

Chauve-souris, rongeurs et germes pathogènes :

Une expédition du CIRMF dans les grottes au nord-est du Gabon

Texte de : Jean-Louis ALBERT, Jean-Paul GONZALEZ, Mathieu BOURGAREL. Photos de Jean-Louis ALBERT



Jean-Paul Gonzalez



Dr. Mathieu Bourgaré



Jean-Louis Albert

Remerciements : A Messieurs Anstide GUIBINGA (Chef du Personnel du CIRMF) et Norbert MOLYABI (Directeur de la Communication du CIRMF) pour leur appui dans la réalisation de cette mission. Au CIRMF et à ses agents qui ont participé au support logistique indispensable.

Depuis plus de trente ans, le Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF) s'investi dans la recherche fondamentale et appliquée. En particulier, les travaux sur les virus HIV, SIV, Ebola, Marburg, Dengue, Chikungunya entre autres, menés par les équipes du CIRMF, sont mondialement reconnus et plus de 700 publications de haut niveau en font référence.

Il est habituel de penser que les chercheurs sont des personnes équipées de blouses blanches,

travaillant dans des laboratoires en manipulant pipettes et tubes à prélèvements. En fait, ce travail existe bien, mais il est généralement précédé d'un "travail de terrain" en amont qui est aussi important, souvent essentiel, car il fournit au chercheur, les échantillons biologiques et les données fondamentales pour pouvoir continuer son travail.

C'est dans cette optique que les scientifiques du CIRMF allient leur travail de recherche et des expéditions sur différents terrains afin de récol-



Grutte de Zadi / Centre des Champs-Savon
Fossiles en grotte

ter les informations nécessaires qui permettront de comprendre l'étendue de certaines parasitoses et viroses, d'en décoder les mécanismes et enfin de connaître leurs impacts sur la santé publique pour mieux les contrôler.

Le zodième d'un site

Cette mission dans l'extrême nord-est du Gabon, très près de la frontière du Congo, n'a pas été choisie au hasard. Quelques années en arrière, en 1996, 2001 et 2002, des épidémies très graves dues au virus Ebola, ont touché les populations humaines de cette région. L'épidémie a fait plus d'une trentaine de morts, près du village de Maybouth et plus d'une centaine sur l'axe Mékambo / Ekata. Les grands primates, gorilles et chimpanzés ont été sévèrement atteints également. La zone à explorer, pour comprendre où et comment se cachait ce virus était dès lors évidente.

Dans les Monts Belinga, à plus de 150 km au nord de la ville de Makokou, nous allons pour cela suivre une mission de terrain, comme il s'en déroule tous les mois à la recherche des multiples microorganismes qui présentent un risque pour l'Homme. Cette mission scientifique est destinée à prospecter les grottes de Zadi et du Feuton.

Il y a seulement cinq ans, une équipe du CIRMF (menée par le Dr Eric Leroy, chef de Service des Maladies Virales Emergentes), a identifié un des vecteurs naturels responsable de la transmission du virus Ebola : il s'agit de chauves-souris, connues pour être porteuses de nombreux

autres agents pathogènes.

But de la mission

Des missions précédentes avec des spécialistes écologie de l'environnement, ont quadrillé le terrain. Leurs renseignements, ont permis de préparer aujourd'hui, cette mission interdisciplinaire.

Le Dr Mathieu Bourgainel, chef de l'équipe 'Écologie des micromammifères' dans l'Unité de Recherches en Écologie de la Santé (URES), a réuni autour de lui, des chercheurs et étudiants de plusieurs disciplines, afin de récolter un maximum d'informations, pour pouvoir ensuite les exploiter pour avancer, dans leurs domaines respectifs, dans la connaissance de la circulation et du maintien des agents pathogènes dans la nature.

On trouve aussi à côté de lui, Gadi Maganga, spécialiste des virus, secondé par un technicien, André Délicat, ainsi que la jeune génération qui va assurer la relève future. Ces étudiants en stage Master, Judicaël Obame (entomologiste), Cindy Mejean (épidémiologiste), travaillent eux aussi sur les virus et leur impact sur la santé. Lijan Mangama, lui, réalise son stage de Master de l'Université des Sciences et Technologies de Messou, sur les rongeurs. Cette équipe va



Grutte de Zadi / Centre des Champs-Savon Fossiles en grotte



Ombre de Zade
Chauve-Souris
Pteropus Egyptianus
Grotte de Zade

donc partir pendant plus d'une semaine dans les grottes de Zade et du Faucon, pour capturer rongeurs et chauves-souris. Ces deux familles de mammifères sont impliquées à plus d'un titre dans la transmission de maladies virales et parasitaires chez l'homme.

Logistique

Cette expédition, loin de tout, nécessite une importante préparation. Plus de 10 personnes vont devoir vivre pendant plus d'une semaine, en dehors de toute civilisation, de toute assistance extérieure. Il faut donc prévoir un approvisionnement en boisson et nourriture pour tout ce séjour ainsi que tout le matériel nécessaire à la vie de la communauté : groupe électrogène, poubelles de récupération des ordures, tentes, glacières, etc...

Une part des plus importantes, liée au succès de cette mission, concerne le matériel nécessaire au travail de laboratoire sur le terrain et surtout la conservation des échantillons biologiques

Non seulement il faut prévoir pièges, boîtes, tout le matériel de prélèvement biologiques de toutes sortes (ex : sang, organes et crâtes d'animaux), les combinaisons de protection, les gants chirurgicaux, les gants de capture et de maintien des animaux, les poubelles indispensables, mais aussi tout le matériel de conservation des prélèvements. Ainsi, nous amenons de l'alcool, des flacons et surtout un conteneur spécial avec de la glace liquide : afin de conserver les cellules à une température très basse



Boîte à glace

(-180°C), pour préserver les échantillons et les pathogènes potentiellement présents.

Capture des rongeurs

La capture des rongeurs est importante pour le suivi des pathogènes qu'ils véhiculent.

Arrivés sur le terrain, une réunion de travail a permis de déterminer les meilleurs emplacements pour poser 200 pièges afin d'avoir la plus grande diversité dans les captures. Des rayons à travers la forêt ont été définis et encerclent les grottes de façon ordonnée. Les pièges seront posés sur une centaine de mètres, suivant la technique du piège dit "en ligne". Le point de départ est enregistré avec un GPS, ainsi que le point final qui permet de saisir les coordonnées



Grotte de Zade
Grotte de Zade



géographiques exactes des lieux de capture. Comme un métronome, Lilian compte ses pas. Toutes les dix enjambées, il va poser un piège. Le piège dit de "Sherman" est une petite boîte en aluminium de 25 cm de long sur 12 cm de section environ. Un couvercle muni d'un ressort de déclenchement permet de fermer la boîte et de piéger l'animal. Le guide lui donne une noix de palme, met reconnu et apprécié des rongeurs sauvages, qu'il met à l'intérieur, comme appât. Le mécanisme est essayé et la boîte est ensuite posée au sol. Plus de 50 pièges seront posés dans la journée.

Le même travail sera répété autour de la grotte de Zadié, ainsi que sur la grotte du Faucon. Plus



d'une trentaine de pièges sont également posés à l'intérieur des deux grottes. Les pièges sont ensuite visités le lendemain pour en récupérer les rongeurs.

Laboratoire des Rongeurs

Un laboratoire de terrain est improvisé dans le campement de Bélinga, aujourd'hui désaffecté.

À l'origine, ce campement a vu passer, très loin en arrière, des français, qui ont laissés des bâtiments en pierre, puis des Brésiliens, qui ont construits les cases en bois, puis plus récemment des Chinois, qui ont laissés leur nom au campement : La population locale l'appelle simplement « le Camp Central ou Camp Chinois ». Ces



changements suivent la succession de géologues qui ont prospectés la région afin d'évaluer la teneur en fer des gisements. L'exploitation des mines de fer de Bélinga, débutera un jour.

Proximité de l'Dgoué-Ivindo





Notre occupation temporaire, lui redonne vie pour quelques jours et l'ancienne cuisine est parfaite pour notre laboratoire. La pailasse sert de table de travail. Lilian est aux commandes. Devant lui, tous les accessoires sont bien rangés en attente des rongeurs pris dans les pièges : pinces, alcool, gants chirurgicaux, plateaux de dissection, balance, règle graduée, épingles, et sachet poubelle fixé par du ruban adhésif sur le cerclage. Ces sacs seront ensuite incinérés au CIRMF.

Le deuxième travail de Lilian va pouvoir commencer. Après la pose des pièges et la récolte des rongeurs, vient le travail important de description du spécimen (étude de biodiversité) puis de dissection (sous anesthésie) du spécimen pour collecter des organes cibles susceptibles de contenir des pathogènes. La dépouille sera ensuite conservée dans de l'alcool, pour des études ultérieures au laboratoire.

Ainsi après extraction du rat de son piège, anesthésie, identification du spécimen, classification, prise des informations morphologiques, taille et poids, le rat est étalé sur un plateau à fond souple. Les épingles le maintiennent dans la position voulue. Lilian commence la partie la plus délicate, le prélèvement des organes : cœur, rate, foie, intestin, qui sont mis dans des tubes de prélèvements spéciaux. Ces tubes de prélèvement sont en effet fabriqués pour être stockés à température très basse. Ils sont placés ensuite dans le container à azote liquide, qui les maintient ainsi durant toute la mission dans le froid profond (-190°C). Cette température permet la conservation des pathogènes présents dans les organes, pour qu'ils puissent être détectés et identifiés plus tard par les techniques de laboratoire.

Capture des chauve-souris

Depuis notre camp de base de Bélinga, on atteint la grotte de Zadi après une heure de voiture et 45 minutes de marche en forêt. La grotte du Faucon, est à 1h 30 de marche environ, depuis le campement.

La méthode utilisée dans cette mission dans les grottes est de la plus haute importance pour sa réussite : capture de chauve-souris mâles fe-



Grotte de Zadi (Batoum) (Chauve-Souris) (P. Boulière)



Mission 1 Grotte de Zaida Chauve-Souris
Hindouche 1998

melles, adultes et jeunes. La représentativité de l'échantillon est parfaite pour la validité des résultats de l'étude.

Les chauves-souris sortent habituellement à la tombée de la nuit pour se nourrir, quel que soit leur régime alimentaire, insectivore ou frugivore. Il faut donc que nous soyons à l'entrée de la grotte, au plus tard vers 17 heures, afin d'avoir le temps de mettre en oeuvre le plan de capture. Après une longue marche vers la grotte, nous arrivons, Mathieu et son assistante, nos 2 guides, qui portaient le matériel, et moi-même, en vue de l'entrée de la grotte.

La première chose à faire est de s'équiper pour le travail. On enfle sur nos habits, une tenue de protection blanche, puis nos bottes et enfin nous mettons des gants d'examen afin d'éviter les risques de contamination potentiels. On met une première paire de gants, on enroule du ruban adhésif autour des poignées pour que les gants ne se détachent pas de la combinaison et

ensuite on met par dessus une deuxième et une troisième paire de gant pour limiter le risque de morsures pénétrantes. Sur la tête, notre lampe frontale et sur le nez et la bouche, un masque. Ainsi affublés et protégés, le travail va commencer, méthodiquement.

Les précédentes missions utilisaient un filet tendu devant la grotte pour capturer les chauves-souris. A leur sortie, elles s'empêtraient dans les mailles du filet et il fallait ensuite abaisser le filet et longuement les extraire. Ce n'était pas une tâche facile. Leurs ailes et leurs griffes s'em mêlaient dans le filet et cela était un travail long et fastidieux.



Mission 1 Grotte de Zaida Chauve-Souris
Roussifus aegyptiacus Femelle avec Pêché



Mission 1 Grotte de Zaida Chauve-Souris Roussifus aegyptiacus

Aujourd'hui, on utilise pour la première fois, une nouvelle technique : le "Piège Harpe". Acheté aux Etats Unis, il doit son nom à sa conception : des tubes en aluminium coulissent les uns dans les autres, afin de régler la hauteur du piège et de l'adapter à l'ouverture de la grotte. L'ensemble est composé d'un cadre métallique avec des fils de pêche tendus verticalement tous les 2 à 3 cm. Une fois en place devant l'entrée, les

chauves-souris ne voyant pas les fils extrêmement fins, viennent les percuter. Les fils stoppent alors les chauves-souris dans leur élan. Elles tombent dans une poche en plastique semi-rigide positionnée de telle manière que les chauves-souris ne peuvent s'en échapper. Bloquées contre les parois de la poche, il suffit alors de les cueillir avec des gants. Ce cadre en tube métallique avec cette série de fil de pêche, ressemble à s'y méprendre, à une harpe, où les montants maintiennent des cordes de grosseurs différentes correspondant à des vibrations différents, et donc à des sons de fréquences variables. Ici, le but n'est pas de faire de la musique, mais par analogie avec l'instrument de musique, il est appelé « piège harpe ».

Mission 1 Grotte de Zada Equipe au Travail Prélevements



Mission 1 Grotte de Zada Equipe au Travail Prélevements



Ce piège est très pratique, fonctionne parfaitement bien et permet une récolte rapide des chiroptères.

Afin que le système soit efficace, il faut bien entendu, fermer au maximum l'entrée de la grotte



Mission 1
Grotte de Zardé
Fil des Travaux
Démontage du
Piège

autour du piège harpe. Ceci est fait à l'aide de grandes bâches maintenues par de longs bouts de bois positionnés verticalement contre les parois de la grotte. Les chauves-souris sont contraintes de passer par la seule ouverture disponible, le piège.

Une fois mise en place, il est d'une redoutable efficacité. Nous sommes tous assis sur le côté de la grotte et les opérations sont chronométrées. On laisse le piège fonctionner pendant 10 minutes (c'est le temps d'une récolte), puis Mathieu avec son assistant, fonce sur le piège, et avec des gants de protection, ils attrapent une à une les chauves-souris. Chacun à son tour donne le nom de l'espèce, et notre guide Roger, assis sur un rocher, comptabilise les chauves-souris selon l'espèce et le sexe. Les noms fusent : moustettes, colesons, moustettes, café, coleson, café, etc.

En moins de 5 secondes, une barre est fixée sur le papier et la chauve-souris relâchée. Faisant le bilan, à la grotte du FAUCON, en 10 minutes, on dénombre plus de 200 chauves-souris capturées, déterminées, notées, et ensuite relâchées ! C'est réellement impressionnant. Pendant 10 minutes, c'est un égrenage long et monotone de noms d'espèces qui se suivent à un rythme soutenu. Travail rapide et précis. Capture à la main en plongeant dans la poche de rétention, inspection rapide, détermination de l'espèce, inscription du nom et remise en liberté. Un échantillon de 50 chauves-souris, représentatif des chiroptères capturés, est recueilli. Chacune d'elles est placée dans un sac de contention en toile, et suspendu à une branche posée horizontalement entre 2 rochers. Elles vont passer la nuit et seront disponibles le lendemain matin pour les prélèvements de fèces. Le sac permettra de recueillir pendant la nuit, les oroties qui seront ensuite analysées de retour dans les laboratoires de haute technologie du CIRM.



Mission 1 Grotte de
Zardé Fil des Travaux
Démontage du Piège

Ce ballet va donc se répéter pendant plusieurs heures. Les captures vont s'effectuer de 18 h jusqu'à 22 heures. Pendant quatre sorties, les deux grottes seront étudiées et près de 3000 chauves-souris seront capturées. Le travail de comptage et de capture fini, on démonte le piège à harpe et on enlève les bâches.



redonnant ainsi, toute liberté aux mammifères volants. On laisse le matériel sur place pour les captures du lendemain. Tous les vêtements et les gants à usage unique seront incinérés. Les boîtes et le matériel sont désinfectés avec un produit virucide classique et extrêmement efficace contre les microorganismes : l'eau de Javel !

Installation des Conteneurs

Le travail sur les chauve-souris, se fera en plein air, au niveau même de la grotte. La deuxième équipe de chercheurs va faire le trajet, le matin de bonne heure, pour être sur les lieux de travail, le plus tôt possible. Les guides coupent tout de suite des branches, et improvisent une table de travail technique : quatre pieds en fourches, tenant quatre rondins horizontaux. En travers, une vingtaine de branches plus fines, mais suffisamment grosses soutiendront le matériel. Les sacs de contention contenant les chauve-sou-

ris capturées la veille, sont là, sur le côté. Autour de la table, le travail commence. Avec le premier sac, à la grotte de Zadi, arrivent aussi les premières abeilles. Toute l'équipe va travailler sous la ruche continuée des abeilles. Notre guide va faire un feu pour les éloigner. On y met des feuilles humides, mais l'épaisse fumée qu'on essaye d'entretenir, n'apporte que peu de répit.

Les chauve-souris, une à une, sont sorties des sacs. Une première personne ouvre le sac et annonce l'espèce et le sexe. Au bout de la table, le préposé à l'enregistrement, note les informations. On lui attribue un numéro. Puis elle passe dans une autre main sur la droite. Le sac part à gauche de la table. On l'inspecte et on recueille dans un petit tube, les fèces de l'animal qui a déféqué pendant la nuit. Le numéro est inscrit sur le tube, et il est stocké dans une glacière. Les tubes seront ensuite placés dans l'azote



Mission 1 : Grotte de Zadi, Frelonvertant, Résultats
Expériences

Mission 1 Grotte de Zadi Prélèvement Sang sur Lames



tées, le collègue lui prend les mesures alarés avec une règle. Ensuite on la plaque sur la table, et délicatement, on lui fait une petite piqûre. La goutte de sang qui rejaillit est prélevée. Avec des lames on étale le sang. Elles permettront la recherche de parasites du sang. Sur un buvard, une goutte de sang est prélevée. Tous ces échantillons biologiques permettront la recherche d'agents pathogènes.

A la fin, les dernières mains, vont inspecter le pelage des chauves-souris pour y trouver et prélever des ectoparasites. On passera aussi son poil avec un peigne afin d'en recueillir les puces. Au final, la chauve-souris est rendue à la liberté. Au fur et à mesure, toutes les informations sont notées sur la fiche. Chaque jour, pendant 5 à 6 heures, 50 chauves-souris seront ainsi prélevées sur les grottes de Zadi et du Faucon.

Premier Eilan de la mission

Toutes ces actions sur le terrain sont destinées à améliorer la connaissance du rôle des chauves-souris et des rongeurs en tant que réservoirs

liquide, au campement, pour la conservation à long terme. Puis sur la crotte, pendant qu'une personne tient la chauve-souris, les ailes écar-



Mission 1 Grotte de Zadi Transfert des Sacs de Contention

potentiels de virus et de parasites. Les données sur leurs comportements (éthologie) sont très des chiroptères atrapés le soir. Ainsi, pourra-t-on avoir des informations sur le comportement, l'importance des colonies et leurs positions dans les grottes. Peut-être cernera-t-on mieux les densités de populations, les organisations à l'intérieur des grottes, les hiérarchies à la sortie, les comportements inter-espèces, etc.

La recherche de flavivirus (Ebola ou Marburg) ou paramyxovirus (NIPAH, HENDRA et autres) ou d'autres familles virales, permettra d'assurer un suivi longitudinal dans l'année, au cours de plusieurs missions. On pourra suivre ainsi la prévalence, la réplication et la transmission de certains virus.

La recherche parasitologique permettra peut-être de mieux comprendre certains phénomènes de transmission de virus ou autres agents pathogènes entre chauves-souris et homme.

Les recherches des pathogènes sur les rongeurs vont permettre (en obliant des populations urbaines de rongeurs ainsi que des populations de rongeurs vivant hors des milieux anthropisés) de mettre en évidence la présence ou l'absence de parasites reconnus, comme les *Plasmodium vinkei* ou *chabaudi*. Ceux-ci, on le sait, existent chez les rongeurs urbains; mais on ignore tout actuellement de leurs présences chez les rongeurs de forêt.

Si après l'étude des sangs raménés, on découvre certains virus ou parasites, des techniques de biologie moléculaire seront appliquées.

Travail de longue haleine, fastidieux, physique,



Mission 1 Grotte du Fauces Chauve-Souris *Hipposideros griseus* Morant.

parfois éprouvant, méthodique, souvent répétitif, mais qui est indispensable, pour ajouter régulièrement, à force de petites avancées, des briques supplémentaires dans l'édifice de la connaissance. Comme on le voit, après une mission de terrain, un énorme travail de laboratoire est nécessaire en aval. Travail en blouse blanche, dans un laboratoire climatisé, avec du matériel sophistiqué (thermo-cycleur ou séquenceurs) et de haute technicité, dans un environnement calme, après l'enter du terrain ! Mais toutes ces avancées, débouchent sur de nouvelles questions qui vont amener à aller plus profondément dans la connaissance de la biodiversité, de la conservation, de l'équilibre dans la nature des germes pathogènes et des populations animales hôtes et vecteurs. Autant de missions qui se profilent déjà...

Les chauves-souris sont des mammifères appartenant à l'ordre des chiroptères. On en compte plus de 100 espèces dans le monde au total, environ 20 en France métropolitaine. Il y a aussi des espèces maritimes à bord des côtes de notre pays. Ils sont tous dotés de caractères qui les rendent très intéressants (voir ci-dessous) et de capacités remarquables. Cette espèce si riche (et qui est mal connue en France) comprend des espèces qui vivent en grottes, les espèces de plaines vivent sur les rochers, etc. pour les plus abondantes. Plusieurs espèces sont présentes en Europe et l'Afghanistan compte plus de 30 espèces.