antiviral Res* 2008; 78 : 79-90.
82. Cevik MA, Erbay A, Bodur H, Eren SS, Akinci E, Sener K, et al. Viral load as a predictor of outcome in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Clin Infect Dis* 2007; 45 : e96-100.
83. Zeller H. Laboratory diagnosis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. In «Ergonul O, Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective». Dordrecht, The Netherlands, Springer ed, 2007, pp 233-43.
84. Bodur H, Akinci E, Ongürü P, Carhan A, Uyar Y, Tanrici A, et al. Detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome in saliva and urine. *Int J Infect Dis* 2010; 14 : e247-9.
85. Gronvall GK, Fitzgerald J, Chamberlain A, Inglesby TV, O'Toole T. High-containment biodefense research laboratories: meeting report and center recommendations. *Biosecure Bioterror* 2007; 5 : 75-85.
86. Drostén C, Kümmerer BM, Schmitz H, Günther S. Molecular diagnostics of viral hemorrhagic fevers. *Antiviral Res* 2003; 57 : 61-87.
87. Schwarz TF, Nsanze H, Longson M, Nitschko H, Gilch S, Shurie H, et al. Polymerase chain reaction for diagnosis and identification of distinct variants of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the United Arab Emirates. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55 : 190-6.
88. Blow JA, Dohm DJ, Negley DL, Mores CN. Virus inactivation by nucleic acid extraction reagents. *J Virol Methods* 2004; 119 : 195-8.
89. Rodriguez LL, Maupin GO, Ksiazek TG, Rollin PE, Khan AS, Schwarz TF, et al. Molecular investigation of a multisource outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57 : 512-8.
90. Burt FJ, Leman PA, Smith JF, Swanepoel R. The use of a reverse transcription-polymerase chain reaction for the detection of viral nucleic acid in the diagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *J Virol Methods* 1998; 70 : 129-37.
91. Onishchenko GG, Lomov IuM, Markov VI, Merkulov VA, Mironov AN, Borisevich IV, et al. The laboratory diagnosis of an outbreak of hemorrhagic fever at Oblivskaya village, Rostov Province: proof of the etiological role of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2000; 2 : 32-6.
92. Duh D, Saksida A, Petrovec M, Dedushaj I, Avsic-Zupanc T. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *J Virol Methods* 2006; 133 : 175-9.
93. Uyar Y, Carhan A, Albayrak N, Altas AB. Evaluation of PCR and ELISA-IgM results in the laboratory diagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever cases in 2008 in Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44 : 57-64.
94. Wölfel R, Paweska JT, Petersen N, Grobbelaar AA, Leman PA, Hewson R, et al. Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus patients. *Emerg Infect Dis* 2007; 13 : 1097-100.
95. Garrison AR, Alakbarova S, Kulesh DA, Shezmukhamedova D, Khodjaev S, Endy TP, et al. Development of a TaqMan minor groove binding protein assay for the detection and quantification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77 : 514-20.
96. Wölfel R, Paweska JT, Petersen N, Grobbelaar AA, Leman PA, Hewson R, et al. Low-density macroarray for rapid detection and identification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 2009; 47 : 1025-30.
97. Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA, Shepherd SP. Comparison of methods for isolation and titration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 1986; 24 : 654-6.
98. Garcia S, Chinikar S, Coudrier D, Billecoq A, Hooshmand B, Crance JM, et al. Evaluation of a Crimean-Congo hemorrhagic fever virus recombinant antigen expressed by Semliki Forest suicide virus for IgM and IgG antibody detection in human and animal sera collected in Iran. *J Clin Virol* 2006; 35 : 154-9.
99. Saijo M, Qing T, Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Prehaud C, et al. Recombinant nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 2002; 40 : 1587-91.
100. Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA. Antibody response in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11 : S801-6.
101. Burt FJ, Leman PA, Abbott JC, Swanepoel R. Serodiagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Epidemiol Infect* 1994; 113 : 551-62.
102. Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, et al. Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections. *J Med Virol* 2005; 75 : 295-9.
103. Jaureguierry S, Tattevin P, Tarantola A, Legay F, Tall A, Nabeth P, et al. Imported Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Microbiol* 2005; 43 : 4905-7.
104. Ergonul O. Treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res* 2008; 78 : 125-31.
105. Elaldi N, Bodur H, Ascioğlu S, Celikbas A, Ozkurt Z, Vahaboglu H, et al. Efficacy of oral ribavirin treatment in Crimean-Congo haemorrhagic fever: a quasi-experimental study from Turkey. *J Infect* 2009; 58 : 238-44.
106. Koksai I, Yilmaz G, Aksoy F, Aydin H, Yavuz I, Iskender S, et al. The efficacy of ribavirin in the treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Black Sea region in Turkey. *J Clin Virol* 2010; 47 : 65-8.
107. Izadi S, Salehi M. Evaluation of the efficacy of ribavirin therapy on survival of Crimean-Congo hemorrhagic fever patients: a case-control study. *Jpn J Infect Dis* 2009; 62 : 11-5.
108. Tasdelen Fisgin N, Ergonul O, Doganci L, Tulek N. The role of ribavirin in the therapy of Crimean-Congo hemorrhagic fever: early use is promising. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28 : 929-33.
109. Bergeron E, Albarino CG, Khristova ML, Nichol ST. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-encoded ovarian tumor protease activity is dispensable for virus RNA polymerase function. *J Virol* 2010; 84 : 216-26.
110. Tezer H, Sucakli IA, Sayli TR, Celikel E, Yakut I, Kara A, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in children. *J Clin Virol* 2010; 48 : 184-6.
111. Dilber E, Akir M, Erduran E, Koksai I, Bahat E, Mutlu M, et al. High-dose methylprednisolone in children with Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Trop Doct* 2010; 40 : 27-30.
112. Papa A, Christova I, Papadimitriou E, Antoniadis A. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria. *Emerg Infect Dis* 2004; 10 : 1465-7.
113. Tarantola A, Ergonul O, Tattevin P. Estimates and prevention of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever risks for health-care workers. In «Ergonul O, Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective». Dordrecht, Springer ed, The Netherlands, 2007, pp 281-94.
114. Ergonul O, Zeller H, Celikbas A, Dokuzoguz B. The lack of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus antibodies in healthcare workers in an endemic region. *Int J Infect Dis* 2007; 11 : 48-51.
115. Tasdelen Fisgin N, Doganci L, Tanyel E, Tulek N. Initial high rate of misdiagnosis in Crimean Congo haemorrhagic fever patients in an endemic region of Turkey. *Epidemiol Infect* 2010; 138 : 139-44.
116. Whitehouse CA. Risk groups and control measures for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. In «Ergonul O, Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective». Dordrecht, Springer ed, The Netherlands, 2007, pp 273-80.
117. Ahmed J, Bouloy M, Ergonul O, Fooks A, Paweska J, Chevalier V, et al. International network for capacity building for the control of emerging viral vector-borne zoonotic diseases: ARBO-ZOONET. *Euro Surveill* 2009; 14 : pii 19160.