

## Impact et stratégie de prévention contre l'Ebola virus chez les grands singes d'Afrique

**Auteur :** Lecoutey, Titouan

**Promoteur(s) :** Linden, Annick

**Faculté :** Faculté de Médecine Vétérinaire

**Diplôme :** Master en médecine vétérinaire

**Année académique :** 2020-2021

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/12291>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

# Impact et stratégies de prévention contre l’Ebola virus chez les grands singes d’Afrique

*Impact and prevention strategies  
against Ebola virus in African great  
apes*

**Titouan LECOUTEY**

**Travail de fin d’études**  
présenté en vue de l’obtention du grade  
de Médecin Vétérinaire

**Année académique 2020/2021**

**Le contenu de ce travail n’engage que son auteur**

# Impact et stratégies de prévention contre l’Ebola virus chez les grands singes d’Afrique

*Impact and prevention strategies  
against Ebola virus in African great  
apes*

**Titouan LECOUTEY**

Tuteur: Professeur Annick Linden

**Travail de fin d’études**  
présenté en vue de l’obtention du grade  
de Médecin Vétérinaire

**Année académique 2020/2021**

**Le contenu de ce travail n’engage que son auteur**

# **Impact et stratégies de prévention contre l’Ebola virus chez les grands singes d’Afrique**

## **OBJECTIF DU TRAVAIL**

L’objectif de ce travail est de synthétiser les connaissances que nous avons sur le virus Ebola, d’évaluer son impact et de discuter des stratégies à mettre en place pour minimiser cet impact sur les populations de grands singes, principalement au Congo et au Gabon.

## **RÉSUMÉ**

Le virus Ebola a été très médiatisé chez l’homme lors des épidémies de 2013 à 2016 et est devenu une préoccupation majeure en terme de maladie émergente zoonotique. Ce qui est moins connu, c’est qu’il impact également de manière dramatique les populations de grands singes, notamment au Gabon et au Congo. A tel point qu’en 2007, les gorilles des plaines occidentales sont passés du statut d’espèce "en danger" à celui d’espèce "en danger critique d’extinction" par l’Union Internationale pour la Conservation de la Nature. Ceci nous pousse donc à discuter des stratégies à envisager pour protéger ces espèces. Nous passons en revue les connaissances actuelles que nous avons sur le virus Ebola chez les grands singes et discutons des moyens qui sont à notre disposition dans la lutte contre ce virus. De nombreux vaccins sont actuellement en cours d’étude et nous évaluons la possibilité d’une telle application à l’échelle de ces populations. Nous discutons des aspects du comportement des primates, de la biologie du virus, de la composition des vaccins et des principes de vaccination qui doivent être pris en compte lors des décisions de gestion concernant la vaccination des grands singes. Nous mettons également en avant l’importance de la surveillance et de la recherche qui permettrait la préservation des grands singes. Enfin nous débatons sur les limites de ces stratégies et des difficultés auxquelles nous sommes ou serions confrontés en cas de feu vert pour leur vaccination.

# **Impact and prevention strategies against Ebola virus in African great apes**

## **AIM OF THE WORK**

The objective of this work is to synthesise what we know about the Ebola virus, assess its impact and discuss strategies to minimise this impact on great ape populations, mainly in Congo and Gabon.

## **SUMMARY**

The Ebola virus has been highly publicised in humans during the 2013 to 2016 epidemics and has become a major concern in terms of an emerging zoonotic disease. What is less well known is that it is also having a dramatic impact on great ape populations, particularly in Gabon and Congo. So much so that in 2007, the Western Lowland Gorillas were downgraded from "endangered" to "critically endangered" by the International Union for Conservation of Nature. This leads us to discuss strategies to protect these species. We review what we know about the Ebola virus in great apes and discuss the means available to us in the fight against this virus. Many vaccines are currently under investigation and we assess the possibility of such an application on a population scale. We discuss aspects of primate behaviour, virus biology, vaccine composition and vaccination principles that need to be considered when making management decisions regarding vaccination of great apes. We also highlight the importance of surveillance and research for the preservation of great apes. Finally, we discuss the limitations of these strategies and the difficulties we face or would face if vaccination were to be given the green light.

# Remerciements

## **A mes parents**

De m'avoir soutenu durant toutes ces années  
Pour avoir toujours fait votre possible et même plus pour m'aider  
Un grand merci et pardon pour les émotions!

## **A mes soeurs Lisa et Anouk**

Qui ont toujours cru en moi  
Qui m'ont supporté dans mes études et dans la vie  
Je vous laisserai me battre un jour au Jungle speed pour la peine  
Je vous aime

## **A Jean François, Nathalie et les enfants**

Pour m'avoir accueilli comme un membre de la famille  
Merci Jeff d'avoir été mon Sensei, je n'aurais pu rêver mieux!

## **A Louis**

Le frerot d'autres parents,  
Si t'avais pas existé, j'aurais probablement pas eu assez d'ingrédients pour t'inventer mais  
j'aurais essayé pour sûr!

## **A Alexandre**

Le deuxième frerot,  
Je prends déjà RDV ici pour le contrôle prostatique dans 30 ans,  
Merci pour tout et félicitation!

## **A Benoit, Marine et Géraud**

J'aurais fait tout mon possible pour dépasser la note de -1000, j'espère ne vous avoir pas trop  
déçu...  
Encore un grand merci et à très vite!

## **A l'université de Liège**

Pour m'avoir permis de faire et terminer mes études  
Et à ses professeurs qui m'ont aidé durant ces innombrables années

## **A tous ceux qui m'ont aidé pour en arriver là,**

Merci du fond du coeur!

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| Introduction .....                                                           | 8  |
| 1. Généralités.....                                                          | 9  |
| 1.1. Rappel historique.....                                                  | 9  |
| 1.2. Etiologie.....                                                          | 10 |
| 1.2.1. Structure.....                                                        | 10 |
| 1.2.2. Cycle viral.....                                                      | 12 |
| 1.3. Epidémiologie.....                                                      | 13 |
| 1.4. Pathogénie.....                                                         | 15 |
| 2. Les vaccins candidats potentiels.....                                     | 17 |
| 2.1. Vaccins à vecteurs non réplicatifs.....                                 | 17 |
| 2.1.1. Alphavirus et répliques de flavivirus.....                            | 17 |
| 2.1.2. Vecteurs recombinants à base d'adénovirus.....                        | 17 |
| 2.2. Vaccins à vecteurs réplicatifs.....                                     | 18 |
| 2.2.1. Vaccin basé sur le cytomégalovirus.....                               | 18 |
| 2.2.2. Vecteurs recombinants à base de paramyxovirus.....                    | 19 |
| 2.2.3. Vecteurs recombinants à base de virus de la stomatite vésiculeuse.... | 19 |
| 2.2.4. Vecteurs recombinants à base de virus de la rage.....                 | 19 |
| 2.3. Vaccins inactivés et sous unités vaccinales.....                        | 20 |
| 3. Enjeux du contrôle d'Ebola et stratégies de prévention.....               | 20 |
| 3.1. Impact sur les populations et nécessité d'un contrôle.....              | 20 |
| 3.1.1. Conséquences des épidémies sur les populations de grands singes....   | 20 |
| 3.1.2. Enjeux du contrôle pour<br>l'homme.....                               | 21 |
| 3.2. Moyens de détections et épidémiosurveillance .....                      | 22 |
| 3.2.1. L'observation des populations de grands singes.....                   | 22 |
| 3.2.2. Prélèvements sur les carcasses.....                                   | 23 |
| 3.2.3. Prélèvements sur des animaux vivants.....                             | 24 |
| 3.3. Stratégies vaccinales possibles.....                                    | 25 |
| 3.3.1. Prévention dans les populations habituées.....                        | 26 |
| 3.3.2. Contrôle des foyers dans les populations habituées.....               | 26 |
| 3.3.3. Prévention dans les populations non habituées.....                    | 27 |

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| 3.3.4. Contrôle dans les populations non habituées.....       | 27 |
| 3.4. Difficultés de mise en place et mise en perspective..... | 28 |
| Conclusion.....                                               | 30 |
| Bibliographie.....                                            | 32 |
| Annexe.....                                                   | 39 |



L'Ebola virus est connu chez l'homme pour être à l'origine d'épidémie très meurtrières. Cette maladie fait peur car elle se propage très rapidement avec un taux de mortalité très élevé, 70 à 80 % des cas humains décèdent des suites de fièvre hémorragique. Découverte pour la première fois en 1976, ce n'est qu'en 2013 qu'elle a réellement inquiété la communauté internationale en raison de l'ampleur de l'épidémie survenue en Afrique de l'Ouest. Elle aurait engendré plus de 28 000 cas et tué plus de 11 000 personnes (World Health Organization, 2016). Depuis, elle réapparaît sporadiquement d'un réservoir inconnu et a causé plus de 20 épidémies en Afrique dont la dernière en date s'est terminée le 7 février dernier (OMS 2021). Ce virus a le potentiel de se répandre mondialement et est classé comme pathogène de type A et à ce titre considéré comme un agent de bioterrorisme. Ce qui est moins connu, c'est que cette maladie zoonotique a également un impact extrêmement important sur les populations de gorilles (*Gorilla gorilla*) et de chimpanzés (*Pan troglodytes*) d'Afrique centrale en les décimant massivement au cours des dernières décennies. A tel point que l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN) classe actuellement le gorille des plaines occidentales (*G. gorilla gorilla*) parmi les espèces en danger critique d'extinction et cite les maladies infectieuses comme l'une des deux principales menaces pesant sur cette espèce (Le Gouar et al., 2009). L'impact sévère d'Ebola indique la nécessité d'une surveillance efficace et pose la question de savoir si la vaccination des grands singes sauvages est une stratégie efficace pour réduire l'apparition et l'impact de cette maladie. Des désaccord semble s'articuler autour de deux points majeurs, l'un sur l'éthique de l'intervention dans des systèmes " naturels " et l'autre sur l'ampleur de la menace et la rentabilité de la vaccination par rapport à d'autres stratégies de conservation ( Warfield et al., 2014). Divers vaccins sont en développement et deux ont déjà été d'application en médecine humaine lors de la 11ème épidémie qui s'est terminée en novembre 2020 et qui a touché le Congo durant 6 mois. Cependant ces grands singes sont difficilement approchables de par leur nature comme de leur habitat et il est difficile d'évaluer exactement l'étendu des dégâts qu'à la maladie sur eux. Comment alors évaluer l'impact de la maladie sur les populations de grands singes d'Afrique centrale? Quelles sont les stratégies envisageables pour protéger ces populations contre le virus Ebola? Dans le cas d'un vaccin sûr, de quelle manière peut-on mettre en place une stratégie vaccinale qui permette à la majorité des individus d'être protégés?

## 1. Généralités

### 1.1. Rappel historique

La découverte d'Ebola a eu lieu en 1976 en Afrique centrale, où se sont déclarés deux foyers simultanément à Yambuku dans une région du nord du Zaïre (aujourd'hui République Démocratique du Congo ) ainsi qu'à Nzara, dans la province ouest-équatoriale du Soudan. Les agents pathogènes à l'origine de ces épidémies ont ensuite été identifiés comme étant deux souches différentes d'un même virus, pour le Congo les souches Ebola virus (EBOV) et Sudan virus (SUDV) pour le Soudan. L'apparition simultanée de ces deux souches différentes proviendrait selon les épidémiologies de deux réservoirs différents sous la pression d'un facteur commun (Baseler et al., 2016). Une troisième espèce d'Ebola virus, Reston ebolavirus (RESTV), a été découverte lors d'une épidémie chez des singes *Cynomolgus* importés des Philippines dans une installation aux États-Unis en 1989. Cette espèce n'induit pas de fièvre hémorragique chez les humains mais elle est fatale chez les macaques *Cynomolgus* (Feldmann et al., 2011). RESTV a été retrouvé chez des porcs aux Philippines en 2008 (Barrette et al., 2009) et plus récemment, chez des porcs en Chine, en 2014, ainsi que chez des macaques aux Philippines en 2015. En novembre 1994, une quatrième espèce, le Tai Forest Ebola virus (TAFV), a été la première espèce d'Ebola à être découverte chez les grands singes. Douze chimpanzés *Pan troglodytes* verus du Taï National park en Côte d'Ivoire qui étaient habitués à l'homme sont morts ou ont disparu en quelques semaines. Ebola fut confirmé par immunohistologie sur les carcasses et isolée chez un vétérinaire qui pratiquait une autopsie de chimpanzé. Il n'y a plus eu à ce jour d'épidémie due à cette souche. La souche Bundibugyo (BDBV) a, quant à elle, été responsable de l'épidémie de 2007 en Ouganda ainsi que d'une épidémie plus récente en République démocratique du Congo (RDC) (OMS, 2012). Enfin la dernière et plus récente est la souche Bombali (BOMV) reportée pour la première fois en 2018 au Sierra Leon chez des chauves-souris à queue libre angolaise (Martin et al., 2020).

C'est la souche EBOV qui a eu l'impact le plus significatif sur les populations de grands singes. Les épidémies majeures ont eu lieu au nord-est du Gabon et en République démocratique du Congo en 1994 et au début des années 2000. Toutefois, du fait de la difficulté de surveiller les colonies de grands singes, des épidémies ont bien pu avoir lieu sans être détectées. La plupart des informations que nous avons sur les épidémies chez les grands singes à cette période proviennent de trois épidémies humaines qui ont eu lieu à cette époque (figure 1). Tout d'abord vers le milieu des années 90, trois épidémies dans la faune sauvage ont été rapportées. La première a eu lieu dans la forêt de Minkébé où un cas humain s'est

déclaré dans un campement de chercheurs d'or, des morts dans la population locale de gorille et de chimpanzé ont été rapportés (Huijbregts et al., 1991). Un an plus tard, une nouvelle épidémie est déclenchée 40 km plus au sud suite au dépeçage d'un chimpanzé qui avait été retrouvé mort. Enfin la troisième a eu lieu 160 km encore plus au sud 6 mois plus tard, lorsque deux chasseurs ayant tué plusieurs singes mangabeys contractèrent la maladie. Durant et après cette période, de nombreux chimpanzés et gorilles furent retrouvés morts indiquant que la maladie avait infecté les grands singes pendant une longue période (Lahm et al., 2006). Les tests immuno-histologiques étaient positifs pour Ebola. Les données de surveillance récoltées par la suite dans les zones touchées indiquèrent une réduction extrêmement importante (90-98%) des populations de gorilles et de chimpanzés (Walsh et al., 2003). En comparaison, le taux de létalité chez l'homme lors de ces épidémies était de 59-75%. Cela s'explique plus par les soins médicaux apportés aux malades que par une résistance biologique à la maladie.

Suite aux associations entre les épidémies humaines et de grands singes ainsi que les contacts fréquents entre les deux, la consommation de viande de brousse et le déclin drastique de la population des grands singes, un réseau de surveillance a été mis en place au nord-est du Gabon et en RDC. Des carcasses de grands singes furent retrouvées dans plusieurs forêts comme le sanctuaire de Lossi et le parc national d'Odzala en RDC où on estime la perte de 90% de la population chez habituées à l'homme. Rien que dans le sanctuaire de Lossi on estime que 5000 individus sont morts (Bermejo et al. 2006). On pense qu'Ebola est responsable de la mort des grands singes de la forêt d'Odzala jusqu'à au moins 2006, cependant, aucun cas d'Ebola n'a été recensé depuis 2005. Une épidémie à Boende, RDC pourrait être en lien avec une carcasse de primate contaminée mais rien n'a été confirmé.

Ebola a donc tué des milliers de gorilles et chimpanzés (un nombre de morts bien plus important que chez l'homme) dans les forêts d'Afrique centrale où réside la majorité de ce qu'il reste des grands primates. Ce déclin démographique catastrophique a conduit l'Union mondiale pour la nature (UICN) à faire passer l'espèce de gorille des plaines occidentales du statut d'espèce "en danger" à celui d'espèce "en danger critique d'extinction" dans la Liste rouge des espèces menacées de 2007 (Le Gouar et al., 2009).

## 1.2. Etiologie

### 1.2.1. Structure

Les virus de la maladie Ebola appartiennent à l'ordre des Mononegavirales et à la famille des Filoviridae. Il existe trois genres au sein de cette famille: les virus de la maladie

d'Ebola ou Ebolavirus, le virus de la maladie de Marburg ou Marburg virus et le Cuevavirus. Le genre Ebolavirus est subdivisé en six espèces, chacune étant représentée par un virus de type unique : Zaire Ebolavirus (EBOV), Taï forest Ebolavirus (TAFV), Reston Ebolavirus (RESTV), Sudan Ebolavirus (SUDV), Bundibugyo Ebolavirus (BDBV) et Bombali Ebolavirus (BOMV). Seules les souches EBOV et TAFV ont été détectées chez les grands singes. EBOV est un virus à ARN non segmenté de polarité négative d'une taille d'environ 19 kb (Baseler et al., 2016). Les particules d'Ebola ont un diamètre uniforme d'environ 80 nm mais leur longueur (jusqu'à 14000 nm) et leur forme sont très variables, la forme filamenteuse étant la plus caractéristique. Il est constitué de 7 gènes (Figure 3) dont le premier est le gène codant pour la nucléoprotéine NP, la protéine qui entoure majoritairement le complexe ribonucléique (RNP), partie centrale du virion. Elle permet l'encapsidation des ARN viraux lors de la transcription et de la réplication du virus Ebola (Leroy et al., 2015). Ensuite vient le gène codant pour la protéine virale VP35 qui est un cofacteur de la polymérase, elle permettrait le recrutement de cette polymérase sur l'ARN viral pour la transcription et la réplication. Elle participe également à la formation de la structure hélicoïdale des RNP mais aussi à inhiber l'action d'ARN interférents (ARNi). Ces ARNi sont synthétisés par l'hôte en réponse à une infection virale et prennent pour cible les ARNm viraux. Elle jouerait enfin un rôle d'antagoniste dans la réponse interféron ainsi que dans l'activation des lymphocytes T CD4. Le gène VP40 code pour une protéine de matrice associée à la membrane, elle forme la structure filamenteuse des particules virales et relie la nucléocapside à la membrane lipidique dérivée de l'hôte.

Tous les gènes sont monocistroniques sauf le gène GP qui code pour trois glycoprotéines. Le produit principal de ce dernier est la glycoprotéine soluble (sGP) mais il produit également en plus petite quantité la glycoprotéine transmembranaire et une autre glycoprotéine soluble (ssGP). La sGP serait une protéine virale libérée en abondance et agirait comme un leurre en se liant aux anticorps neutralisants de l'EBOV pour entraver la réponse immunitaire humorale. En ce qui concerne la VP30, phosphorylée, elle serait impliquée dans la formation de la nucléocapside par interaction avec la protéine NP. Non phosphorylée, elle jouerait le rôle de facteur de transcription primaire ainsi que l'édition de l'ARN (Baseler et al., 2016). Elle inhiberait également les ARNi. Ensuite vient le gène de la protéine virale VP24 qui joue un rôle important dans l'assemblage de l'ARN et sert de médiateur pour le bourgeonnement des particules provenant des cellules infectées. Elle serait, comme la protéine VP35 un puissant inhibiteur de la production d'interféron et de la signalisation de l'interféron. Enfin, l'ARN polymérase L, ARN dépendante porte les

domaines fonctionnels enzymatique pour la transcription et la réplication du génome. Les protéines NP, VP35, VP40 et l'ARN polymérase L suffisent pour diriger la réplication et la transcription du génome. Les protéines NP, L et VP35 sont donc nécessaires à la réplication virale et NP/L/VP35/VP30 à la transcription.

#### 1.2.2. Cycle viral

Le cycle viral d'Ebola comprend huit étapes. Dans un premier temps, il infecte les cellules en se fixant à diverses molécules cellulaires, y compris des molécules de type lectine (un type, les lectines C joue un rôle dans la réponse immunitaire innée des mammifères). Il se lie également à des facteurs exprimés par les macrophages et les cellules dendritiques (facteur DC-SIGN)(Simmons et al., 2002), par des cellules endothéliales (DC-SIGNR), des  $\beta$ -intégrines, et la protéine TIM-1 (T-cell immunoglobulin and mucin domain-1). Cela peut expliquer le spectre d'hôte très large d'Ebola ainsi que le tropisme pour un grand nombre de cellules. La glycoprotéine GP est constituée de 2 sous-unités et une fois glycosylée, se lie aux récepteurs cellulaires. La sous-unité GP1 joue un rôle dans l'attachement viral tandis que la sous-unité GP2 joue un rôle dans la fusion membranaire (Escudero-Pérez et al., 2014). La sous-unité GP2 possède quatre domaines qui interagissent entre eux, entraînant une modification de conformation de la glycoprotéine et permettant la fusion des membranes cellulaire et virale. Ces quatre domaines sont le peptide de fusion. Les particules virales pénètrent ensuite dans les cellules par macropinocytose et, dans de moindres proportions par endocytose médiée par la clathrine. Cela entraîne la formation de vésicules de 200 à 10 000 nm.

Le transport du virus nécessite de nombreuses protéines dont les protéines Rab5 et Rab7, petites GTPases ubiquitaires qui régulent le transport des vésicules chez les mammifères, et le complexe Homotypic fusion and protein sorting (HOPS) qui régule la fusion des membranes au niveau du lysosome. Ce transport permet d'accéder aux compartiments comprenant les cathepsines et la protéine Niemann-Pick C1 (NPC1), indispensables à l'activation et la libération de la GP dans le cytoplasme. La GP est clivée par des protéases endosomales : les cathepsines B et L. Après ce clivage, les virions deviennent infectieux. Les cathepsines B et L sont présentes dans les endosomes et les lysosomes d'une grande variété de cellules de mammifères (Chandran et al., 2005). Les cathepsines sont donc indispensables pour l'infection mais ne permettent pas la fusion de la membrane endosomale avec la membrane virale. Ceci est permis par la protéine NPC1 présente dans les endosomes tardifs et lysosomes. La GP se lie à NPC1 uniquement lorsqu'elle est activée. En effet, le clivage par les cathepsines expose un domaine de liaison à la protéine NPC1. Cette dernière

est très conservée chez les animaux et présente chez de nombreuses espèces. Ceci est un nouvel argument justifiant la capacité du virus Ebola à infecter de nombreuses espèces animales.

Le matériel viral est ensuite libéré dans le cytoplasme pour y être traduit et transcrit. Cette étape est médiée par la polymérase qui, à partir du brin d'ARN donne 8 ARN messagers. L'ARNm du gène GP est traduit en précurseur GP0 et en glycoprotéine soluble GPs, sécrétée par la cellule infectée. Le précurseur GP0 est ensuite clivé pour donner une sous unité de surface GP1 et une sous unité GP2 transmembranaire toutes 2 liées par un pont disulfure. GP1 et GP2 forment la GP de surface. La réplication est réalisée par le complexe enzymatique constitué de L/NP/VP30/VP35 (Baseler et al., 2016) et donne naissance à un brin d'ARN de polarité positive, le brin anti-génomique. C'est le brin matrice pour la production de nouveau ARN à polarité à polarité négative. Le brin d'ARN viral est ensuite associé à une ribonucléocapside composée de nucléoprotéine et de la protéine virale VP24. Le virion sort ensuite de la cellule par bourgeonnement où il acquiert sa membrane lipidique.

### 1.3. Epidémiologie

Suite à l'épidémie de 1976, le piégeage de nombreux animaux a été effectué pour identifier le réservoir du virus. Au total, près de 7000 animaux vertébrés appartenant à de nombreuses espèces (singes, rongeurs sauvages, écureuils, chauves-souris, antilopes, porcs épiques, potamochères, cochons domestiques, oiseaux, amphibiens, reptiles ...) et invertébrés (moustiques, punaises, puces, tiques, poux ...) ont été capturés près des habitations des malades lors des épidémies. Cependant, toutes ces études menées en RDC, au Soudan, en RDC, au Gabon et en Côte-d'Ivoire, et ces tentatives d'isolement et de détection d'anticorps spécifiques se révélèrent toutes infructueuses (Leroy et al., 2015). Des tentatives d'inoculation à différentes espèces ont été effectuées mais, bien que certaines espèces de chauves souris aient présenté des virémies transitoires, aucune preuve n'a pu être apportée sur leurs rôles à l'état naturel. Ce n'est que lors des épidémies survenues entre 2001 et 2003 au Gabon que de nouvelles captures d'animaux autour de carcasses de chimpanzés et de gorilles ont permis d'identifier au moins trois espèces de chauves souris comme réservoir de la maladie. Des IgG anti-ebola et des séquences nucléotidiques du virus ont été détectées chez *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* et chez *Myonycteris torquata* (Leroy et al., 2005). Ces résultats confirment certains indices épidémiologiques recueillis pendant les épidémies précédentes évoquant un lien avec la présence des chauves souris (Figure 4). D'autant que d'autres membres des *filoviridae* ont également pu être détectés chez plusieurs

espèces de chiroptères (Marburg chez *Rousettus aegyptiacus*; Lloviu chez plusieurs espèces de *Miniopterus*). Tout cela penche en faveur du fait que les chauves souris frugivores seraient le réservoir probables des *Filoviridae* et en particulier du virus Ebola.

Les grands primates ne sont, eux, ni porteurs naturels et asymptomatiques du virus, ni capables de maintenir l'infection indéfiniment, deux critères importants pour un hôte réservoir (Olival et al., 2014). Ce sont plutôt des “hôtes accidentels” et sans issue pour la maladie du fait des taux élevés de létalité, de leurs populations en déclin et à leur aire de répartition géographique limitée. Il est difficile de savoir comment sont contaminés les primates sans avoir une idée précise du cycle d'Ebola. Les grands singes ne chassent pas les chauves-souris, mais ils peuvent potentiellement entrer en contact direct avec des chauves-souris frugivores qui se perchent dans les arbres où les grands singes se nourrissent, ou avec des chauves-souris insectivores qui se perchent dans les trous des arbres où les grands singes cherchent du miel, des insectes ou de l'eau (Leendertz et al., 2016). Ils peuvent également être infectés par les excréments de n'importe quel type de chauve-souris ou d'autres animaux lorsqu'ils ingèrent des aliments contaminés par des fèces, de l'urine ou de la salive, bien qu'une telle excrétion du virus Ebola chez des chauves-souris infectées naturellement reste à confirmer (Olival et al., 2014). Le contact direct avec d'autres hôtes infectés est une autre voie d'infection possible, via la chasse de singes ou d'autres proies susceptibles d'être infectées, et lors de l'inspection de carcasses infectées (Karesh et al. 2012). Dans le foyer de chimpanzés en Côte d'Ivoire, la prédation des singes colobes rouges *Piliocolobus badius* a été considérée comme un facteur de risque (Formenty et al. 1999), mais n'a pas été confirmée comme une voie de transmission.

Deux théories existent quant à la façon dont le virus se propage au sein de leurs communautés (Leendertz et al., 2016). La première est l'infection de groupe à groupe après une ou plusieurs introductions du virus à partir du réservoir d'origine ou d'autres animaux infectés dans une population naïve de grands singes. Cette propagation se fait soit par contact direct, lors de rencontres intergroupes, de copulations extracommunautaires ou de l'émigration des femelles (y compris les femelles gorilles infectées qui quittent le groupe après la mort du dos argenté), soit par partage de sites d'alimentation ou de domaines vitaux. Le virus Ebola a été isolé dans le sperme de mâles humains infectés plusieurs mois après l'infection (Chughtai et al. 2016), ce qui indique que les singes mâles survivants pourraient initier de nouvelles chaînes d'infection si l'accouplement a lieu pendant la période infectieuse. Le potentiel de propagation de groupe à groupe chez les grands singes dépend de plusieurs

facteurs, notamment le temps d'incubation d'un individu spécifique (ou la longévité du sperme infectieux), la distance de déplacement et la densité des grands singes (Leendertz et al., 2016). La socialité des grands singes africains, y compris le système social naturel de fission-fusion des chimpanzés (Lehmann et al., 2004), peut également influencer la propagation du virus de manière positive ou négative en fonction du modèle de contact et des individus infectés. La deuxième théorie sur la façon dont l'infection peut se propager sur de vastes zones est que les épidémies se produisent principalement comme une conséquence directe de la propagation répétée d'un hôte naturel non identifié à ce jour dans des groupes sociaux de singes géographiquement séparés. La distribution de l'épidémie est donc définie par la dispersion et les mouvements de l'hôte réservoir lui-même plutôt que par ceux des singes (Leroy et al. 2004).

Les deux théories ne s'excluent pas mutuellement ; il est possible que ces deux modes de transmission soient importants, et que l'un ou l'autre puisse prédominer à certains moments ou sur certains sites, en fonction des facteurs sous-jacents qui déclenchent ou soutiennent les épidémies. Une épidémie s'arrête naturellement lorsque plus aucun individu sensible n'entre en contact avec des grands singes infectieux (morts ou vivants) ou du matériel infectieux. (Leroy et al., 2004) ont signalé que les carcasses restaient infectieuses pendant 3 à 4 jours sous la pluie ; on ne sait toutefois pas combien de temps le virus Ebola survit dans différentes conditions environnementales. Les incertitudes liées à l'écologie d'Ebola rendent la prévision des épidémies chez les animaux sauvages (et chez l'homme lorsque aucune épidémie antérieure n'a été détectée dans la faune sauvage) presque impossible, et sans données supplémentaires, la plupart de la ceinture tropicale de l'Afrique est considérée comme une zone à risque pour l'émergence d'Ebola (Pigott et al. 2014). Cela a des conséquences sur la préparation aux épidémies, tant chez l'homme que chez les animaux sauvages. Ce qui est clair, cependant, c'est que les grands singes sont exposés de façon intermittente aux virus Ebola dans leur environnement naturel, ce qui signifie que nous pourrions ne pas être en mesure de supprimer ou de prévenir l'exposition à la source de l'infection.

#### 1.4. Pathogénie

L'infection par le virus est très similaire à l'homme mais les primates y sont plus sensibles (Baseler., 2016). Les signes cliniques sont peu spécifiques et il est difficile, en milieu naturel, de les relier à Ebola. Ils sont, en particulier, difficilement distinguables de ceux d'autres maladies hémorragiques, notamment la fièvre hémorragique simienne. Le virus



pénètre par des muqueuses ou par une peau lésée. Les premières cibles du virus sont les cellules dendritiques, les monocytes et les macrophages (Leroy., 2015). La période d'incubation va durer entre 2 et 14 jours durant laquelle, après avoir migré dans les ganglions lymphatiques, la réplication et la dissémination du virus a lieu (Figure 5). Les premiers organes atteints sont le foie et des organes lymphoïdes comme la rate. Les protéines VP24, VP35 et sGP vont, comme évoqué précédemment, entrer en jeu pour éviter le système immunitaire. La maladie débute avec de la fièvre, de l'abattement, de l'anorexie avec une perte de poids, des vomissements, de la diarrhée, et ensuite avec un syndrome hémorragique qui se traduit par une diarrhée sanguinolente accompagnée parfois de méléna. Certains individus développent des pétéchies sur la peau. Cela se traduit au niveau moléculaire par une augmentation du NO et des cytokines pro-inflammatoires IL-6, TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$  et une CIVD (temps de coagulation augmenté, taux de protéine C diminué, niveaux de dimères-D accrus et expression de facteurs tissulaires). L'animal meurt 5 à 8 jours après l'apparition des signes cliniques.

Bien que le taux de létalité puisse atteindre 90 à 95 % chez les gorilles et 88 % chez les chimpanzés (Leendertz et al., 2016), des guérisons sont possibles. Des anticorps au virus Ebola ont été détectés dans le sang de chimpanzés nés à l'état sauvage et d'autres primates, ainsi que dans les fèces de gorilles sauvages, ce qui prouve que certains individus exposés au virus peuvent développer une réponse immunitaire et se rétablir après l'infection (Leroy et al. 2004b, Reed et al. 2014). La survie d'individus dans des groupes de grands singes dont d'autres membres sont morts d'Ebola suggère également que la guérison est possible (Bermejo et al. 2006). Les grands primates sont actuellement les seuls animaux chez lesquels une pathologie oculaire associée à l'antigène d'Ebola, similaire à celle observée chez l'homme, a été documentée après la guérison.

Notons que chez l'homme, une réponse inflammatoire précoce et mesurée aurait un rôle bénéfique dans le contrôle de l'infection. En effet, une faible réponse inflammatoire avec une forte réponse polyclonale lymphocytaire T spécifique du virus Ebola serait la clef du contrôle de la réplication virale. Inversement, la surexpression de certaines protéines (CTLA-4, PD-1), inhibitrices de la réponse immunitaire T et notamment de la prolifération des lymphocytes T spécifiques aurait un pronostic défavorable (Baseler et al., 2016).

## 2. Les vaccins candidats potentiels

La mise en œuvre de programmes de vaccination des grands singes semble superficiellement simple, puisque les humains et les grands singes sont génétiquement et physiologiquement similaires et présentent des réactions immunologiques similaires aux vaccins. Cependant, l'accessibilité limitée des grands singes en raison de leur nature insaisissable et de leur présence dans des habitats éloignés limite le choix du vaccin.

### 2.1. Vaccins à vecteurs non réplicatifs

#### 2.1.1. Alphavirus et répliques de flavivirus

Le virus de l'encéphalite équine vénézuélienne (EEV) a servi de plateforme pour le développement d'un vaccin. Il s'agit d'un alphavirus auquel on a, pour obtenir des répliques virales, substitué des gènes structuraux par les gènes codant pour les protéines GP, NP, VP40, VP35 ou VP40 (Marzi et al., 2014). Il s'est avéré que seul le vaccin exprimant la nucléoprotéine NP a conféré une protection chez les souris, provoquant une forte réponse des lymphocytes T cytotoxiques. Cependant, chez le cochon d'inde, c'est le vaccin EEV/ZEBOV-GP qui est protecteur ou en association avec le vaccin présentant la NP. Cependant, les tests effectués sur les macaques *Cynomolgus* après injection de EEV/ZEBOV-GP ou EEV/ZEBOV-NP ou en combinaison des deux n'ont pas été satisfaisant, tous les singes ayant dû être euthanasié au bout de 6 jours post infection (Marzi et al., 2014). Des recherches récentes ont permis l'amélioration de la fabrication de EEV/ZEBOV-GP et de EEV/SEBOV-GP et ont permis une protection totale des primates. Cependant, la protection croisée entre différentes souches d'Ebola n'a pas été observée et il est nécessaire d'effectuer un rappel. Cette approche de vaccin amélioré est prometteuse, mais nécessite une très forte dose de vaccin.

#### 2.1.2. Vecteurs recombinants à base d'adénovirus

Une autre plateforme vaccinale pour l'expression des antigènes d'Ebola sont les Adénovirus. Les adénovirus de sérotype 26 (humain), l'adénovirus du chimpanzé de sérotype 3 et l'adénovirus de sérotype 5 (Ad5) ont servi de support pour le développement du vaccin (Martin et al., 2020). Ce sont les EBOV-GP ou -NP qui ont été introduits dans ces virus. Les recherches les plus récentes testées sur les primates ont montré une protection de 100% suite à une infection létale de ZEBOV. Cependant, l'un des problèmes majeurs est l'immunité préexistante des adénovirus. Lors d'infections expérimentales de rongeurs et de primates, il a été démontré que l'immunité préexistante réduisait considérablement l'efficacité protectrice des vaccins à base d'Ad5 (chez l'homme de 60 à 90% dans certaines populations). Cependant, l'administration du vaccin par voie orale, nasale ou intratrachéale permet de

contourner l'immunité préexistante sans affecter la protection contre une charge létale du virus Ebola (Marzi et al., 2014). De plus, l'administration d'un vaccin de rappel permet de surmonter la présence d'une immunité spécifique chez les primates. Récemment, d'autres sérotypes d'adénovirus ont été utilisés pour développer une approche vaccinale contre plusieurs filovirus (Ebola, Marburg). Un vaccin complexe/mélangé à base d'adénovirus contenant plusieurs antigènes de filovirus a été signalé comme protégeant les primates contre des doses mortelles par les virus homologues individuels (Swenson et al., 2008). En plus de l'approche du vaccin complexe/mélangé, une protection croisée contre le BDBV a été obtenue. Ces résultats montrent qu'il devrait être possible d'obtenir une immunité de protection croisée contre plusieurs espèces de filovirus. Certains de ces vaccins sont en cours de demande d'autorisation de mise sur le marché pour la vaccination humaine.

## 2.2. Vaccins à vecteurs réplicatifs

### 2.2.1. Vaccin basé sur le cytomégalovirus

Une autre base à partir d'un virus à ADN a été récemment mise au point et pourrait être particulièrement intéressante pour la faune africaine. La plateforme cytomégalovirus (CMV) est une forme de vaccin disséminant basée sur la propagation entre individus infectés/vaccinés et sa persistance chez l'hôte. Un cytomégalovirus murin (CMV) recombinant de la famille des Herpesviridae a été génétiquement modifié pour exprimer un épitope CTL situé sur ZEBOV-NP (acide aminé 43-54) en le fusionnant au gène *ie2*. Les réponses CTL à l'épitope ZEBOV-NP ont été facilement détectées après une seule immunisation chez les souris qui ont par la suite été vaccinées avec deux doses de CMV/ZEBOV-NP recombinant murin et confrontées à une dose létale du virus Ebola adapté aux souris (MA-ZEBOV) (Tsudaa et al., 2015). Celles qui étaient vaccinées ont survécu à cette épreuve, mais n'ont pas été protégées contre la réplication du MA-ZEBOV. Une étude plus récente menée par Andrea Marzi et al. effectuée sur des macaques rhésus montre que l'immunité protectrice des vecteurs CMV a une efficacité protectrice chez les singes en utilisant des vecteurs basés sur le RhCMV. Cette étude montre également que, bien que la baisse de la virémie du CMV au cours d'une infection secondaire indique que l'immunité préexistante de l'hôte permet un certain contrôle de la réplication du CMV, la capacité de réinfection reste remarquablement intacte, même pour de faibles inoculums. Les CMV sont également très spécifiques des espèces, avec l'absence de transmission entre espèces de mammifères, même étroitement apparentées. Il s'agit d'une caractéristique souhaitable pour un vaccin destiné à la faune sauvage, et comme ce virus est très spécifique à l'espèce, sa

propagation à l'homme ou à d'autres populations de faune sauvage serait peu probable. Cependant, l'éthique et les risques liés à l'introduction d'un virus génétiquement modifié, même si le virus vecteur d'origine est naturellement présent dans la population, doivent faire l'objet d'une discussion approfondie (Tsuda et al. 2011). Une fois libéré, le virus vaccinal ne peut pas être retiré de la population.

#### 2.2.2. Vecteurs recombinants à base de paramyxovirus

Le virus parainfluenza humain 3 (HPIV3) a également été utilisé comme plateforme vaccinale. Ce virus à ARN brin négatif est responsable de problèmes respiratoires chez l'homme et les primates. Un HPIV-3 recombinant a été modifié pour exprimer ZEBOV-GP et/ou ZEBOV-NP. Testé sur les macaques, il a été montré que 2 doses étaient nécessaires par voie intranasale pour obtenir une protection de 100%. Toutefois, comme pour les vaccins Ad5, l'immunité préexistante contre le HPIV3 peut influencer sur l'efficacité de cette plateforme vaccinale. Un vaccin dans lequel les principales cibles de la réponse immunitaire humorale spécifique à HPIV3 sont atténuées a été développé mais aucune donnée n'est actuellement disponible de son efficacité sur les primates. Les avantages de ce vaccin sont qu'il permet une administration sans aiguille et qu'il est facile à produire en grande quantité. Il nécessite cependant un rappel pour être efficace à 100% chez les primates.

#### 2.2.3. Vecteurs recombinants à base de virus de la stomatite vésiculeuse

Un vaccin développé à partir du virus de la stomatite vésiculeuse (VSV), virus de la famille des Rhabdoviridae, est une plateforme très prometteuse dans la lutte contre Ebola. Ce vaccin développé à partir du système de génétique inverse est dépourvu de la glycoprotéine G du VSV qui est remplacée par la protéine GP du virus Ebola. Ce virus vaccinal est atténué mais peut encore se propager facilement. Il est hautement immunogène et les individus immunisés présentent une virémie transitoire que l'on retrouve, chez les humains vaccinés, dans la salive et l'urine (Bache et al., 2020). Le potentiel de protection du vaccin rVSV contre l'infection par ZEBOV a été largement démontré chez les primates (Geisbert et al., 2009). Une seule dose administrée par voie orale peut protéger les animaux contre Ebola 4 semaines après l'immunisation (Jones et al., 2005). Cette plateforme a été étendue à toutes les espèces d'Ebola et du Marburg virus en modifiant la protéine GP correspondante. Les animaux ont été protégés contre les maladies mortelles par trois espèces d'Ebola et contre le Marburg virus, ce qui montre qu'une immunité protectrice croisée peut être obtenue (Geisbert et al., 2009). Ce vaccin a montré son efficacité sur le terrain puisqu'il est utilisé pour juguler les épidémies d'Ebola avec une stratégie de vaccination en anneau chez l'homme.

#### 2.2.4. Vecteurs recombinants à base de virus de la rage

Un vaccin à base de rhabdovirus est aussi en cours d'étude pour une protection double contre la rage et le Zaïre Ebolavirus. Il est basé sur une souche vaccinale de la rage déjà utilisée pour la vaccination des animaux sauvages (Marzi et al., 2015). Cette approche vaccinale évaluée sur le modèle du macaque rhésus a montré qu'une dose du vecteur rRABV/ZEBOV-GP offrait une protection de 100%.

#### 2.3. Vaccins inactivés et sous-unité vaccinales

Peu après l'apparition de la maladie en 1976, les tentatives pour vacciner contre Ebola ont commencé en essayant d'utiliser le virus inactivé. Cependant, aucun primate n'a survécu à une dose létale de virus. Plusieurs années plus tard, des tentatives ont été effectuées en utilisant des sous unités protéiques virales purifiées. Ces tentatives se sont soldées par une faible immunité chez la souris (Hoenen et al., 2012). Une approche plus complexe a été mise au point, utilisant des virus-like particles (VLP) composées des protéines de matrice VP40, de la glycoprotéine GP et parfois de la nucléoprotéine NP de ZEBOV. La vaccination à l'aide de ces VLP s'est traduite par une efficacité de 100% chez les rongeurs suite à une infection létale de ZEBOV. La plateforme VLP est considérée comme une approche vaccinale sûre par rapport à certaines plateformes capables de se répliquer. En outre, les VLP sont hautement immunogéniques et il a été démontré que la vaccination induit des réponses immunitaires innées, humorales et cellulaires.

### 3. Enjeux du contrôle d'Ebola et stratégies de prévention

#### 3.1. Impact sur les populations et nécessité d'un contrôle

##### 3.1.1. Conséquences des épidémies sur les populations de grands singes

Etant donné la forte mortalité induite par le virus Ebola chez les grands singes ainsi que la vitesse à laquelle il se propage, on peut se demander si laisser l'infection se réguler d'elle-même est envisageable. Les avantages de toute intervention doivent être évalués conjointement avec les impacts négatifs potentiels (Hanslik et al., 2007). Outre le fait que ces épidémies se traduisent par une très grande mortalité sur des périodes de temps très courtes, elles ont également des conséquences à moyen et plus longs termes. Pour mesurer l'ampleur de la gravité de la situation, il faut aussi tenir compte de la résilience des populations de grands singes. Le problème est que les gorilles et les chimpanzés se reproduisent plus lentement que pratiquement tous les autres animaux de la planète, y compris les humains. Dans leur étude en 2011, Ryan et Walsh ont évalué la résilience d'une population de gorille

en fonction de la taille des populations et du taux d'accroissement pour 5 scénarios d'épidémies (Figure 6). Ils ont calculé qu'il faudrait à une population de 400 individus, 131 ans pour se remettre d'une épidémie d'Ebola qui aurait décimé 96% des individus. Cela suppose aussi qu'il n'y ait pas d'introduction ou de propagation d'autres maladies, et que la population de gorilles poursuive une croissance stable. Des réductions de populations aussi drastiques peuvent également avoir des conséquences considérables sur le patrimoine génétique des populations touchées. Une perte de diversité génétique, une augmentation de la consanguinité et la fixation d'allèles délétères sont théoriquement attendues en raison du crash démographique induit par la maladie. L'effet génétique à court terme d'une mortalité élevée dans une population est la réduction du nombre d'allèles. Cependant, dans une étude menée en 2009 sur deux populations différentes de gorilles au parc national d'Odzala-Kokoua et au sanctuaire de Lossi, Le Gouar et collaborateurs n'ont pas réussi à mettre en évidence cette perte de diversité génétique. Cela peut être expliqué comme ils le soulignent soit par l'immigration post-épidémique soit par une taille de population effective résiduelle suffisamment élevée pour conserver la quasi-totalité de la diversité génétique ou par le court laps de temps écoulé après le déclin (3 et 4,5 ans entre les échantillonnages). A plus long terme, les effets de goulot d'étranglement s'accompagnent souvent d'une diminution de la capacité physique et de la résistance aux maladies (Evermann et al., 1988). Elles sont observées plus de 15 générations après le crash démographique, ce qui signifie pour les espèces à longue durée de vie comme les gorilles des répercussions de plus de 300 ans. Toutefois, si les populations de gorilles ne récupèrent pas rapidement leur taille pré-épidémique, le seuil critique d'extinction pourrait être atteint avant que nous ne détections sa signature génétique.

### 3.1.2. Enjeux du contrôle pour l'homme

Au cours des 40 dernières années d'épidémies d'Ebola, la population africaine n'a cessé d'augmenter. Des changements importants ont eu lieu au niveau démographique associé à une urbanisation croissante. Les transports se sont eux aussi développés permettant une circulation plus facile et plus rapide des populations au niveau interne et international. Cela laisse craindre la propagation du virus à plus grande échelle spatiale et temporelle lors de nouvelles épidémies (Hufnagel et al., 2004; Pindolia et al., 2014). De cet accroissement de population découle aussi le fait que de plus en plus de terres seront nécessaires pour l'agriculture, impliquant une pénétration dans des zones de forêt tropicale auparavant éloignées de l'homme. Cela pourrait engendrer de nouveaux contacts avec de

nouveaux réservoirs potentiels. Les changements dans l'utilisation des terres et la connectivité humaine auront probablement des répercussions profondes sur la dispersion des cas d'Ebola lors des épidémies futures.

### 3.2. Moyens de détections et épidémiosurveillance

Une des clefs de voûte dans la prévention et le contrôle des épidémies d'Ebola est la surveillance des populations de grands singes qui sont les sentinelles de l'émergence du virus. Le dépistage systématique des agents pathogènes responsables de la mort des grands singes est rarement effectué, pourtant elle peut permettre non seulement l'identification des agents pathogènes responsables de la mort des individus mais fournit des informations précieuses sur leurs dynamiques de la transmission (Leendertz et al., 2006). Un exemple parlant de cette stratégie est illustré par les épidémies de 2001-2003. Lors de l'apparition des premiers cas d'Ebola, un réseau de surveillance des mortalités animales a été mis en place incluant les ministères gabonais et congolais des forêts et de l'environnement et des organisations de protection de la faune. Cette pratique a permis de mettre en évidence le fait que toutes les épidémies humaines du virus Ebola survenues au cours de ces années résultaient d'introductions multiples du virus à partir de différentes carcasses d'animaux infectés. De plus, chacune des épidémies humaines étaient précédées par des épidémies chez les animaux sauvages. À deux reprises, cette stratégie a permis d'alerter les autorités sanitaires d'un risque imminent d'épidémies humaines, plusieurs semaines avant qu'elles ne surviennent (Rouquet et al., 2005). Cependant, lors de ces épidémies, aucunes mesures n'ont été prises pour contenir l'épidémie ou éviter la propagation de la maladie au sein des communautés des grands singes. Afin d'identifier l'émergence du virus Ebola dans la faune sauvage, nous disposons de plusieurs outils.

#### 3.2.1. L'observation des populations de grands singes

Tout d'abord l'observation des communautés peut permettre de noter des changements dans la routine quotidienne d'un animal (quitter le nid à des heures plus tardives le matin, faire le nid particulièrement tôt le soir, augmentation du temps à se reposer, difficultés à suivre le groupe) ou l'apparition de signes cliniques (diarrhée, tachypnée, les vomissements...)(Figure 7). De plus, les données quantitatives sur les interactions sociales, l'utilisation des ressources et les habitudes des membres du groupe peuvent fournir des informations sur les voies de transmission et le schéma de propagation. Cela ne peut cependant s'appliquer qu'à des animaux habitués car, comme nous l'avons dit précédemment, les signes de la maladie sont rarement observés chez les primates vivant à l'état sauvage. Une

fois les signes cliniques apparents, ils se séparent souvent du groupe avant de mourir (Krief et al., 2005).

### 3.2.2. Prélèvement sur les carcasses

Ensuite une grande partie des données sanitaires relatives à l'Ebola virus chez les grands singes en liberté proviennent de nécropsies. Différents tissus sont prélevés sur les carcasses (foie, rate, muscle, peau) de primates trouvés en forêt. Cela nécessite un équipement conséquent, au minimum une protection corporelle complète, un masque, une protection faciale et des gants doubles (Figure 8). Les nécropsies doivent être effectuées dans une "zone contaminée" définie, à laquelle seul le personnel protégé a accès. Seuls les échantillons emballés et désinfectés de manière sûre doivent être transférés hors de cette zone. Après la nécropsie, tout le matériel potentiellement infectieux doit être détruit ou désinfecté dans la zone contaminée. Idéalement, seul un personnel dûment formé, tel que des vétérinaires ou des pathologistes, devrait effectuer les nécropsies. Toutefois, en l'absence de personnel qualifié, des procédures "d'échantillonnage minimal" sont effectuées par des non-professionnels formés. L'échantillonnage minimal consiste à prélever de petits morceaux de muscle, sans ouvrir la carcasse, ce qui réduit l'exposition au sang ou à d'autres liquides organiques présents dans l'animal mort (Leendertz et al., 2006). Les échantillons doivent ensuite être conservés dans du formol à 10% ou dans du RNAlater.

Les difficultés de cette pratique est qu'elle nécessite un équipement lourd et un personnel hautement qualifié mais il faut aussi tenir compte du fait que les carcasses se décomposent très rapidement dans la forêt équatoriale. Une carcasse de gorille mâle adulte ( $\approx 150$  kg) ne met que 10 jours à se décomposer entièrement (Figure 9). Ces échantillons sont ensuite analysés par histologie ou PCR mais il faut pour l'examen histologique des échantillons ayant été prélevés dans un délai d'un jour après la mort. La PCR permet de détecter le matériel génétique du virus Ebola dans les carcasses âgées de 3 à 4 semaines mais ce matériel est souvent dégradé et incomplet. Ainsi, la détection du virus Ebola dans un morceau de peau ou de muscle constitue un diagnostic clair, tandis qu'un résultat négatif du dépistage du virus Ebola dans un muscle ou un os autolysé ne doit pas être considéré comme concluant, car il s'agit d'échantillons de mauvaise qualité pour la détection des virus à ARN. Des échantillons peuvent également être obtenus sur les marchés de viande de brousse (Wolfe et al., 2005). Cependant, ces approches soulèvent bons nombres de questions éthiques et doivent être organisées avec soin pour éviter de soutenir le commerce de viande de brousse ou de le faire paraître acceptable.



### 3.2.3. Prélèvements sur des animaux vivants

Au cours des enquêtes passées effectuées sur les primates, un grand nombre de prélèvements ont été obtenus par la capture et l'anesthésie d'animaux individuels (Karesh et al., 1998). Cependant, l'anesthésie des primates sauvages comporte divers facteurs de risque (chute des animaux des arbres, surdosage, problèmes de santé préexistants, blessures par l'aiguille, animaux qui se réveillent) pour l'homme comme pour l'animal et ne fournit des informations que sur certains individus.

Une technique de détection non invasive a été développée consistant à prélever les fèces des grands singes. L'avantage de cette technique est qu'elle peut être utilisée sur des primates habitués ou non. De tels tests existaient déjà pour des virus comme celui de l'immunodéficience simienne, des entérovirus ou encore des virus de l'hépatite mais Reed et collaborateurs en 2014 ont appliqué ce test immunologique à l'Ebola virus. Basé sur le principe de la western blot, ce test permet de détecter la présence d'anticorps contre les virus Ebola. La protéine NP purifiée a été sélectionnée comme antigène pour la détection des anticorps car il s'agit de l'une des protéines structurales les plus abondamment produites pendant l'infection et d'une cible majeure de la réponse immunitaire de l'hôte. De plus, elle est bien conservée ce qui la rend utile pour la détection d'anticorps contre plusieurs espèces d'Ebola virus. L'étude a d'abord consisté à évaluer la capacité à détecter les anticorps anti-NP dans des échantillons fécaux conservés dans de l'ARNlater. Des échantillons fécaux ont été enrichis expérimentalement avec différentes dilutions de sérum positif contenant de l'immunoglobuline polyclonale provenant de macaques vaccinés avec un vaccin génétique codant pour les NP. Des extraits de ces fèces imprégnées de sérum positif ont ensuite été utilisés pour incuber des bandes d'immunoblot contenant de la NP immobilisée. Les anticorps anti-NP ont été détectés par l'analyse immunologique chimioluminescente améliorée par western blot dans les échantillons fécaux à des dilutions de plasma de primates séropositifs allant jusqu'à 105 fois, ce qui indique une sensibilité élevée de l'analyse pour la détection des anticorps fécaux. En revanche, les extraits fécaux de primates captifs et non infectés (macaques de Buffon et gorilles des plaines de l'Ouest) traités de la même manière n'ont présenté aucune réactivité dans l'immunoblot NP, ce qui démontre un faible bruit de fond pour le test et l'absence de réactivité croisée avec les anticorps sériques dirigés contre des protéines non pertinentes. Ces résultats ont démontré que les anticorps anti-PN présents dans les échantillons fécaux des primates peuvent être extraits et détectés par immunoblotting.

Ce test a ensuite été mis en pratique sur 80 échantillons fécaux de gorilles provenant de 2 régions du parc national d'Odzala-Kokoua en RDC pour détecter des signes d'exposition

antérieure au virus Ebola. La première région était une région de foyers d’Ebola où des carcasses de singes collectées entre 2002 et 2005 ont été testées positives pour le virus. La deuxième région était une zone où aucune épidémie n'a été signalée à ce moment-là. Ces analyses ont montré que dans la région qui avait connu des épidémies ultérieures, 14,2 % des échantillons se sont révélés positifs aux anticorps, tandis qu'une plus petite proportion, 6,6 % des échantillons collectés dans la région NRO étaient positifs. Cependant, l’identification génétique des échantillons fécaux individuels n'ayant pas été réalisée, il est impossible d’exclure la possibilité d’un rééchantillonnage même si des analyses plus récentes d’échantillons de gorilles et de chimpanzés suggèrent un faible taux de rééchantillonnage. Ces données montrent donc que les anticorps anti-NP sont présents dans les échantillons fécaux des populations de grands singes sauvages, même dans les zones où aucun rapport antérieur n'a été fait sur les épidémies humaines ou de grands singes sauvages. Outre cela, cette technique pourrait également être utilisée comme le soulignent les auteurs pour détecter un changement temporel de l'incidence de l'exposition dans une zone donnée ou encore être utilisé lors d’une potentielle vaccination. Le dépistage des anticorps fécaux permettraient alors d’évaluer les réponses immunitaires induites par le vaccin. Enfin, cette approche facilitera l'identification de populations immunologiquement naïves pour des essais de vaccination à grande échelle, améliorant ainsi le rapport coût-efficacité en identifiant les communautés qui pourraient bénéficier le plus des efforts de vaccination.

### 3.3. Stratégies vaccinales possibles

Le choix des stratégies vaccinales dépend de la voie d’administration du vaccin. Nous avons vu précédemment que certains doivent être injectés tandis que d’autres peuvent s’administrer par voie orale, mais elle dépend également du nombre d’individus à protéger et de la durée de la protection. De plus, les grands singes sont la plupart du temps difficiles à approcher et le choix d’une stratégie vaccinale devra prendre en compte l'accessibilité des primates, s’ils sont habitués à l’homme ou non. Enfin, l’objectif de la vaccination sera aussi important, à savoir s’il s’agit de vacciner toute la population de manière prophylactique ou d’empêcher la propagation si un foyer est détecté.

#### 3.3.1. Prévention dans les populations habituées

Le nombre de grands singes habitués étant relativement faible, il serait envisageable de vacciner l’entièreté d’entre eux ou du moins une grande majorité si des fonds étaient disponibles (Leendertz et al., 2016). Dans le cas contraire, il faudrait favoriser les individus importants soit pour leurs potentiels reproducteurs ou du fait de leur capacité à propager la

maladie au sein d'un groupe ou entre les groupes. Cependant, le contrôle d'une maladie nécessite une connaissance approfondie de son écologie et tant que la transmission d'Ebola à partir du réservoir primaire n'est pas déterminée, il est impossible d'identifier les individus à haut risque. Une voie d'administration possible du vaccin pour ces populations serait le fléchage du fait de leur proximité plus ou moins constante. Cela permet d'avoir un degré élevé de certitude que le vaccin a été reçu. L'idéal serait d'utiliser un vaccin qui protège après une seule administration et sur une longue période pour éviter de mettre à mal des années voire des décennies d'efforts d'accoutumance du fait des vaccinations répétées.

Les vaccins actuellement en essais chez l'homme permettent une protection de quelques mois voire quelques années mais pourrait ne pas être suffisant pour la prévention à long terme de l'Ebola virus chez les singes sauvages. Si un vaccin auto-diffusant sûr, efficace et éthiquement accepté devient disponible pour les grands singes (comme suggéré par Marzi et al. 2016), relativement peu d'individus auront besoin d'être piqué pour induire un niveau élevé de couverture vaccinale et de longévité de la protection dans une population (Figure 10 a). L'appâtage est une autre option à envisager mais les grands singes sont sélectifs dans leurs alimentation ce qui peut engendrer des difficultés pour s'assurer que tous les individus sont vaccinés ou qu'un individu dominant n'ait pas consommé des doses plus élevées que prévu. De plus, nourrir les grands singes sauvages avec des aliments qui pourraient être désirables mais qui leur sont étrangers, par exemple des bananes, n'est plus une pratique généralement acceptée (Leendertz et al., 2016). Cependant, les avantages d'un tel approvisionnement à des fins de vaccination pourraient l'emporter sur les coûts.

### 3.3.2. Contrôle des foyers dans les populations habituées

Essayer de vacciner par fléchage des populations de grands singes lorsqu'une épidémie d'Ebola est identifiée pourrait s'avérer stressant et dangereux pour le personnel humain et les singes. Une "vaccination en anneau" (Figure 10 c) des individus en contact avec la maladie et des individus des populations environnantes non affectées pourrait être tentée comme c'est actuellement le cas en humaine (Kucharski et al., 2016). L'idéal serait d'utiliser un vaccin efficace sur les individus déjà infectés (Leendertz et al., 2016). Cependant, cette méthode pourrait ne pas être assez rapide ou efficace pour arrêter l'épidémie. De plus, le virus pourrait être introduit directement à partir du réservoir primaire en dehors de l'aire de vaccination. L'utilisation d'un vaccin qui serait capable de se propager comme le cytomégalo virus serait aussi à prendre en compte mais il faudrait qu'il se propage et assure la protection plus rapidement que le virus. C'est pourquoi il serait plus logique de l'utiliser avant qu'une épidémie ne survienne. Ces deux stratégies pourraient se compléter.

### 3.3.3. Prévention dans les populations non habituées

L'objectif d'une telle vaccination serait de protéger l'ensemble de la population contre l'introduction du virus Ebola (Figure 10 d) ; cependant, la nature insaisissable des grands singes non habitués constitue un obstacle considérable à l'administration de vaccins injectables. De plus, la vaccination d'individus au hasard ne suffirait probablement pas à protéger l'ensemble de la population, surtout si elle nécessite un rappel. Le rapport coûts-avantages doit être modélisé pour les populations individuelles, en tenant compte de facteurs tels que la proportion de la population que l'on peut espérer atteindre et le risque perçu de propagation virale dans la région. L'émergence imprévisible d'Ebola à partir de son réservoir rend ces risques difficiles à estimer. Bien que seules des zones relativement spécifiques du nord-est du Gabon, du Congo et de la Côte d'Ivoire se soient avérées écologiquement appropriées pour la transmission d'Ebola aux populations de grands singes, la majorité de la ceinture tropicale de l'Afrique est actuellement considérée comme une zone à risque pour l'émergence virale (Pigott et al. 2014, Walsh & Haseeb 2015).

L'appâtage ne nécessite pas de contact rapproché avec les individus, mais pose les mêmes défis que ceux décrits pour les singes habitués et nécessite également une administration efficace à une échelle géographique beaucoup plus grande. Un vaccin à diffusion automatique et qui nécessiterait relativement peu d'interventions et pourrait, en théorie, fournir une protection étendue contre Ebola peut sembler prometteur pour les populations éloignées et inaccessibles, mais la sécurité et l'éthique d'une telle approche doivent être abordées. D'autres idées consistent à mettre au point des pulvérisations de brouillard efficaces ou des vaccins environnementaux pouvant être administrés dans de plus grandes zones d'habitats isolés des grands singes, ou, lorsque l'écologie d'Ebola sera mieux comprise, à vacciner les espèces dont les grands singes pourraient contracter l'infection à Ebola.

### 3.3.4. Contrôle dans les populations non habituées

Premièrement, les épidémies d'Ebola dans les populations de grands singes non surveillées risquent de passer inaperçues, ou de n'être reconnues que lorsqu'elles sont suffisamment importantes pour être détectées par des enquêtes sur la faune sauvage, à moins qu'un réseau de surveillance efficace des chasseurs ne soit déjà en place. Deuxièmement, pour les raisons évoquées ci-dessus, il est peu probable qu'il soit possible d'atteindre et de vacciner un nombre suffisant d'individus non habitués afin de contrôler une épidémie qui se propage rapidement. La vaccination en anneau de groupes habitués non affectés pourrait être

envisagée afin d'empêcher la propagation de l'infection à des groupes situés en dehors de l'anneau ou de protéger des groupes particulièrement vulnérables au sein de l'anneau.

#### 3.4. Difficultés de mise en place et mise en perspective

Il existe actuellement un certain nombre de défis à relever avant que la vaccination des grands singes contre Ebola puisse être efficace du point de vue de la conservation. Les arguments des détracteurs sont que l'objectif de la conservation devrait être de maintenir "l'équilibre naturel" et que nous ne devrions dès lors nous préoccuper uniquement des maladies introduites par l'homme (Ryan et al., 2011). Toutefois, il est vrai que les activités humaines perturbent cet équilibre en Afrique équatoriale de manière massive et sans précédent. L'extraction de bois, de pétrole et de minéraux pour l'exportation vers les pays développés détruit de vastes étendues d'habitat. Presque toutes les populations de grands singes ont été, et continuent d'être, affectées par l'homme de sorte qu'à l'exception de certaines zones protégées, la majorité des forêts africaines ne peuvent plus être considérées comme "naturelles" (Laurance et al. 2009). Ces arguments tiennent d'autant moins la route car, en protégeant les populations de grands singes, qui sont des amplificateurs de la maladie, nous protégeons, du moins en partie, les populations humaines. Par conséquent, il semble rationnel de se concentrer sur la manière de protéger les grands singes sauvages restants d'une maladie qui est incompatible avec la survie de l'espèce si les épidémies continuent à se produire plutôt que de se demander si l'intervention humaine est justifiée (Leendertz et al., 2016).

Les difficultés auxquelles nous pourrions être confronté si la vaccination était acceptée serai qu'elles peuvent toucher conjointement hommes et primates. Dans ce contexte d'urgence, si la disponibilité des vaccins développés pour l'homme est faible, il convient d'examiner les coûts, les avantages et l'éthique de l'utilisation de ces doses précieuses sur la faune sauvage. Ensuite, l'appâtage pose également la question de la sécurité du vaccin. Les vaccins les plus prometteurs pour une administration par voie orale tel le cytomégalo virus sont généralement répliatifs. En d'autres termes, ils sont encore capables de provoquer une infection bénigne chez l'animal cible. On peut craindre que dans des conditions de terrain non contrôlées et chez des animaux sauvages immunologiquement stressés, ces vaccins puissent provoquer des infections graves ou muter vers des formes plus virulentes. Ce risque est amplifié lorsque les appâts peuvent être consommés par des espèces non ciblées chez lesquelles le vaccin n'a pas été étudié. Il faut donc appliquer des normes de sécurité plus strictes que pour les vaccins administrés par d'autres moyens (par exemple, par fléchette

hypodermique), ce qui augmente le coût de la vaccination orale. Le coût de l'appâtage est également plus élevé car il faut distribuer un grand nombre de doses de vaccin (par exemple 100 à 1 000) pour chaque dose effectivement consommée par un singe. Cette technique a cependant été utilisée en Europe avec le déploiement de centaines de millions d'appâts oraux pour éradiquer la rage du renard sans qu'aucune contamination humaine ne soit enregistrée. En attendant, la meilleure solution semble être l'administration du vaccin à l'aide d'une fléchette hypodermique. L'utilisation d'une fléchette n'est pas sans poser de problèmes mais plusieurs décennies d'utilisation de fléchettes sur des gorilles de montagne (Sleeman et al., 2000) suggèrent que ces risques peuvent être minimisés, notamment parce que la vaccination des gorilles et des chimpanzés ne nécessite pas d'immobilisation. L'adoption d'une approche progressive avec le fléchage nous permettrait de développer les tests épidémiologiques et les protocoles de terrain pour garantir que les grands singes sauvages peuvent être vaccinés de manière sûre et efficace avant de passer aux défis plus complexes de la vaccination orale.

En ce qui concerne le développement des vaccins en eux même, ceux-ci sont d'abord majoritairement développés dans le but de vacciner l'homme. Toutefois, le processus d'homologation des vaccins humains est si coûteux que seul un petit nombre de vaccins bien financés arrivent sur le marché. Il reste donc un grand nombre de vaccins expérimentaux qui présentent d'excellents profils d'innocuité et d'immunogénicité dans les essais sur les primates non humains, mais qui ne sont jamais homologués pour l'usage humain (Rezza et al., 2015). Il est possible, même avec des fonds modestes, d'adapter ces vaccins orphelins en tant qu'outils de conservation en confirmant leur sécurité et leur immunogénicité par des essais sur des chimpanzés captifs. Les chimpanzés en captivité sont les mieux placés pour adapter les vaccins à des formulations orales et pour mettre au point des tests non invasifs permettant de vérifier l'immunogénicité dans des conditions de terrain. Cependant, les États-Unis, seul pays développé à autoriser ce type de recherche, va mettre fin aux essais biomédicaux sur les chimpanzés. Si les laboratoires biomédicaux qui ont les installations "liquident" leurs populations de chimpanzés, il ne restera plus rien pour mener des essais sur des chimpanzés à des fins de conservation (Warfield et al., 2014).

## Conclusion

A la lumière des éléments apportés, nous voyons que le virus Ebola est un fléau non seulement pour l'homme mais encore plus pour les grands singes. Ceux-ci sont les sentinelles de l'émergence de la maladie, par conséquent, le suivi de la mortalité chez ces hôtes sauvages et la collecte d'échantillons sont indispensables pour la santé publique. Lors de la première vague d'épidémie humaine au Gabon dans les années 1990, le manque de sensibilisation au rôle des grands singes dans les épidémies d'Ebola a limité les investigations épidémiologiques et de laboratoire sur ces espèces. La nécessité d'une surveillance de la faune sauvage a été reconnue par la suite, et lors de la série suivante d'épidémies, quelques années plus tard, un réseau de surveillance de la faune sauvage bien préparé a pu avertir les autorités sanitaires du risque de cas humains. Cela est d'autant plus vrai que nous savons encore peu de chose sur l'étiologie du virus. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer la circulation naturelle des virus Ebola et les mécanismes facilitant l'émergence virale. Les tests d'anticorps effectués sur des échantillons de grands singes collectés de manière non invasive peuvent montrer quelles populations ont été exposées au virus, et les enquêtes visant à estimer la densité des groupes et les effectifs de la population peuvent fournir des informations sur leur déclin. L'identification du véritable réservoir du virus et des voies d'infection dans la nature reste une recherche importante (Leendertz 2016). Cela souligne la nécessité d'un financement continu et du recrutement de personnes impliquées dans la surveillance de la maladie.

Indépendamment de la mise en œuvre ou non de stratégies de prévention d'Ebola, la surveillance de la santé des grands singes est importante en soi et doit être incluse dans les plans de conservation, au même titre que le contrôle du braconnage et la protection de l'habitat. La préservation des espèces protégées est requise par la loi et il devrait y avoir une responsabilité morale supplémentaire pour préserver les espèces en danger (Warfield et al., 2014). Différentes stratégies sont possibles pour éviter la propagation du virus dans les différentes populations de singes. Elles sont déjà d'application en médecine humaine où l'isolement, la vaccination en anneau et le traitement des malades ont été utilisés lors des épidémies récentes d'Ebola virus (Kucharski et al., 2016). Cependant, l'isolement des cas infectés ne peut s'appliquer dans les forêts équatoriales d'Afrique centrale bien que cela puisse se produire naturellement dans une certaine mesure car les singes quittent parfois temporairement le reste du groupe social lorsqu'ils présentent des signes de maladie. Mais tenter d'isoler les groupes sociaux en coupant des corridors dans la forêt afin d'arrêter la propagation des grands singes infectés n'est probablement pas faisable, souhaitable ou

efficace (Haurez et al. 2013). De même, des traitements médicaux post-exposition sont peu envisageables. Bien que des résultats préliminaires concernant les traitements expérimentaux basés sur des anticorps protecteurs (par exemple ZMapp (Qiu et al., 2014)) sont encourageants, les patients nécessitent des soins intensifs supplémentaires, et il est donc peu probable que ces médicaments soient efficaces pour contrôler les épidémies d'Ebola chez les grands singes, même lorsqu'ils sont habitués. La vaccination semble donc l'option la plus efficace et la plus susceptible d'être appliquée. Bien que celle-ci soulève des questions éthiques importantes (même chez l'homme, l'utilisation prospective de vaccins n'est pas sans poser des problèmes éthiques et pratiques (Cohen et al., 2014)), elle a déjà été appliquée aux grands singes. Des vaccinations à petite échelle contre des maladies comme la rougeole, la poliomyélite, le tétanos et l'anthrax ont été réalisées dans des populations habituées (ou réintroduites). Elles ont été effectuées soit par fléchage soit par injections lorsque d'autres interventions ont été entreprises sous anesthésie générale, ou dans le cas de la poliomyélite des chimpanzés au milieu des années 1960, par l'alimentation avec des bananes - une pratique acceptable à l'époque. Mais seul deux campagnes de vaccinations chez les singes sauvages ont eu lieu à l'échelle de la population, l'une lors de vaccination d'urgence pour protéger les chimpanzés d'une épidémie présumée de polio à Gombe en Tanzanie, l'autre lors de la vaccination des gorilles pendant une épidémie de rougeole dans les Virungas (Ryan et al., 2011). Il n'y a probablement pas qu'une seule réponse à l'émergence de la maladie. Une compréhension approfondie de la maladie et du comportement naturel des grands singes, ainsi que le développement de vaccins sûrs qui peuvent être administrés efficacement à de grandes populations de grands singes sauvages insaisissables dans leurs habitats naturels éloignés, permettrait la protection préventive des populations de grands singes. Cela combiné à l'éducation du public sur les zoonoses et à un réseau d'épidémiosurveillance efficace et constant comme l'unité de surveillance de la santé des grands singes (GAHMU) fournirait des armes pour limiter voir endiguer les épidémies à la fois chez l'homme et ses cousins primates.



- Bache, B.E., Grobusch, M.P., Agnandji, S.T., 2020. Safety, immunogenicity and risk–benefit analysis of rVSV-ΔG-ZEBOV-GP (V920) Ebola vaccine in Phase I–III clinical trials across regions. *Future Microbiology* 15, 85–106.  
<https://doi.org/10.2217/fmb-2019-0237>
- Barrette, R.W., Metwally, S.A., Rowland, J.M., Xu, L., Zaki, S.R., Nichol, S.T., Rollin, P.E., Towner, J.S., Shieh, W.-J., Batten, B., Sealy, T.K., Carrillo, C., Moran, K.E., Bracht, A.J., Mayr, G.A., Sirios-Cruz, M., Catbagan, D.P., Lautner, E.A., Ksiazek, T.G., White, W.R., McIntosh, M.T., 2009. Discovery of Swine as a Host for the Reston ebolavirus. *Science* 325, 204–206. <https://doi.org/10.1126/science.1172705>
- Baseler, L., Chertow, D.S., Johnson, K.M., Feldmann, H., Morens, D.M., 2017. The Pathogenesis of Ebola Virus Disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 12, 387–418.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-052016-100506>
- Bermejo, M., Rodriguez-Teijeiro, J.D., Illera, G., Barroso, A., Vila, C., Walsh, P.D., 2006. Ebola Outbreak Killed 5000 Gorillas. *Science* 314, 1564–1564.  
<https://doi.org/10.1126/science.1133105>
- Brockmann, D., Helbing, D., 2013. The Hidden Geometry of Complex, Network-Driven Contagion Phenomena. *Science* 342, 1337–1342.  
<https://doi.org/10.1126/science.1245200>
- Calvignac-Spencer, S., Leendertz, S.A.J., Gillespie, T.R., Leendertz, F.H., 2012. Wild great apes as sentinels and sources of infectious disease. *Clinical Microbiology and Infection* 18, 521–527. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03816.x>
- Cameron, K.N., Reed, P., Morgan, D.B., Ondzié, A.I., Sanz, C.M., Kühn, H.S., Olson, S.H., Leroy, E., Karesh, W.B., Mundry, R., 2016. Spatial and Temporal Dynamics of a Mortality Event among Central African Great Apes. *PLoS ONE* 11, e0154505.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154505>
- Chandran, K., 2005. Endosomal Proteolysis of the Ebola Virus Glycoprotein Is Necessary for Infection. *Science* 308, 1643–1645.  
<https://doi.org/10.1126/science.1110656>
- Chughtai, A.A., Barnes, M., Macintyre, C.R., 2016. Persistence of Ebola virus in various body fluids during convalescence: evidence and implications for disease transmission and control. *Epidemiol. Infect.* 144, 1652–1660.  
<https://doi.org/10.1017/S0950268816000054>
- Cohen, J., Kupferschmidt, K., 2014. Ebola vaccine trials raise ethical issues. *Science* 346, 289–290. <https://doi.org/10.1126/science.346.6207.289>
- Escudero-Pérez, B., Volchkova, V.A., Dolnik, O., Lawrence, P., Volchkov, V.E., 2014. Shed GP of Ebola Virus Triggers Immune Activation and Increased Vascular

- Permeability. PLoS Pathog 10, e1004509.  
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004509>
- Evermann, S.O., n.d. I n t e r a c t i v i e n f l u e n c e o f I n f e c t i o u s  
 Disease and Genetic Diversity in Natural Populations 7.
- Fausther-Bovendo, H., Mulangu, S., Sullivan, N.J., 2012. Ebola virus vaccines for  
 humans and apes. Current Opinion in Virology 2, 324–329.  
<https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.04.003>
- Feldmann, H., Geisbert, T.W., 2011. Ebola haemorrhagic fever. The Lancet 377,  
 849–862. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60667-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60667-8)
- Feldmann, H., Jones, S., Klenk, H.-D., Schnittler, H.-J., 2003. Ebola virus: from  
 discovery to vaccine. Nat Rev Immunol 3, 677–685. <https://doi.org/10.1038/nri1154>
- FIELD ANESTHESIA OF FREE-LIVING MOUNTAIN GORILLAS (GORILLA  
 GORILLA BERINGEI) FROM THE VIRUNGA VOLCANO REGION,  
 CENTRAL AFRICA, 2000. . Journal of Zoo and Wildlife Medicine 31, 9–14.  
[https://doi.org/10.1638/1042-7260\(2000\)031\[0009:FAOFLM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0009:FAOFLM]2.0.CO;2)
- Formenty, P., Hatz, C., Guenno, B.L., Stoll, A., Rogenmoser, P., Widmer, A., n.d. Human  
 Infection Due to Ebola Virus, Subtype Côte d'Ivoire: Clinical and Biologic  
 Presentation. J Infect 6.
- Geisbert, T.W., Geisbert, J.B., Leung, A., Daddario-DiCaprio, K.M., Hensley, L.E.,  
 Grolla, A., Feldmann, H., 2009. Single-Injection Vaccine Protects Nonhuman  
 Primates against Infection with Marburg Virus and Three Species of Ebola Virus.  
 JVI 83, 7296–7304. <https://doi.org/10.1128/JVI.00561-09>
- Hanslik, T., Yves Boëlle, P., 2007. L'évaluation du rapport risque/ bénéfice des stratégies  
 de vaccination. Med Sci (Paris) 23, 391–398.  
<https://doi.org/10.1051/medsci/2007234391>
- Haurez, B., Tagg, N., Petre, C.-A., Vermeulen, C., Doucet, J.-L., 2016. Short term impact  
 of selective logging on a western lowland gorilla population. Forest Ecology and  
 Management 364, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.12.030>
- Hoenen, T., Groseth, A., Feldmann, H., 2012. Current ebola vaccines. Expert Opinion on  
 Biological Therapy 12, 859–872. <https://doi.org/10.1517/14712598.2012.685152>
- Hufnagel, L., Brockmann, D., Geisel, T., 2004. Forecast and control of epidemics in a  
 globalized world. Proceedings of the National Academy of Sciences 101,  
 15124–15129. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308344101>
- Huijbregts, B., De Wachter, P., Obiang, L.S.N., Akou, M.E., 2003. Ebola and the decline  
 of gorilla Gorilla gorilla and chimpanzee Pan troglodytes populations in Minkebe  
 Forest, north-eastern Gabon. ORX 37. <https://doi.org/10.1017/S0030605303000802>

- Jones, S.M., Feldmann, H., Ströher, U., Geisbert, J.B., Fernando, L., Grolla, A., Klenk, H.-D., Sullivan, N.J., Volchkov, V.E., Fritz, E.A., Daddario, K.M., Hensley, L.E., Jahrling, P.B., Geisbert, T.W., 2005. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat Med* 11, 786–790. <https://doi.org/10.1038/nm1258>
- Karesh, W.B., Dobson, A., Lloyd-Smith, J.O., Lubroth, J., Dixon, M.A., Bennett, M., Aldrich, S., Harrington, T., Formenty, P., Loh, E.H., Machalaba, C.C., Thomas, M.J., Heymann, D.L., 2012. Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. *The Lancet* 380, 1936–1945. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61678-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61678-X)
- Karesh, W.B., Wallace, R.B., Painter, R.L.E., Rumiz, D., Braselton, W.E., Dierenfeld, E.S., Puche, H., n.d. Immobilization and Health Assessment of Free-Ranging Black Spider Monkeys (*Ateles paniscus chamek*) 17.
- Krief, S., Hladik, C.M., Haxaire, C., 2005. Ethnomedicinal and bioactive properties of plants ingested by wild chimpanzees in Uganda. *Journal of Ethnopharmacology* 101, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.024>
- Kucharski, A.J., Eggo, R.M., Watson, C.H., Camacho, A., Funk, S., Edmunds, W.J., 2016. Effectiveness of Ring Vaccination as Control Strategy for Ebola Virus Disease. *Emerg. Infect. Dis.* 22, 105–108. <https://doi.org/10.3201/eid2201.151410>
- Lahm, S.A., Kombila, M., Swanepoel, R., Barnes, R.F.W., 2007. Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 101, 64–78. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2006.07.002>
- Laurance, W.F., Goosem, M., Laurance, S.G.W., 2009. Impacts of roads and linear clearings on tropical forests. *Trends in Ecology & Evolution* 24, 659–669. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.009>
- Le Gouar, P.J., Vallet, D., David, L., Bermejo, M., Gatti, S., Levréro, F., Petit, E.J., Ménard, N., 2009. How Ebola Impacts Genetics of Western Lowland Gorilla Populations. *PLoS ONE* 4, e8375. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008375>
- Leendertz, F.H., Pauli, G., Maetz-Rensing, K., Boardman, W., Nunn, C., Ellerbrok, H., Jensen, S.A., Junglen, S., Christophe, B., 2006. Pathogens as drivers of population declines: The importance of systematic monitoring in great apes and other threatened mammals. *Biological Conservation* 131, 325–337. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.05.002>
- Lehmann, J., Boesch, C., 2004. To fission or to fusion: effects of community size on wild chimpanzee (*Pan troglodytes verus*) social organisation. *Behav Ecol Sociobiol* 56. <https://doi.org/10.1007/s00265-004-0781-x>

- Leroy, É.M., 2015. L'Émergence du virus EBOLA chez l'homme: un long processus pas totalement élucidé. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine* 199, 651–671.  
[https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)30940-9](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)30940-9)
- Leroy, E.M., 2004. Multiple Ebola Virus Transmission Events and Rapid Decline of Central African Wildlife. *Science* 303, 387–390.  
<https://doi.org/10.1126/science.1092528>
- Leroy, E.M., Telfer, P., Kumulungui, B., Yaba, P., Rouquet, P., Roques, P., Gonzalez, J.-P., Ksiazek, T.G., Rollin, P.E., Nerrienet, E., 2004. A Serological Survey of Ebola Virus Infection in Central African Nonhuman Primates. *J INFECT DIS* 190, 1895–1899. <https://doi.org/10.1086/425421>
- Malvy, D., McElroy, A.K., de Clerck, H., Günther, S., van Griensven, J., 2019. Ebola virus disease. *The Lancet* 393, 936–948.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)33132-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)33132-5)
- Martin, B., Volchkov, V., Reynard, O., 2020. Ebola, des premiers vaccins disponibles. *Med Sci (Paris)* 36, 1027–1033. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020174>
- Marzi, A., Feldmann, H., 2014. Ebola virus vaccines: an overview of current approaches. *Expert Review of Vaccines* 13, 521–531.  
<https://doi.org/10.1586/14760584.2014.885841>
- Marzi, A., Halfmann, P., Hill-Batorski, L., Feldmann, F., Shupert, W.L., Neumann, G., Feldmann, H., Kawaoka, Y., 2015. An Ebola whole-virus vaccine is protective in nonhuman primates. *Science* 348, 439–442. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4919>
- Marzi, A., Murphy, A.A., Feldmann, F., Parkins, C.J., Haddock, E., Hanley, P.W., Emery, M.J., Engelmann, F., Messaoudi, I., Feldmann, H., Jarvis, M.A., 2016. Cytomegalovirus-based vaccine expressing Ebola virus glycoprotein protects nonhuman primates from Ebola virus infection. *Sci Rep* 6, 21674.  
<https://doi.org/10.1038/srep21674>
- Olival, K., Hayman, D., 2014. Filoviruses in Bats: Current Knowledge and Future Directions. *Viruses* 6, 1759–1788. <https://doi.org/10.3390/v6041759>
- Pigott, D.M., Golding, N., Mylne, A., Huang, Z., Henry, A.J., Weiss, D.J., Brady, O.J., Kraemer, M.U., Smith, D.L., Moyes, C.L., Bhatt, S., Gething, P.W., Horby, P.W., Bogoch, I.I., Brownstein, J.S., Mearns, S.R., Tatem, A.J., Khan, K., Hay, S.I., 2014. Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *eLife* 3, e04395.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.04395>
- Qiu, X., Fernando, L., Alimonti, J.B., Melito, P.L., Feldmann, F., Dick, D., Ströher, U., Feldmann, H., Jones, S.M., 2009. Mucosal Immunization of Cynomolgus Macaques with the VSVΔG/ZEBOVGP Vaccine Stimulates Strong Ebola GP-Specific Immune Responses. *PLoS ONE* 4, e5547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005547>

- Qiu, X., Wong, G., Audet, J., Bello, A., Fernando, L., Alimonti, J.B., Fausther-Bovendo, H., Wei, H., Aviles, J., Hiatt, E., Johnson, A., Morton, J., Swope, K., Bohorov, O., Bohorova, N., Goodman, C., Kim, D., Pauly, M.H., Velasco, J., Pettitt, J., Olinger, G.G., Whaley, K., Xu, B., Strong, J.E., Zeitlin, L., Kobinger, G.P., 2014. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature* 514, 47–53. <https://doi.org/10.1038/nature13777>
- Reed, P.E., Mulangu, S., Cameron, K.N., Ondzie, A.U., Joly, D., Bermejo, M., Rouquet, P., Fabozzi, G., Bailey, M., Shen, Z., Keele, B.F., Hahn, B., Karesh, W.B., Sullivan, N.J., 2014. A New Approach for Monitoring Ebolavirus in Wild Great Apes. *PLoS Negl Trop Dis* 8, e3143. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003143>
- Rezza, G., 2015. A vaccine against Ebola: Problems and opportunities. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 11, 1258–1260. <https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1021528>
- Rizkalla, C., Blanco-Silva, F., Gruver, S., 2007. Modeling the Impact of Ebola and Bushmeat Hunting on Western Lowland Gorillas. *EcoHealth* 4, 151–155. <https://doi.org/10.1007/s10393-007-0096-2>
- Rouquet, P., Froment, J.-M., Bermejo, M., Kilbourn, A., Karesh, W., Reed, P., Kumulungui, B., Yaba, P., Délicat, A., Rollin, P.E., Leroy, E.M., 2005. Wild Animal Mortality Monitoring and Human Ebola Outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 283–290. <https://doi.org/10.3201/eid1102.040533>
- Ryan, S.J., Walsh, P.D., 2011. Consequences of Non-Intervention for Infectious Disease in African Great Apes. *PLoS ONE* 6, e29030. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029030>
- Simmons, G., Reeves, J.D., Grogan, C.C., Vandenberghe, L.H., Baribaud, F., Whitbeck, J.C., Burke, E., Buchmeier, M.J., Soilleux, E.J., Riley, J.L., Doms, R.W., Bates, P., Pöhlmann, S., 2003. DC-SIGN and DC-SIGNR Bind Ebola Glycoproteins and Enhance Infection of Macrophages and Endothelial Cells. *Virology* 305, 115–123. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1730>
- Siv Aina J., Wich, S.A., Ancrenaz, M., Bergl, R.A., Gonder, M.K., Humle, T., Leendertz, F.H., 2017. Ebola in great apes - current knowledge, possibilities for vaccination, and implications for conservation and human health. *Mam Rev* 47, 98–111. <https://doi.org/10.1111/mam.12082>
- Swenson, D.L., Wang, D., Luo, M., Warfield, K.L., Woraratanadharm, J., Holman, D.H., Dong, J.Y., Pratt, W.D., 2008. Vaccine To Confer to Nonhuman Primates Complete Protection against Multistrain Ebola and Marburg Virus Infections. *CVI* 15, 460–467. <https://doi.org/10.1128/CVI.00431-07>

- Tsuda, Y., Caposio, P., Parkins, C.J., Botto, S., Messaoudi, I., Cicin-Sain, L., Feldmann, H., Jarvis, M.A., 2011. A Replicating Cytomegalovirus-Based Vaccine Encoding a Single Ebola Virus Nucleoprotein CTL Epitope Confers Protection against Ebola Virus. *PLoS Negl Trop Dis* 5, e1275. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001275>
- Tsuda, Y., Parkins, C.J., Caposio, P., Feldmann, F., Botto, S., Ball, S., Messaoudi, I., Cicin-Sain, L., Feldmann, H., Jarvis, M.A., 2015. A cytomegalovirus-based vaccine provides long-lasting protection against lethal Ebola virus challenge after a single dose. *Vaccine* 33, 2261–2266. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.029>
- Walsh, M.G., Haseeb, M., 2015. The landscape configuration of zoonotic transmission of Ebola virus disease in West and Central Africa: interaction between population density and vegetation cover. *PeerJ* 3, e735. <https://doi.org/10.7717/peerj.735>
- Walsh, P.D., Abernethy, K.A., Bermejo, M., Beyers, R., De Wachter, P., Akou, M.E., Huijbregts, B., Mambounga, D.I., Toham, A.K., Kilbourn, A.M., Lahm, S.A., Latour, S., Maisels, F., Mbina, C., Mihindou, Y., Ndong Obiang, S., Effa, E.N., Starkey, M.P., Telfer, P., Thibault, M., Tutin, C.E.G., White, L.J.T., Wilkie, D.S., 2003. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature* 422, 611–614. <https://doi.org/10.1038/nature01566>
- Walsh, P.D., Kurup, D., Hasselschwert, D.L., Wirblich, C., Goetzmann, J.E., Schnell, M.J., 2017. The Final (Oral Ebola) Vaccine Trial on Captive Chimpanzees? *Sci Rep* 7, 43339. <https://doi.org/10.1038/srep43339>
- Wan, W., Kolesnikova, L., Clarke, M., Koehler, A., Noda, T., Becker, S., Briggs, J.A.G., 2017. Structure and assembly of the Ebola virus nucleocapsid. *Nature* 551, 394–397. <https://doi.org/10.1038/nature24490>
- Warfield, K.L., Goetzmann, J.E., Biggins, J.E., Kasda, M.B., Unfer, R.C., Vu, H., Aman, M.J., Olinger, G.G., Walsh, P.D., 2014. Vaccinating captive chimpanzees to save wild chimpanzees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111, 8873–8876. <https://doi.org/10.1073/pnas.1316902111>
- Wells, C.R., Pandey, A., Parpia, A.S., Fitzpatrick, M.C., Meyers, L.A., Singer, B.H., Galvani, A.P., 2019. Ebola vaccination in the Democratic Republic of the Congo. *Proc Natl Acad Sci USA* 116, 10178–10183. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817329116>
- Whyte, M.A., 2005. A gigantic fossil arthropod trackway. *Nature* 438, 576–576. <https://doi.org/10.1038/438576a>
- Willyard, C., 2017. Ebola: The great ape gamble. *Nature* 543, S56–S57. <https://doi.org/10.1038/543S56a>

Wolfe, N.D., Daszak, P., Kilpatrick, A.M., Burke, D.S., 2005. Bushmeat Hunting, Deforestation, and Prediction of Zoonotic Disease Emergence. *Emerging Infectious Diseases* 11, 6.

Annexe:

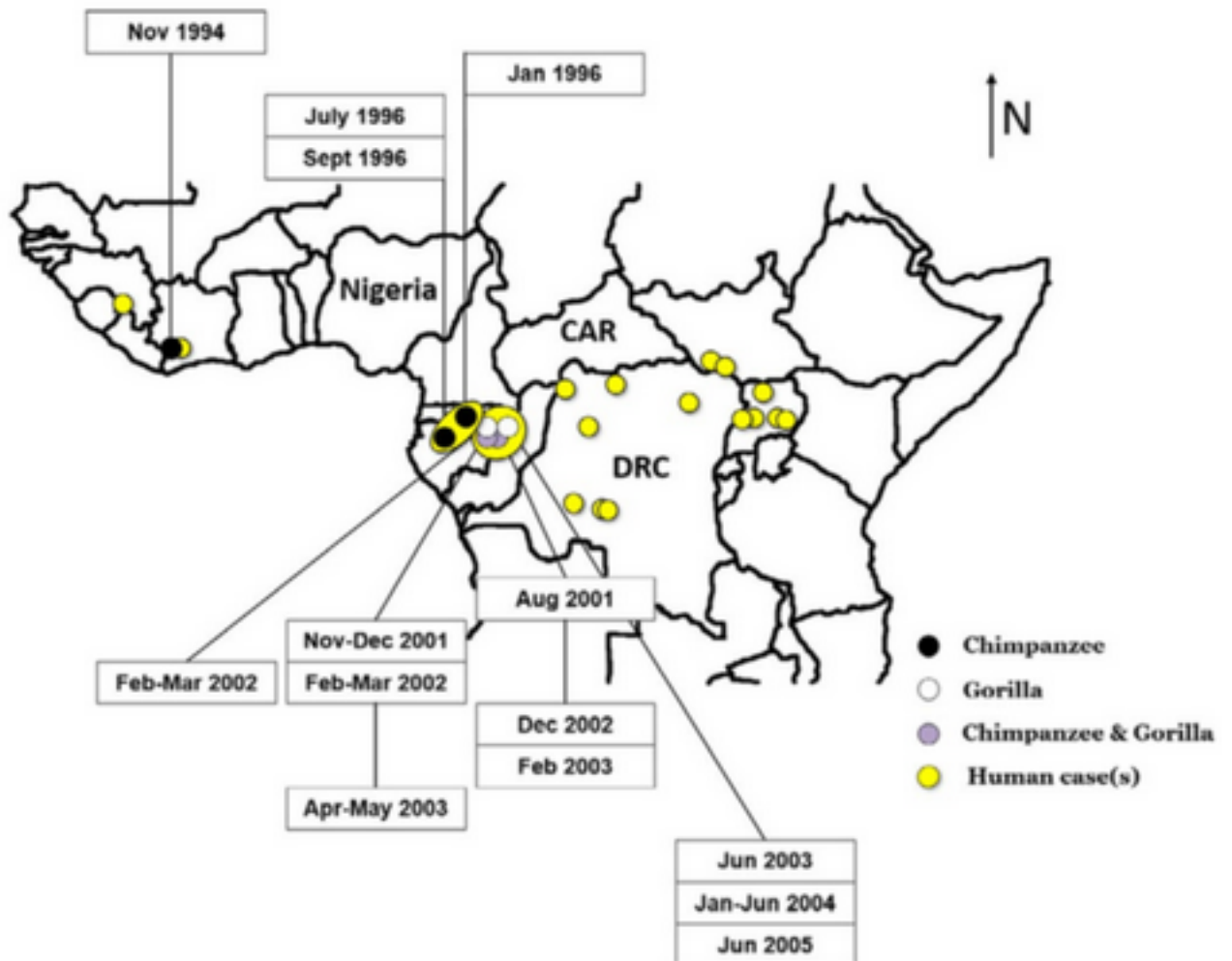


Fig. 1. Emplacements des carcasses de grands singes positives au virus Ebola et points d'origine des foyers humains de maladie à virus Ebola dans la ceinture tropicale de l'Afrique (points). Les grands ovales au Gabon et en République du Congo représentent respectivement trois et cinq foyers (Pigott et al. 2014, Anonyme 2015c). RCA = République centrafricaine, RDC = République démocratique du Congo.



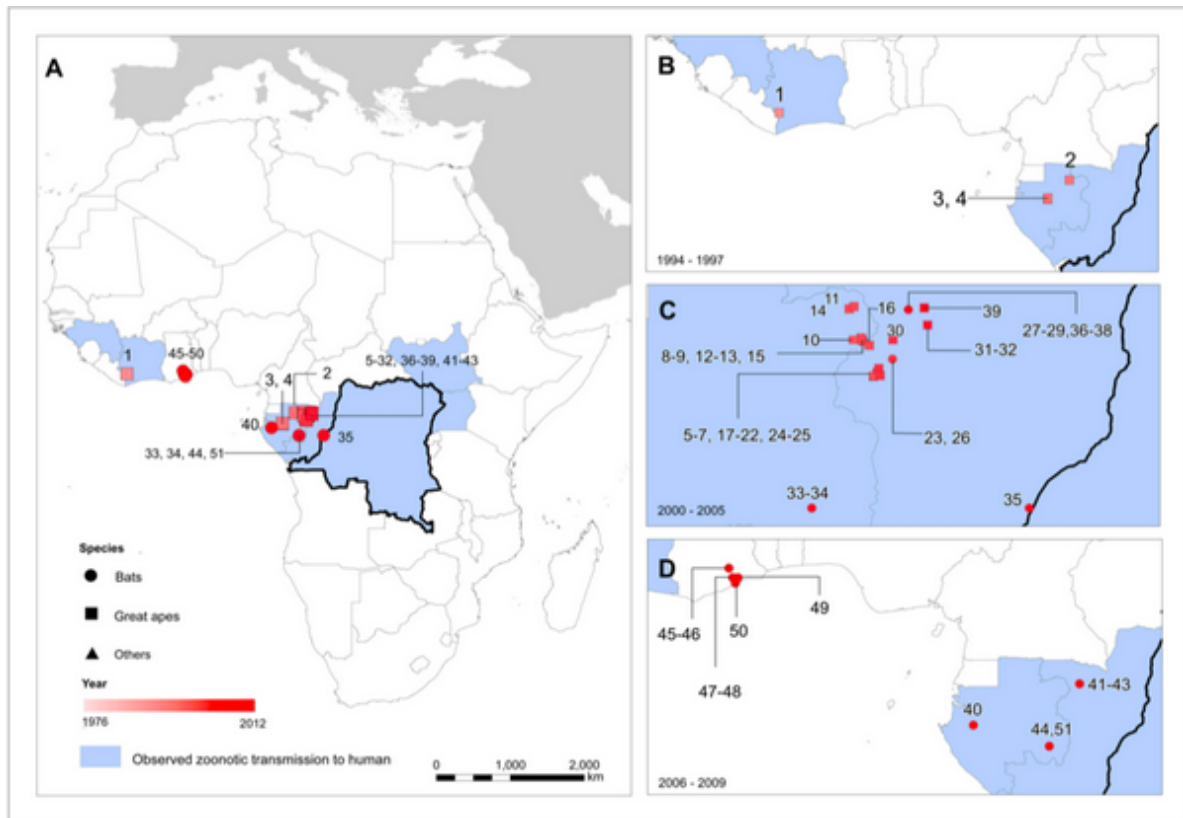


Figure 2. Localisation des cas d'infection par le virus Ebola chez les animaux en Afrique. (A) Montre les lieux où l'infection par le virus Ebola a été signalée chez les animaux. (B-D) Montre ces enregistrements chez les animaux sur trois périodes différentes.

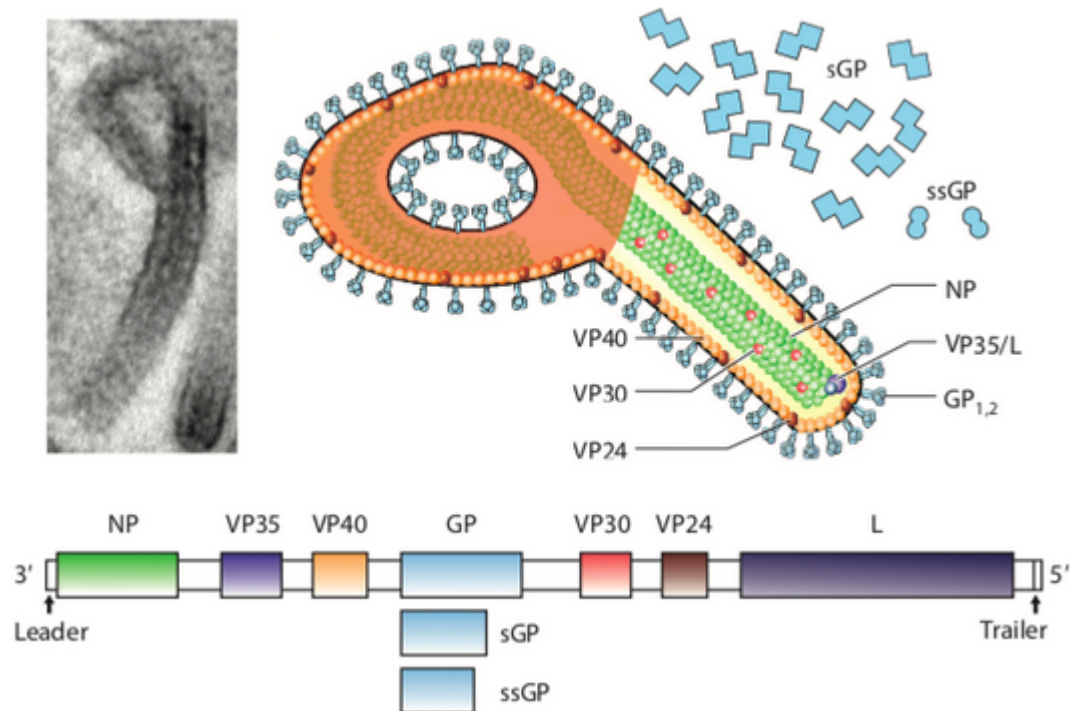


Figure 3: Structure de l'Ebolavirus indiquant les différentes protéines et les gènes qui les codent. Le génome présente la structure suivante : 3'-leader → gène de la nucléoprotéine (NP) → gène de la protéine virale (VP) 35 → gène VP40 → gène de la glycoprotéine (GP) → gène VP30 → gène VP24 → gène de la polymérase (L) → 5'-trailer.

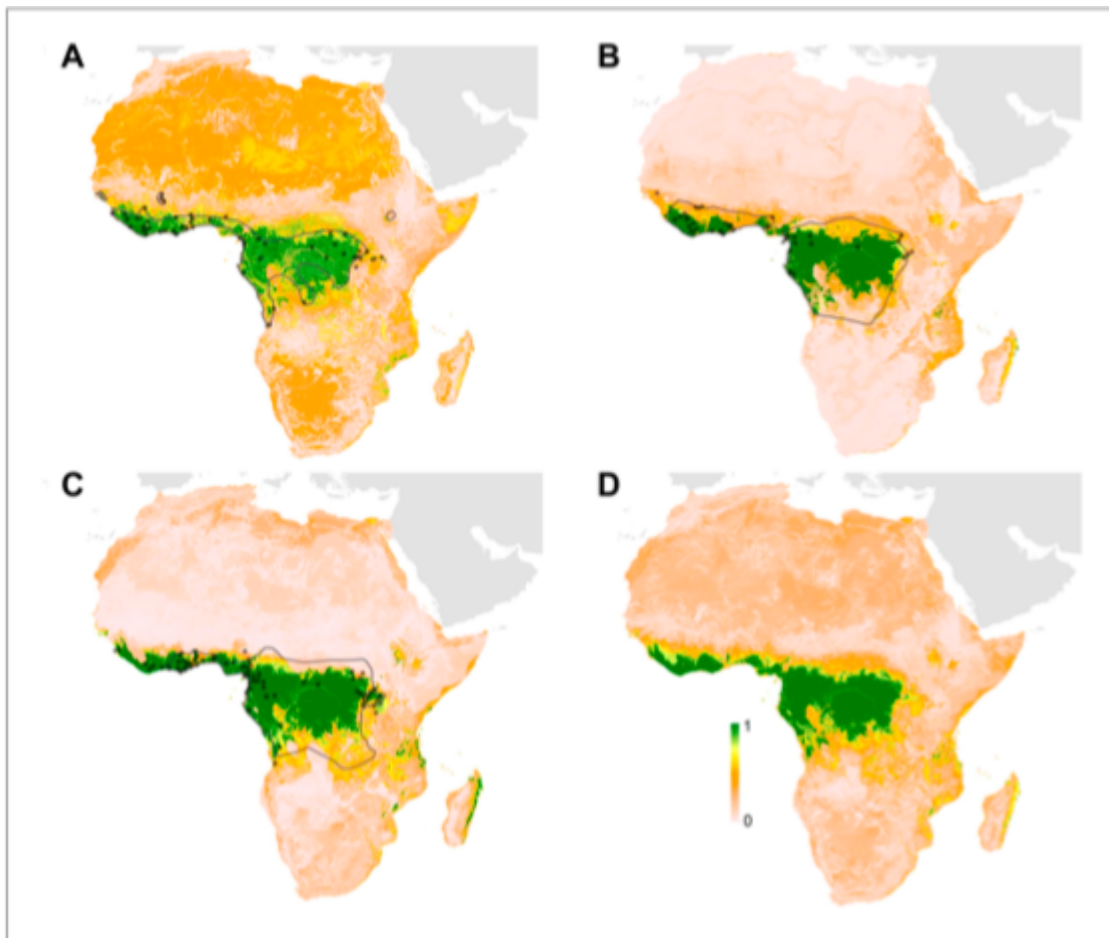


Figure 4 : Distribution géographique prédite des trois espèces de Megachiroptera suspectées d'être des réservoirs du virus Ebola. (A) Montre la distribution de la chauve-souris à tête marteau (*Hypsignathus monstrosus*), (B) de la petite chauve-souris frugivore à collier (*Myonycteris torquata*) et (C) de la chauve-souris frugivore à épaulettes de Franquet (*Epomops franqueti*). La légende des couleurs représente une échelle de la probabilité relative que l'espèce soit présente à cet endroit, de 0 (blanc, faible) à 1 (vert, élevée).

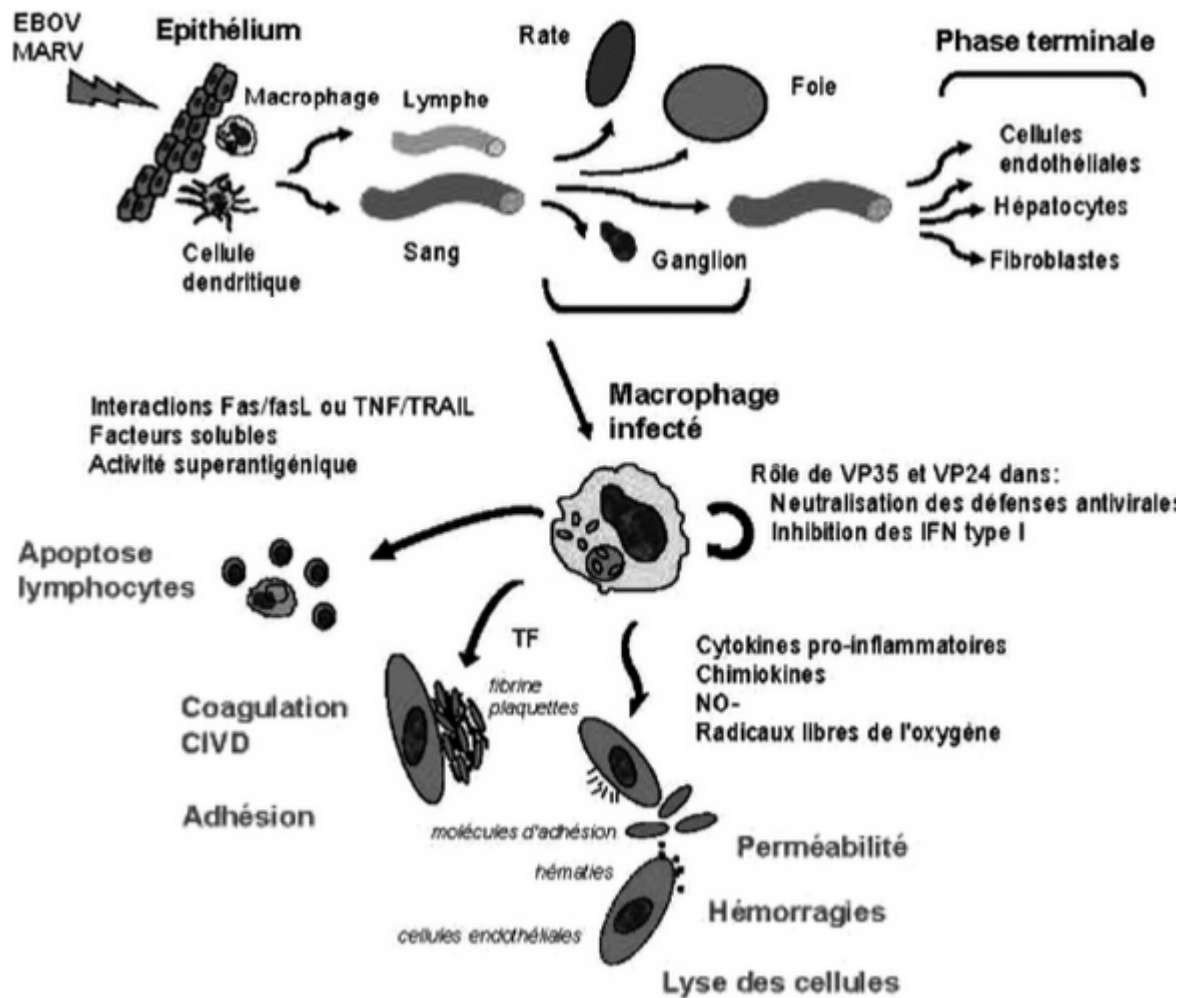


Figure 5: Schéma synthétique des mécanismes physiopathologiques associés à l'infection par le virus Ebola

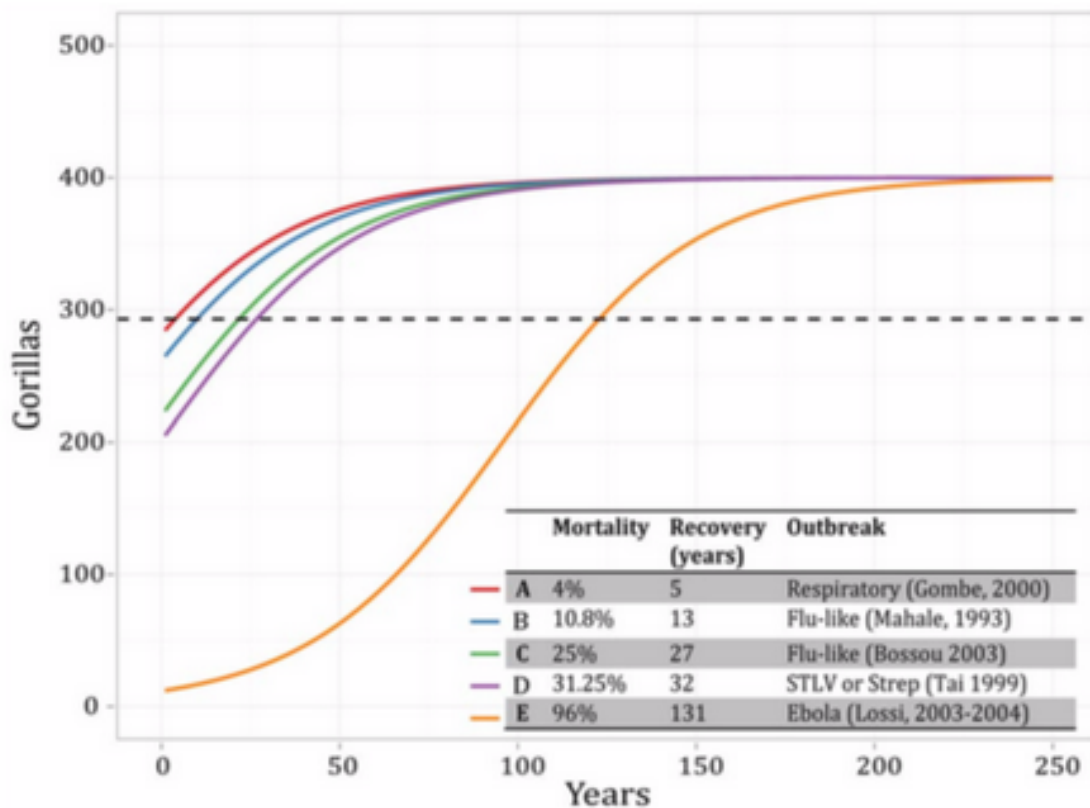


Figure 6: Courbes de récupération pour des scénarios d'épidémies hypothétiques au sein d'une population de gorilles. Cinq épidémies sont utilisées pour démontrer le temps de récupération jusqu'à la taille initiale de la population (ligne pointillée), pour une mortalité épidémique donnée, (respiratoire (Gombe, 2000), grippale (Mahale, 1993), grippale (Bossou 2003), STLV ou Strep (Tai 1999), Ebola (Lossi, 2003-2004)) .

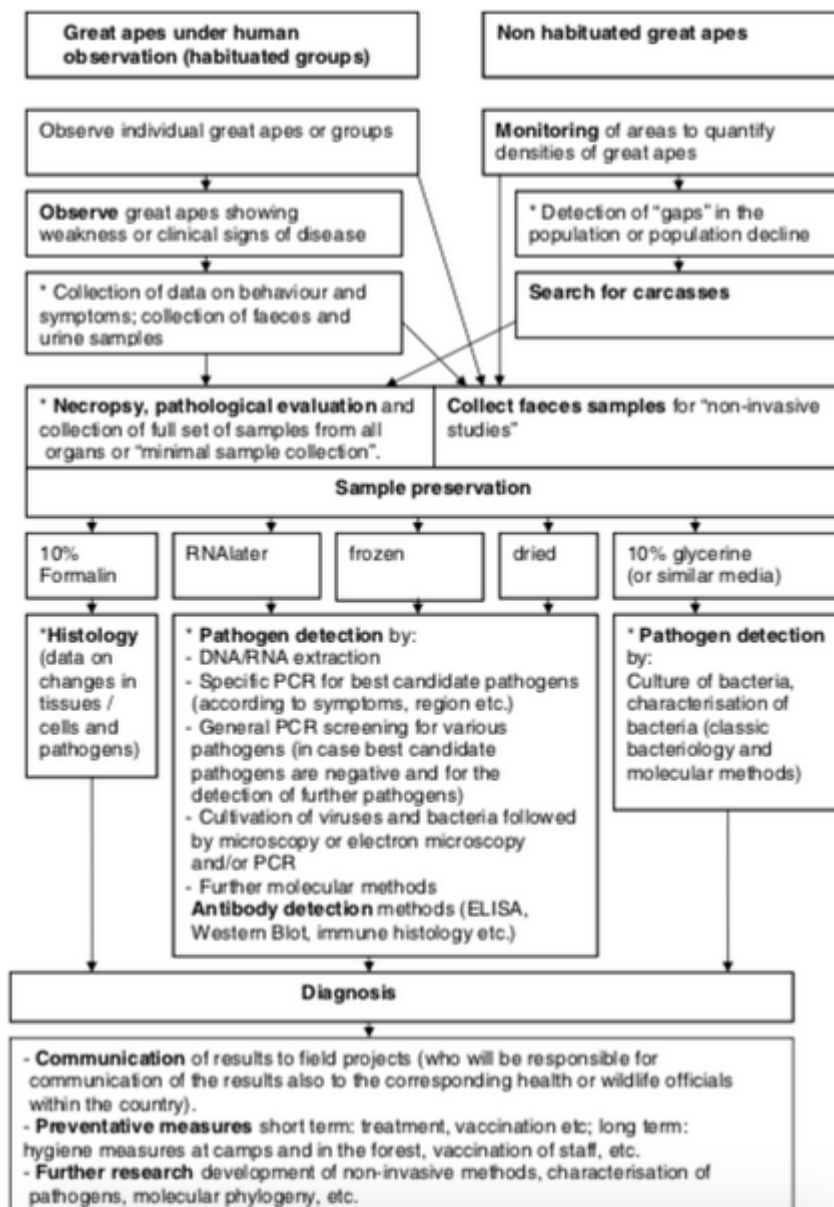


Figure 7: Organigramme de la surveillance de la maladie telle qu'elle est menée dans le projet présenté par Leendertz et al., 2016. Les cases marquées d'un "\*" sont les points où sont obtenues des données qui contribueront au diagnostic et à la compréhension de la maladie. Les méthodes de conservation des échantillons ne sont pas exhaustives, de plus elles sont basées sur les méthodes utilisées par le projet Taï chimpanzé.



Figure 8: Vêtements étanches de terrain équipés de matériel de filtration d'air, utilisés pour la nécropsie d'animaux sauvages à haut risque. Parc national d'Odzala, République du Congo, juin 2003. Photo : P. Rouquet.



Figure 9: Etat des carcasses d'animaux sauvages trouvées sur le terrain, sanctuaire de gorilles de Lossi, République du Congo, décembre 2002. Les carcasses se décomposent très rapidement dans la forêt équatoriale. Photo : P. Rouquet. A) Femelle chimpanzé, 3 jours après la mort. B) Gorille femelle, 7 jours après la mort. C) Femelle gorille, 21 jours après la mort.

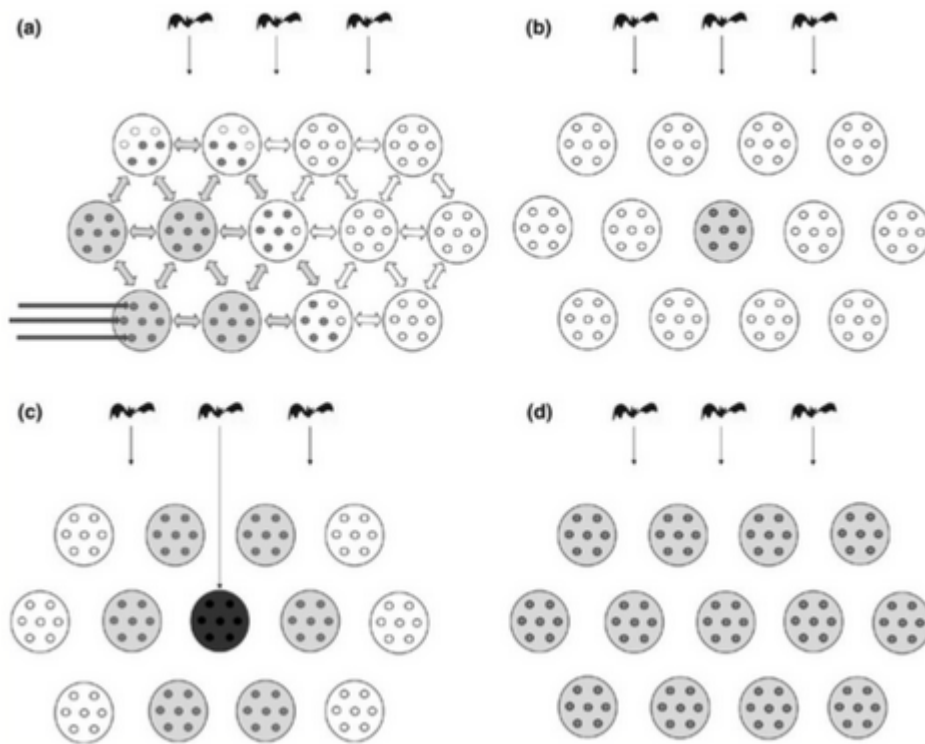


Figure 10: Présentation schématique des principes des stratégies de vaccination contre Ebola chez les grands singes. Les chauves-souris représentent une source possible d'infection par Ebola. Les petits points ouverts et les grands cercles illustrent des individus et des groupes dans la population des grands singes : Gris foncé/noir = infecté par Ebola, gris = vacciné, blanc = naïf. (a) Le principe d'un vaccin auto-diffusant. Les longues flèches indiquent l'introduction du virus vecteur, les courtes flèches grises montrent la propagation ultérieure et les courtes flèches blanches indiquent les voies potentielles de propagation ultérieure. (b) Vaccination de groupes spécifiques, par exemple des groupes habitués. (c) Vaccination en anneau en cas d'épidémie d'EVD. (d) Vaccination de l'ensemble de la population.



