



**HAL**  
open science

# **Ebola : origines et circonstances des épidémies, physiopathologie de la maladie et perspectives de traitements en cours de développement**

Caroline Bui

► **To cite this version:**

Caroline Bui. Ebola : origines et circonstances des épidémies, physiopathologie de la maladie et perspectives de traitements en cours de développement. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-01939624

**HAL Id: dumas-01939624**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01939624>**

Submitted on 29 Nov 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# THESE

Pour obtenir le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

## EBOLA : ORIGINES ET CIRCONSTANCES DES EPIDEMIES, PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MALADIE ET PERSPECTIVES DE TRAITEMENTS EN COURS DE DEVELOPPEMENT

Présentée par  
Caroline BUI

Soutenue publiquement le 8 juin 2018  
devant le jury composé de

Monsieur Jean-Christophe GIARD	Professeur de bactériologie, CHU de Caen	Président du jury
Madame Stéphanie GOUARIN	Docteur en Pharmacie, Praticien Hospitalier en virologie, CHU de Caen	Examinateur
Madame Gabrielle FOLLIARD	Docteur en Pharmacie, Pharmacien d'officine	Examinateur

Thèse dirigée par Monsieur Jean-Christophe GIARD



## LISTE DES ENSEIGNANTS – CHERCHEURS

Année Universitaire 2017 / 2018

**Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques**  
Professeur Michel BOULOUARD

### **Assesseurs**

Professeur Frédéric FABIS  
Professeur Pascale SCHUMANN-BARD

### **Directrice administrative et Directrice administrative adjointe**

Madame Sarah CHEMTOB  
Madame Alexandra HOUARD

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES

<b>BOULOUARD Michel</b>	Physiologie, Pharmacologie
<b>BUREAU Ronan</b>	Biophysique, informatique
<b>COLLOT Valérie</b>	Pharmacognosie
<b>DALLEMAGNE Patrick</b>	Chimie médicinale
<b>DAUPHIN François</b>	Physiologie, Pharmacologie
<b>DELEPEE Raphaël</b>	Chimie analytique
<b>FABIS Frédéric</b>	Chimie organique
<b>FRERET Thomas</b>	Physiologie, Pharmacologie
<b>GARON David</b>	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
<b>GAUDUCHON Pascal</b> Eméritat jusqu'au 31/08/2019	Biologie cellulaire
<b>GIARD Jean-Christophe</b>	Bactériologie, Virologie
<b>MALZERT-FREON Aurélie</b>	Pharmacie galénique
<b>RAULT Sylvain</b> Eméritat jusqu'au 31/08/2019	Chimie thérapeutique
<b>ROCHAIS Christophe</b>	Chimie organique
<b>SCHUMANN-BARD Pascale</b>	Physiologie, Pharmacologie
<b>SICHEL François</b>	Toxicologie
<b>SOPKOVA Jana</b>	Biophysique, Drug design
<b>VOISIN-CHIRET Anne-Sophie</b>	Chimie médicinale

### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

**ANDRE Véronique – HDR** Biochimie, Toxicologie

<b>BOUET Valentine – HDR</b>	Physiologie, Pharmacologie
<b>CAILLY Thomas – HDR</b>	Chimie bio-inorganique, Chimie organique
<b>DENOYELLE Christophe – HDR</b>	Biologie cellulaire et moléculaire,
Biochimie, Cancérologie	
<b>DHALLUIN Anne</b>	Bactériologie, Virologie, Immunologie
<b>ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR</b>	Parasitologie, Mycologie médicale
<b>GROO Anne-Claire</b>	Pharmacie galénique
<b>KIEFFER Charline</b>	Chimie médicinale
<b>KRIEGER Sophie</b> (Praticien hospitalier)	Biologie clinique
<b>LAPORTE-WOJCIK Catherine</b>	Chimie bio-inorganique
<b>LEBAILLY Pierre – HDR</b>	Santé publique
<b>LECHEVREL Mathilde – HDR</b>	Toxicologie
<b>LEGER Marianne</b>	Physiologie, Pharmacologie
<b>LEPAILLEUR Alban – HDR</b>	Modélisation moléculaire
<b>N'DIAYE Monique</b>	Parasitologie, Mycologie médicale, Biochimie clinique
<b>PAIZANIS Eleni</b>	Physiologie, Pharmacologie
<b>PEREIRA-ROSENFELD Maria de Fatima</b>	Chimie organique et thérapeutique
<b>POTTIER Ivannah</b>	Chimie et toxicologie analytiques
<b>PREVOST Virginie – HDR</b>	Chimie analytique, Nutrition, Education thérapeutique du patient
<b>QUINTIN Jérôme</b>	Pharmacognosie
<b>RIOULT Jean-Philippe</b>	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
<b>SINCE Marc</b>	Chimie analytique
<b>VILLEDIEU Marie</b>	Biologie et thérapies innovantes des cancers
<b><u>PROFESSEUR AGREGÉ (PRAG)</u></b>	
<b>PRICOT Sophie</b>	Anglais
<b><u>PERSONNEL ASSOCIÉ À TEMPS PARTIEL (PAST)</u></b>	
<b>SAINT-LORANT Guillaume</b>	Pharmacie clinique
<b>SEGONZAC Alain</b>	Pharmacologie, Essais cliniques
<b>RICHARD Estelle</b>	Pharmacie officinale

## REMERCIEMENTS

Je remercie Monsieur le Professeur Jean-Christophe GIARD, pour m'avoir soutenue tout au long de ce projet, d'avoir toujours été disponible et de bons conseils, et qui me fait l'honneur d'être le directeur de cette thèse.

Je remercie Madame le Docteur Stéphanie GOUARIN, dont je suis très reconnaissante d'avoir accepté de participer à l'examen de ce travail avec bienveillance.

Je remercie Madame le Docteur Gabrielle FOLLIARD, une amie que j'estime, qui s'est investie dans la relecture de cette thèse et qui me fait l'honneur d'être membre de ce Jury.

À ma famille, pour leur soutien éternel et qui attend ce moment avec impatience, et à qui je dédie cette thèse.

À mes amis, pour leur bonne humeur et leur soutien moral.



# TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>1</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS .....</b>	<b>3</b>
<b>PREAMBULE .....</b>	<b>6</b>
<b>1 - HISTOIRE DES EPIDEMIES DUES AU VIRUS EBOLA.....</b>	<b>8</b>
1.1 - 1976-1979 : la découverte du virus au Zaïre et au Soudan .....	8
1.2 - 1989 : l'épisode de Reston, en Virginie (USA) .....	9
1.3 - 1994 : Ebola refait surface en Afrique.....	10
1.4 - 2000-2009 : Une nouvelle souche est découverte .....	11
<b>2 – LE VIRUS EBOLA.....</b>	<b>13</b>
2.1 – Classification.....	13
2.2 – Morphologie .....	13
2.3 – Génome .....	15
2.4 – Cycle de vie du virus dans les cellules hôtes .....	17
<b>3 – ECO-EPIDEMIOLOGIE ET MODES DE TRANSMISSION DU VIRUS.....</b>	<b>21</b>
3.1 – Les hôtes réservoirs et hôtes finaux .....	21
3.2 – Modes de transmission interhumaine .....	23
3.3 – Evolution et populations à risque .....	24
<b>4 – LA MALADIE : PHYSIOPATHOLOGIE ET ECHAPPEMENT DE LA REPOSE IMMUNITAIRE.....</b>	<b>27</b>
4.1 – Clinique.....	27
4.2 – Physiopathologie.....	29
4.3 – Echappement de la réponse immunitaire lors d'une infection à virus Ebola .....	32
4.3.1- Le camouflage lors de l'entrée du virus dans la cellule hôte et mécanismes de sortie.....	32
4.3.2 – Interruption de la cascade de signalisation des interférons (IFN).....	33
4.3.3 – Mécanismes d'évitements de la réaction immunitaire adaptative .....	34
4.3.4 – Perturbation de la voie d'inhibition des ARNm viraux.....	34
4.3.5 – Contre-attaque de l'hôte.....	35
4.3.6 – Le délicat équilibre de la réponse immunitaire .....	35

<b>5 – DIAGNOSTIC DU VIRUS EBOLA.....</b>	<b>39</b>
5.1 – Quelles personnes concernées ? .....	39
5.2 – Prélèvement des échantillons .....	40
5.3 – Les tests diagnostiques .....	41
5.3.1 – La RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction .....	41
5.3.2 – Le test ELISA – Enzyme Linked Immuno Assay.....	43
5.3.3 – Isolement du virus .....	44
5.3.4 – Tests d’immunohistochimie .....	44
5.4 – Les tests de diagnostic rapide (TDR) .....	45
5.4.1 – ReEBOV™ Antigène Rapid Test (USA) .....	45
5.4.2 – eZYSCREEN (France) .....	46
5.5 – Autres tests .....	46
<b>6 – LES TRAITEMENTS CANDIDATS.....</b>	<b>49</b>
6.1 – Médicaments antiviraux.....	50
6.1.1 – Le favipiravir (T-705) .....	50
6.1.2 – BCX4430.....	53
6.1.3 – Brincidofovir (BCV) .....	56
6.2 – Les immunoglobulines : le traitement par ZMAPP .....	58
6.3 – Petits ARN antiviraux inhibiteurs .....	60
6.3.1 – TKM-ebola.....	60
6.3.2 – PMOs antisens : phosphodiamidate Morpholino Oligomers : AVI-7537, AVI-7539, et AVI-6002 .....	62
6.4 – Les immunomodulateurs : Interférons $\beta$ 1a .....	64
6.5 – Autres traitements .....	66
6.5.1 - rNAPc2.....	66
6.5.1 – Plasma de convalescent.....	68
<b>7 – LES VACCINS.....</b>	<b>69</b>
7.1 – Les vecteurs viraux recombinants.....	70
7.1.1 – Vaccin rVSV-EBOV .....	70
7.1.2 – Vaccin MVA-BN-EBOV Filo .....	72
7.1.3 – vaccins utilisant des vecteurs à adénovirus .....	73
7.1.3.1 – Le vecteur Ad5, adénovirus humain .....	73
7.1.3.2 – Schéma vaccinal Ad26-ZEBOV suivi d’un boost de MVA-BN-Filo .....	74
7.1.3.3 – Chad3-EBOV-Z : vaccin à vecteur adénovirus de chimpanzé recombinant .....	76
7.2 – Les vaccins à ADN.....	77

7.3 - Les vaccins à virus entier EBOVΔVP30 .....	78
7.4 – Les vaccins à VLP (virus-like particles) .....	79
<b>8 - BILAN DE L'ÉPIDÉMIE DE 2014-2105 EN AFRIQUE DE L'OUEST.....</b>	<b>81</b>
8.1 – Circonstances de l'épidémie .....	82
8.2 – Les facteurs de propagation du virus .....	84
8.3 – Situation en Guinée, Libéria et Sierra Léone durant la crise .....	87
8.4 – Cas sporadiques dans les pays frontaliers et réémergence de la maladie en République Démocratique du Congo .....	90
8.5 – Cas exportés dans le monde .....	91
<b>9 –PRISE EN CHARGE DANS LES CENTRES DE TRAITEMENT EBOLA DURANT L'ÉPIDÉMIE DE 2014-2105.....</b>	<b>93</b>
9.1 – Les Centres de Traitement Ebola .....	93
9.2 – Equipement des soignants .....	97
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>99</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>101</b>



## **LISTE DES ABREVIATIONS :**

Ad5	Adénovirus de type 5
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
BCV	Bronciclofovir
BDBV	Ebolavirus Bundibugyo
BSL-4	Biosafety of Level 4
CEA	Commissariat aux Energies Atomiques
CD	Cellule dendritique
CDC	Center for Disease Control
CDV	Cidofovir
ChAd3	Adénovirus de chimpanzé de type 3
CIVD	Coagulation Intravasculaire Disséminée
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
CPK	Créatine Phosphokinase
CT	Cycle Threshold
CTE	Centre de Traitement Ebola
EBOV	Ebolavirus Zaïre
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbant Assay
EPI	Equipement de protection individuelle
FDA	Food and Drug administration
FH	Fièvre hémorragique
FT	Facteur Tissulaire
GP	Glycoprotéine
HDP	3 hexadécyloxy-1-propanol
IFITM	Interferon Induced Transmembrane proteins
IFN	Interféron
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IM	Intramusculaire
IV	Intraveineux
LNP	Lipid nanoparticule
MARV	Virus Marburg
MERS-CoV	Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient
MVA-BN	Modified Vaccinia Virus Ankara-Bavarian Nordic
MVE	Maladie à virus Ebola
NK	Cellules Natural Killer
NPC1	Récepteur Niemann Pick 1
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ORF	Open Reading Frame
PFU	Plaques forming-units
PMOs	Phosphorodiamidate Morpholino Oligomers
PS	Phosphatidylsérines
RAVV	Virus Ravn
RDC	République du Congo
RNP	Complexe ribonucléoprotéique
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
SARS	Syndrome Respiratoire Aigu Sévère

SUDV	Ebolavirus Soudan
TAFV	Ebolavirus Forêt de Tai
TAM	Tyro3, Axl, and Mer
TFPI	Tissue Factor Pathway inhibitor
TIM T-cell	Immunoglobulin and mucin domain
TLR	Toll-Like Receptor
TNF- $\alpha$	Facteur de Nécrose Tumorale $\alpha$
RESTV	Ebolavirus Reston
sGP	Glycoprotéine sécrétée
siARN	Small Interférent ARN
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VSV	Virus de la Stomatite vésiculeuse (VSV)
VV	Virus de la vaccine
ZEBOV	Ebolavirus Zaïre (ancienne dénomination)

## TABLE DES ILLUSTRATIONS :

### Liste des figures :

FIGURE 1 : CARTE REPRESENTANT LES EPIDEMIES A VIRUS EBOLA DEPUIS 1976 JUSQU'EN 2014 .....	11
FIGURE 2 : PHYLOGENIE DE L'ORDRE DES <i>MONONEGAVIRALES</i> . .....	14
FIGURE 3 : PHYLOGENIE DES <i>FILOVIRIDAE</i> . .....	14
FIGURE 4 : VIRUS EBOLA ZAÏRE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE .....	15
FIGURE 5 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA STRUCTURE DU VIRUS. ....	17
FIGURE 6 : SCHEMA DU GENOME DU VIRUS EBOLA.....	17
FIGURE 7 : MECANISME D'ENTREE DU VIRUS DANS LA CELLULE HOTE PAR MACROPINOCYTOSE .....	18
FIGURE 8 : CYCLE DE VIE DU VIRUS EBOLA.....	20
FIGURE 9 : PHOTOS DES 3 CHAUVES-SOURIS RESERVOIRS DU VIRUS EBOLA .....	22
FIGURE 10 : (A) CARTE DE REPARTITION DES 3 TYPES DE CHAUVES-SOURIS RESERVOIRS DU VIRUS EBOLA. (B) CARTE REPRESENTANT LES ZONES OU LA POPULATION EST A FORT RISQUE D'ETRE TOUCHE PAR LE VIRUS. ....	22
FIGURE 11 : CYCLE ECOLOGIQUE DU VIRUS EBOLA.....	23
FIGURE 12 : INDEX DE CONTAGIOSITE DU VIRUS EBOLA. COMPARAISON AVEC D'AUTRE VIRUS CONNUS .....	24
FIGURE 13 : DISTRIBUTION DES FOYERS DE FIEVRES HEMORRAGIQUES A VIRUS EBOLA DANS LE MONDE CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL, AINSI QUE L'AIRE DE REPARTITION DES CHAUVES-SOURIS FRUGIVORES DE LA FAMILLE DES <i>PTEROPODIDAE</i> . ....	25
FIGURE 14 : LES PHASES DE LA MALADIE A VIRUS EBOLA (MVE).....	29
FIGURE 15 : MECANISMES DE LA PATHOGENICITE DU VIRUS EBOLA DANS L'ORGANISME .....	31
FIGURE 16 : REONSE IMMUNITAIRE LORS D'UNE INFECTION A VIRUS EBOLA CHEZ UN PATIENT AYANT SURVECU .....	37
FIGURE 17 : LES MECANISMES D'ECHAPPEMENT A LA REACTION IMMUNITAIRE.....	37
FIGURE 18 : DISPOSITIF GENIE III. ....	43
FIGURE 19 : CARTE DE RESULTAT DU TEST DE DIAGNOSTIC RAPIDE REBOV .....	45
FIGURE 20 : TEST EZYSCREEN.....	46
FIGURE 21 : LES STRUCTURES DU FAVIPIRAVIR .....	51
FIGURE 22 : CENTRES DE TRAITEMENTS DE LA MALADIE EBOLA EN GUINEE.....	53
FIGURE 23 : STRUCTURE DE BCX4430.....	54
FIGURE 24 : METABOLISME DE BCX4430 EN BCX4430-TP (APPELE AUSSI BCX6870). ....	55
FIGURE 25 : SCHEMA ILLUSTRANT LE MECANISME D'ACTION DU BRINCIDOFOVIR UTILISE DANS LE CAS D'INFECTION A CYTOMEGALOVIRUS.....	57
FIGURE 26 : STRUCTURE CHIMIQUE D'UN PMO ET D'UN <i>PMOPLUS</i> . ....	62
FIGURE 27 : TAUX DE SURVIE DES SOURIS TRAITEES AVEC DIFFERENTS PMOs APRES INOCULATION DU VIRUS.....	64
FIGURE 28 : SCHEMA REPRESENTANT LE MECANISME D'ACTION DE RNAPc2 ET LE COMPLEXE QUATERNAIRE INHIBITEUR FINAL. ....	67
FIGURE 29 : TITRES EN ANTICORPS SPECIFIQUES ANTI-GP DANS LES 2 GROUPES RANDOMISES EN FONCTION DU TEMPS. ....	76
FIGURE 30 : PERSISTANCE DU TAUX D'ANTICORPS ANTI-GP MESURES PAR TEST ELISA, APRES INJECTION DU VACCIN CHAd3-EBOV-Z77	
FIGURE 31 : NOMBRE DE DECES AU COURS DE PRECEDENTES EPIDEMIES D'EBOLA .....	81
FIGURE 32 : PROPAGATION DE LA MALADIE EN GUINEE DEPUIS LA VILLE DE GUECKEDOU.....	83
FIGURE 33 : LES DEBUTS DE LA CHAINE DE TRANSMISSION DU VIRUS EBOLA EN GUINEE, ADAPTE DE LA PUBLICATION « EMERGENCE OF ZAÏRE EBOLA VIRUS DISEASE IN GUINEA ».....	84
FIGURE 34 : INCIDENCE DE LA MALADIE A VIRUS EBOLA - AFRIQUE DE L'OUEST, 18 OCTOBRE 2014, AU PLUS FORT DE L'EPIDEMIE... ..	88
FIGURE 35 : GRAPHIQUE PRESENTANT LE NOMBRE DE NOUVEAU CAS DE MALADIE A VIRUS EBOLA AU COURS DE L'EPIDEMIE DE 2014-2015 EN GUINEE, LIBERIA ET SIERRA LEONE. ....	89
FIGURE 36 : NOMBRE DE CAS ET DE DECES LORS DE L'EPIDEMIE D'EBOLA AU 1ER OCTOBRE 2015 .....	89
FIGURE 37 : GRAPHIQUE REPRESENTANT LE NOMBRE DE CAS ET DE DECES EN AFRIQUE DE L'OUEST .....	91
FIGURE 38 : NOMBRE DE CAS ET DE DECES ENREGISTRES EN DEHORS DE L'AFRIQUE SUITE A DES EXPORTATIONS .....	92
FIGURE 39 : CARTE REPRESENTANT LES EMBLEMES DES CENTRES DE TRAITEMENT EBOLA OPERATIONNELS EN AFRIQUE DE L'OUEST AU 25 FEVRIER 2015 . ....	95
FIGURE 40 : CENTRE DE TRAITEMENT EBOLA PAR MSF .....	95
FIGURE 41 : COMBINAISON DE PROTECTION DES SOIGNANTS CONTRE LE VIRUS EBOLA DANS LES CTE.....	98

## **Liste des tableaux :**

TABLEAU 1: CHRONOLOGIE DES EPIDEMIES HUMAINES A VIRUS EBOLA EPIDEMIES A EBOLA EN AFRIQUE .....	12
TABLEAU 2 : SOUS-TYPES DU VIRUS EBOLA, NOMBRE D'EPIDEMIES ET LETALITE .....	14
TABLEAU 3 : COMPARAISON DE LA REPONSE IMMUNITAIRE CHEZ LES SURVIVANTS ET LES NON-SURVIVANTS.....	35
TABLEAU 4 : RECOMMANDATIONS DES TESTS DIAGNOSTIQUES A REALISER SELON LE STADE DE LA MALADIE .....	41
TABLEAU 5 : PRINCIPALES MOLECULES THERAPEUTIQUES EN DEVELOPPEMENT CONTRE LA MALADIE A VIRUS EBOLA.....	49
TABLEAU 6 : SYNTHESE DES RESULTATS DE L'ETUDE JIKI .....	52
TABLEAU 7 : VACCINS EN COURS DE DEVELOPPEMENT POUR LA MALADIE EBOLA .....	69
TABLEAU 8 : DETAIL DE L'ORGANISATION DES ZONES A HAUT RISQUE ET A BAS RISQUE AINSI QUE LES ESPACES DE PASSAGE D'UNE ZONE A L'AUTRE.....	96

## **PREAMBULE**

Découvert en 1976, la maladie tropicale à virus Ebola a longtemps été négligée malgré un taux de mortalité élevé, pouvant atteindre 90%. Depuis plus de 40 ans, ce virus est responsable d'épidémies à travers l'Afrique centrale. Cependant, ce n'est que dernièrement, lors de l'épidémie de 2014-2015 en Afrique de l'Ouest, la plus mortelle jusqu'à présent (plus de 11300 morts), que le monde entier a considéré cette maladie comme un des enjeux de santé public majeur. Parallèlement, la recherche s'est accélérée pour mettre au point le plus rapidement possible des traitements et des vaccins efficaces, dont certains ont pu être testés sur le terrain durant la crise.

Cette thèse a pour objet de partir sur les traces du virus Ebola, depuis ses origines jusqu'à aujourd'hui. Ce travail est le fruit de nombreuses recherches qui m'ont permis de comprendre en partie toute la complexité de cette maladie, tant au niveau physiopathologique que sociétal. La maladie à virus Ebola est une zoonose qui se transmet depuis les animaux de la forêt tropicale (chauves-souris et primates principalement) à l'homme, dont certains se nourrissent de la viande de ces animaux contaminés. Elle est responsable de fièvres hémorragiques pouvant mener à la mort en moins d'une semaine. Les transmissions interhumaines peuvent rapidement engendrer des flambées épidémiques difficilement contrôlables en absence de mesures de préventions et de stratégies de ripostes rapides et efficaces par les autorités de santé locales. On connaît actuellement cinq sous-types du virus, dont le sous-type Zaïre qui a été responsable de la majorité des épidémies, avec un taux de mortalité pouvant atteindre 90%. Le virus Ebola est particulièrement virulent car il attaque les cellules du système immunitaire, affaiblissant les malades et rendant la prise en charge compliquée. De plus, la maladie sévit dans des pays d'Afrique pauvres, mal équipés en infrastructures de santé, rendant la propagation du virus presque inévitable, avec un risque augmenté de contamination du personnel soignant. Actuellement aucun traitement n'a été approuvé pour traiter la maladie. Le favipiravir, le brincidofovir, ZMapp et des vaccins, tels que le rVSV-EBOV ont été testés durant l'épidémie avec succès et constituent aujourd'hui les premiers espoirs de guérison et de prévention au sein des populations concernées.

L'épidémie de 2014-2015 a fait l'objet d'une incroyable coopération internationale qui a permis, au bout de deux longues années, d'endiguer les flambées épidémiques

qui ont sévi en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone. Des centres de traitement Ebola (CTE) et des laboratoires mobiles ont été implantés dans ces trois pays et ont permis de prendre en charge efficacement les nouveaux cas. Cependant, dans un contexte sous tension où les équipes soignantes ont vite été débordées, les mesures strictes d'isolement des malades et d'interdiction de certaines pratiques funéraires se sont heurtées aux sensibilités culturelles locales, générant de la suspicion et, dans certains cas des émeutes, rendant le travail des soignants encore plus délicat. De plus, cette épidémie a été surmédiatisée pendant plusieurs mois, alimentant un climat anxiogène à travers le monde.

A l'heure actuelle, une réémergence du virus Ebola est signalée en République Démocratique du Congo depuis le 3 mai 2018. Elle a fait, à ce jour 19 décès. D'importantes mesures ont été mises en place avec l'OMS et les autorités locales et le vaccin rVSV-EBOV est actuellement déployé sur le terrain.

Cette thèse, je l'espère, permettra au lecteur d'avoir une vision panoramique de la maladie Ebola, tant sur les origines de la maladie que sur plan virologique, physiopathologique et épidémiologique. Les traitements en cours de développement sont détaillés un à un, avec leurs modes d'action ainsi que des précisions sur les résultats d'essais précliniques et cliniques afin de mieux juger de l'avancement des recherches.

En vous souhaitant une excellente lecture,

Caroline BUI

# 1. HISTORIQUE DES EPIDEMIES DUES AU VIRUS EBOLA

Dans cette partie, nous retracerons les grandes étapes de la découverte du virus Ebola. Toutes les épidémies sont résumées dans le Tableau 1 et la Figure 1.

Une partie de cette thèse sera dédiée à l'épidémie de 2014-2015.

## 1.1. 1976-1979 : la découverte du virus au Zaïre et au Soudan

En 1976, des épidémies de fièvres hémorragiques, simultanément déclarées au Zaïre (dans la ville de Yambuku), actuellement République Démocratique du Congo, et au Soudan (dans la ville de Nzara), ont été responsables de plus de 430 morts parmi plus de 550 cas déclarés. Un virus est identifié chez les patients atteints de la maladie dans les deux pays. Il est morphologiquement semblable à celui de Marburg, découvert en 1967, mais présente des différences génomiques. Ce nouveau virus sera alors nommé Ebola, d'après le nom d'une rivière coulant près de Yambuku (1). Suite à ces deux épidémies, on distingua alors le sous-type Zaïre (EBOV) et le sous-type Soudan (SUDV) responsables des épidémies dans les deux pays respectifs (2).

Au Soudan, l'épidémie initiée à Nzara s'amplifie rapidement dans la ville de Maridi lors d'une épidémie hospitalière. Elle a débuté dans l'hôpital de la mission de Yambuku et a été la source de nombreuses contaminations dans les familles et parmi le personnel soignant jusqu'à sa fermeture. La prolifération du virus s'est peu à peu stoppée avec l'utilisation de matériel jetable et des mesures d'isolement strictes. Par ailleurs, aucun lien n'a pu être identifié entre ces deux épidémies malgré une enquête menée à ce sujet. De plus, des recherches écologiques n'ont pas réussi à mettre en évidence un réservoir animal (3).

L'épidémie au Zaïre fut meurtrière avec une mortalité de 88% versus 53% au Soudan, ce qui démontre un pouvoir pathogène pour EBOV supérieur à celui de SUDV (2). La transmission de la maladie entre membres d'une même famille a été responsable de 45% des cas (malades) déclarés. On découvre également que la propagation de l'épidémie à l'hôpital est principalement due à la réutilisation de seringues et d'aiguilles contaminées. L'instauration de mises en quarantaine a permis de stopper la propagation du virus après 7 semaines d'épidémie (4).

Cette même année, en Angleterre, un technicien de laboratoire contracte la maladie Ebola en se piquant avec une aiguille souillée.

En 1977, un nouveau cas d'Ebola est recensé au Zaïre (5).

En 1979, Le Soudan est affecté d'une seconde épidémie qui fera 22 morts sur les 34 cas déclarés (3). On note par ailleurs qu'un patient fut à l'origine de quatre infections nosocomiales transmises à 4 familles (5).

## **1.2. 1989 : L'épisode de Reston, en Virginie (USA)**

Aucun nouveau cas n'est signalé jusqu'en 1989 où des vétérinaires durent faire face à l'incident de Reston (Virginie, USA). En Octobre 1989, cent singes macaques (*Maccaca fascicularis*) furent transportés depuis les Philippines jusqu'à Reston dans un centre de quarantaine animale (6). Après leur arrivée, certains moururent rapidement. On diagnostiqua une fièvre hémorragique simienne (càd touchant les singes et primates) due à un filovirus qui n'est autre que le virus de type Ebola. Le nombre de sujets morts parmi les singes ne faisant qu'accroître, les scientifiques décidèrent de sacrifier tout le lot (4).

On pensait pourtant que le virus Ebola était restreint à l'Afrique tropicale forestière. La découverte de cette souche chez des sujets non humains (c'était la première fois) et originaires d'Asie engendra une vague de panique aux Etats-Unis. En effet on redoutait une violente épidémie et notamment par les membres du personnel de l'animalerie.

Cette nouvelle souche d'Ebola, définie comme le sous-type Reston (RESTV) est mortelle pour ces singes mais différente de celles isolées au Soudan et au Zaïre. Elle se distingue également par son pouvoir non-pathogène chez l'homme puisqu'aucune des 4 personnes infectées par le Reston n'a développé de maladie. Le fait que le virus est passé par plusieurs hôtes avant d'avoir infecté l'Homme, a pu avoir une incidence sur la réduction de son pouvoir pathogène. De plus, bien qu'aucun cas clinique humain n'ai été recensé, plusieurs animaliers ont développé des IgG spécifiques de RESTV (1),(2).

### **1.3. 1994 : Ebola refait surface en Afrique**

Le 16 novembre 1994, trois chercheurs étudièrent les cas de plusieurs chimpanzés découverts morts dans Le Park national Taï en Côte d'Ivoire. Ces singes présentaient des signes d'un syndrome hémorragique. Suite à ces autopsies, l'un de chercheur tomba malade, une éthologue suisse de 34 ans.

D'abord prise de fièvre et de frissons qui semblait lui évoquer la malaria, elle se traite par une cure d'halofantrine. Son état se dégradant, elle est hospitalisée à Abidjan 3 jours après le début des symptômes où elle continue d'être soignée contre la malaria. Le 5<sup>ème</sup> jour, la jeune femme est prise de diarrhées et vomissements ainsi que d'éruptions cutanées non prurigineuses s'étendant sur le dos mais également des troubles du système nerveux central (pertes de mémoire temporaires, anxiété, confusion).

Ne constatant aucune amélioration de son état, elle est rapatriée en Suisse et sauvée. En décembre 1994, une étude épidémiologique a été menée en Côte d'Ivoire pour déterminer la cause de la mort des chimpanzés qui ont été autopsiés deux mois plus tôt. À partir des sérums des singes et des sérums de la jeune femme prélevés aux premiers jours de sa maladie, une nouvelle souche du virus Ebola est identifiée : le sous type Taï Forest (TAFV).

La contamination du virus à l'homme a été possible par contact avec le sang. En effet, au moment de l'autopsie, l'éthologue ne portait pas de gants adaptés et a pu être en contact direct avec le sang des singes infectés (7).

En 1995, Le Zaïre dû faire face à une épidémie de « diarrhée rouge » (8), évoquant une infection par le virus Ebola. Débordé, le pays sollicita une aide sanitaire aux autorités européennes et américaines pour la ville de Kikwit qui reconnurent l'origine nosocomiale de cette épidémie à l'hôpital général. Il s'agissait d'une réapparition d'Ebola dans une communauté humaine. On dénombra 316 cas avec un taux de mortalité de 80%. Parmi ces cas, 80 d'entre eux (25%) étaient membres du personnel soignant (3).

En 1996, 19 personnes ont été touchées par une épidémie qui a sévit cette fois-ci à Mayibout au Gabon et concernait de jeunes chasseurs ayant été en contact avec un cadavre de chimpanzé. Les événements de l'année précédente au Zaïre font

suspecter le virus Ebola et l'alerte est immédiatement transmise aux autorités. La présence d'Ebola au Gabon est avérée d'après les critères biologiques (détection d'IgM et de virus par RT-PCR chez les patients). On dénombra 37 cas dont 21 décès (taux de mortalité de 57%). La durée d'incubation pouvait aller de 3 jours à 3 semaines et les patients présentaient entre autres de la fièvre, une asthénie, des douleurs abdominales avec diarrhées et des épisodes hémorragiques. Le tableau clinique en phase terminale associait hypotension, tachycardie, tachypnée et anurie (5)(8).

En octobre de cette même année, une seconde épidémie à virus Ebola sévit au Gabon, à Boué, une zone forestière, et toucha un chasseur (5). La transmission a fait 61 malades dont 45 morts (4).

Les récentes épidémies recensées en Afrique centrale au début du XXème siècle ont permis d'en apprendre plus sur la physiopathologie de la maladie Ebola et sur sa prise en charge.

En 2000 et 2001, l'Ouganda, qui avait été épargné jusque-là, fut touché par une violente épidémie au nord du pays, dans le district de Gulu. La maladie s'est ensuite répandue à travers d'autres districts tels que Mbarara. Cette épidémie, due à SUDV, causa 224 mort parmi 425 cas, soit une mortalité de 53% (4).

#### **1.4. 2000 - 2009 : Une nouvelle souche est découverte**

Des épidémies surviennent dans plusieurs pays d'Afrique centrale. On a recensé 5 épidémies liées au sous-type Zaïre (EBOV) au Gabon, en République du Congo (RC) et en République Démocratique du Congo (RDC).

La première épidémie qui s'étendait du Gabon à la République du Congo a fait 128 morts (taux de mortalité de 79%). En réalité il s'agissait d'une série d'épidémies indépendantes ayant pour origine différents animaux tels que des carcasses infectées de gorilles, de chimpanzés ou d'antilopes.

Ensuite, la RDC fut touchée par 3 vagues d'épidémies à EBOV entre 2003 et 2005 faisant 165 morts (sur 189 cas diagnostiqués).

Durant cette même période, le sous-type Soudan du virus Ebola toucha l'Ouganda en 2000, au cours d'une importante épidémie qui fit 173 morts sur les 425 cas, ainsi que

le Soudan en 2004, faisant 7 décès sur les 17 cas, à Yambio, près de Nzara.

En 2007, l'Ouganda est à nouveau touché par une épidémie qui fit 30 morts parmi les 116 cas. On isole alors une nouvelle espèce du virus Ebola : le sous-type Bundibugyo (BDBV).

En 2009 le sous-type Reston (RESTV) refait surface aux Philippines lors d'une épidémie de syndrome respiratoire ayant touché des porcs domestiques.

De 2009 à aujourd'hui, en 2018, 7 épidémies ont été recensées, en République Démocratique du Congo, en Ouganda, ainsi que celle de 2014-2015 en Guinée, Libéria et Sierra Leone, qui a fait plus de 11 300 morts, et qu'on détaillera plus loin. En parallèle, des cas sporadiques au Nigéria, Mali et Sénégal ont été rapportés et rapidement contrôlés. En 2017, une nouvelle épidémie à Ebola a frappé la République Démocratique du Congo, mais a très vite été neutralisée, faisant 4 morts et 4 survivants entre mai et juin 2107. 583 personnes contacts ont été étroitement surveillées et n'ont pas contracté la maladie. C'est la 8<sup>ème</sup> fois que le pays est touché par la maladie, aujourd'hui bien équipé pour faire face efficacement à la maladie (2).

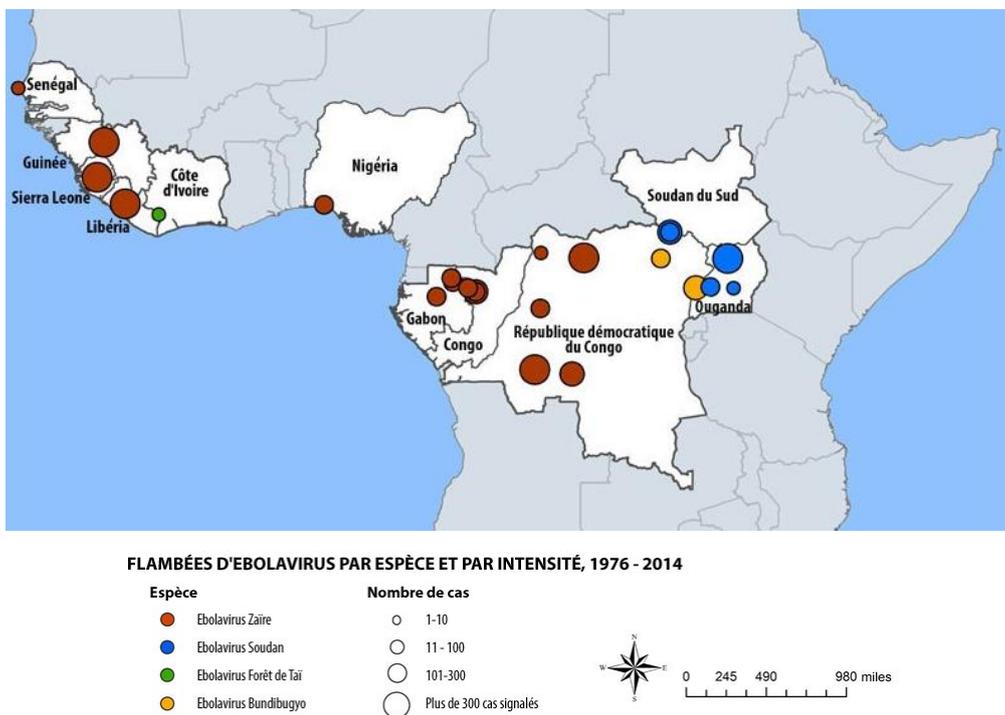


Figure 1 : carte représentant les épidémies à virus Ebola depuis 1976 jusqu'en 2014 (9)

Tableau 1: chronologie des épidémies humaines à virus Ebola épidémies à Ebola en Afrique (10).

Virus EBOLA	Date	Pays	Cas	Mortalité
Zaïre	1976	RDC	318	88%
	1977	RDC	1	100%
	1994	Gabon	49	65%
	1995	RDC	315	88%
	1996-1997	Gabon	37	57%
	2001-2002	Gabon et RC	60	75%
	2003 début	République du Congo	143	90%
	2003 fin	République du Congo	35	83%
	2005	République du Congo	11	75%
	2007	RDC	264	71%
	2008	RDC	32	47%
	2014-2016	Libéria, Guinée, Sierra Leone	28 616	40% (11 310 DC)
	2014	RDC	66	74%
	2017	RDC	8	50%
Soudan	1976	Soudan	286	53%
	1979	Soudan	34	65%
	2000	Ouganda	425	53%
	2004	Soudan	17	41%
	2012	Ouganda	11	36,4%
	Fin 2012- début 2013	Ouganda	6	50%
Tai forest	1994	Côte d'Ivoire	1	0%
Bundibugyo	2007	Ouganda	102	42%
	2012	RDC	36	36,1%

## 2. LE VIRUS EBOLA

### 2.1. Classification

Les virus Ebola et Marburg sont les deux représentants de la famille des *Filoviridae*. Le terme de *Filoviridae* est issu du latin *filum* qui signifie fil, en rapport avec la forme des virus. La famille de *Filoviridae* appartient à l'ordre des *Mononegavirales* (ordre qui comprend les *Rhabdoviridae*, les *Paramyxoviridae* et les *Bornaviridae*) et regroupe un ensemble de virus très variés (Figure 2 et Figure 3).

Le virus Ebola comprends 5 sous-types : Zaïre, Soudan, Bundibugyo, Taï forest et Reston (Tableau 2). Le sous-type Zaïre a été responsable de la majorité des épidémies (13 épidémies contre 7 et 2, respectivement pour les sous-types Soudan et Taï Forest).

Ebola et Marburg se distinguent par la taille de leur génome et leur composition protéique, notamment la glycoprotéine GP qui présente 72% de différences nucléotidiques, raison pour laquelle il n'y a pas de réaction antigénique croisée entre ces deux virus (11). Récemment un nouveau genre a été identifié et classé parmi les Filovirus : *Cuevavirus*, qui comprend le virus Lloviu (nom provisoire faisant référence à la grotte où il a été isolé), découvert en 2002 au nord de l'Espagne. Ce nouveau filovirus européen a été responsable en Espagne, au Portugal et dans le sud de la France d'épidémies mortelles chez des chauves-souris logeant dans des grottes.

D'un point de vue géographique, le virus Ebola est caractéristique des régions humides et tropicales, donc de l'Afrique de l'Ouest, le virus Marburg des zones arides, donc de l'Afrique du Sud et de l'Est et le virus Lloviu, de l'Europe (12). En revanche, le sous-type Reston est caractéristique de l'Asie. Il touche principalement les porcs et les singes, notamment aux Philippines et en Chine, où des cas ont été reportés mais n'est pas pathogène pour l'homme.

Tableau 2 : sous-types du virus Ebola, nombre d'épidémies et létalité (11,13)

Sous-types	Acronyme	Nombre d'épidémies chez l'Homme (localisation)	% létalité (nombre de cas)
Zaire	EBOV	13 (Congo (RDC et RC), Gabon, Guinée, Sierra Léone, Liberia).	40% à 90 % (29 637)
Soudan	SUDV	7 (Soudan, Ouganda)	40% à 60% (792)
Bundibugyo	BDBV	2 (RDC, Ouganda)	32% (206)
Tai Forest	TAFV	1 cas humain a été recensé en Côte d'Ivoire et a survécu.	0% (1)
Reston	RESTV	Quelques cas humains ont été recensés en Chine et Philippines sans faire de morts. Le virus infecte principalement les singes et les porcs.	0% (11)

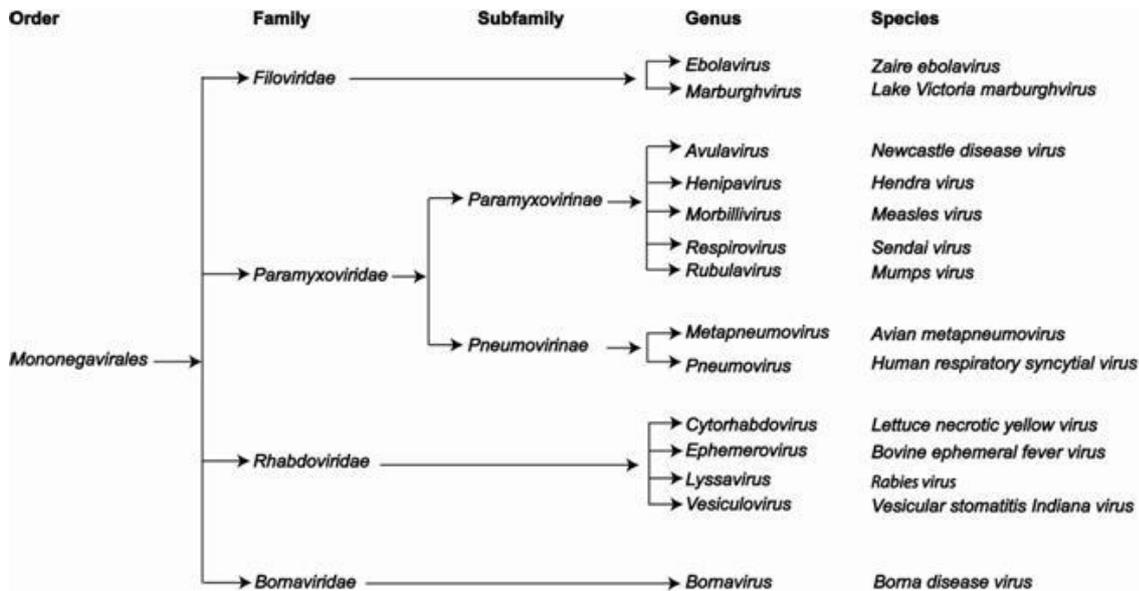


Figure 2 : phylogénie de l'ordre des *Mononegvirales*.

Genus name	Species name	Virus name	Abbreviation	Discovered
"Cuevavirus" (Proposed)	"Lloviu cuevavirus" (Proposed)	Lloviu virus	LLOV	Spain, 2002
<i>Ebolavirus</i>	<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	Bundibugyo virus	BDBV	Uganda, 2007
	<i>Reston ebolavirus</i>	Reston Virus	RESTV	Virginia, USA, 1989
	<i>Sudan ebolavirus</i>	Sudan virus	SUDV	Sudan, 1976
	<i>Tai Forest ebolavirus</i>	Tai Forest virus	TAFV	Ivory Coast, 1995
	<i>Zaire ebolavirus</i>	Ebola virus	EBOV	Zaire (Congo), 1976
<i>Marburgvirus</i>	<i>Marburg marburgvirus</i>	Marburg virus	MARV	Marburg, Germany 1967
		Ravn virus	RAVV	Denmark, 1996

Figure 3 : phylogénie des *Filoviridae*.

## 2.2. Morphologie

Au microscope électronique, on observe les virus sous la forme de longs filaments en forme de 6 ou de U, parfois branchés (Figure 4) (3,14). Leur taille peut atteindre 1 à 1,5  $\mu\text{m}$  et leur diamètre fait 80nm, ce qui en fait un virus plus grand que la moyenne, dont la taille est souvent inférieure à 400 nm. La nucléocapside est tubulaire à symétrie hélicoïdale contenant une molécule d'ARN (3,11). Elle est entourée d'une enveloppe à bicouche lipidique, dérivée de la membrane de la cellule infectée, dans laquelle sont enchâssés les glycoprotéines GP (11).

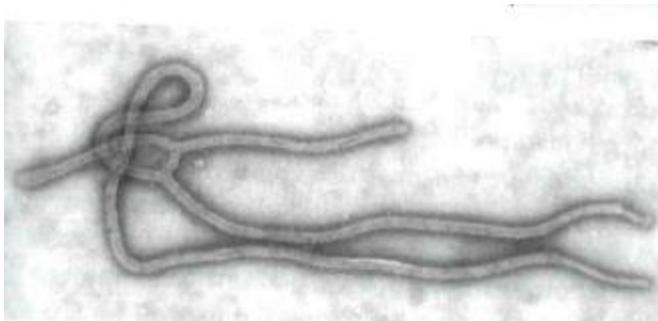


Figure 4 : virus Ebola Zaïre en microscopie électronique (2)

## 2.3. Génome

Les filovirus disposent d'un grand génome composé d'un ARN monocaténaire de 19kb à polarité négative (sens -). Ce sont les plus gros virus de l'ordre des Mononegavirales (11,15).

Les extrémités non codantes 3' et 5' sont conservées et complémentaires permettant d'observer des structures dites en tige-boucle (3). Le génome du virus Ebola code sept ARN messagers codant ainsi sept protéines dans l'ordre suivant 3'- Nucléoprotéine (NP) - VP35 - VP40 – GP – VP30 – VP24 – polymérase L – 5'. La structure du virus est schématisée dans la Figure 5 et le génome est représenté dans la Figure 6.

- 4 protéines sont associées à l'ARN génomique pour former le complexe ribonucléoprotéique ou RNP, partie centrale du virion : la nucléoprotéine NP,

VP30, VP35 et l'ARN polymérase L. Ce complexe est impliqué dans la réplication du virus. Les protéines virales VP35 et VP24 jouent un rôle important dans la pathogénicité du virus. En effet, leur capacité à inhiber spécifiquement la synthèse des interférons de type 1 (IFN1) neutralise les réponses antivirales des cellules infectées (2).

- Les 3 autres protéines sont associées à la membrane : la glycoprotéine GP, la VP24 et la VP40. Ces deux dernières protéines virales sont liées à la fois au complexe ribonucléoprotéique et à l'enveloppe des virions. Elles ont donc un rôle dans la formation du RNP mais participent également à l'assemblage et au bourgeonnement des virions à la surface des cellules infectées. Elles jouent également un rôle dans la sélection des cellules cibles (2). La protéine VP40 est la plus abondante. Située sous l'enveloppe virale, elle joue un rôle primordial dans le maintien de l'intégrité structurelle et la maturation du virion (16).

#### Particularité de la glycoprotéine GP

La GP est un dimère. Elle est d'abord synthétisée sous forme d'un précurseur transmembranaire GP0 qui va être clivé dans l'appareil de Golgi par une protéase en deux sous-unités : la GP1, soluble et extra cellulaire et la GP2, transmembranaire, toutes deux reliées par un pont disulfure. La GP1 est responsable de l'attachement du virus à la cellule et a une affinité préférentielle pour les cellules du système immunitaire et celles de la lignée monocyttaire. Plusieurs études ont montré que la GP était responsable de l'effet cytopathogène dans les cellules infectées. Une autre protéine, la sGP, est synthétisée à partir du gène codant la GP, via un mécanisme d'édition du gène qui décale le cadre de lecture, générant un ARNm codant la sGP. Cette protéine est soluble et permettrait de réguler la sécrétion de la GP, limitant son pouvoir cytotoxique dans les cellules, mais également en servant de leurre aux anticorps (11,17).

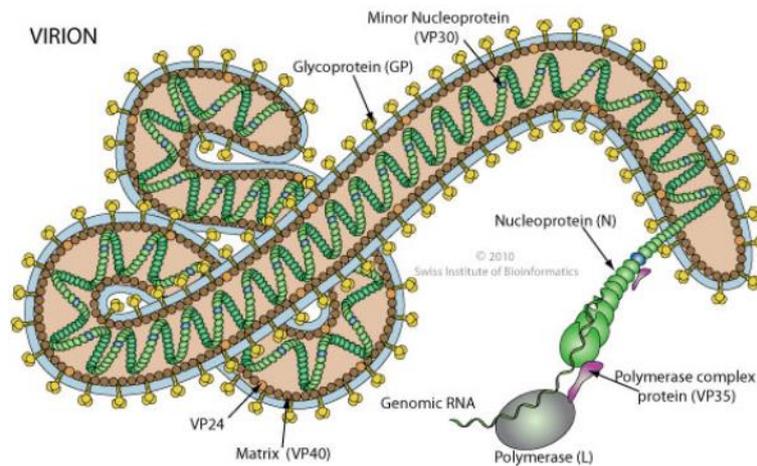


Figure 5 : représentation schématique de la structure du virus avec la disposition des protéines virales associées au complexe ribonucléoprotéique et à l'enveloppe (18).

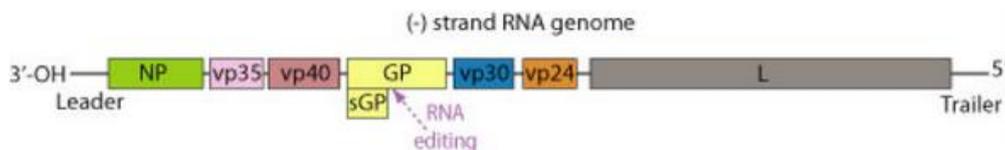


Figure 6 : schéma du génome du virus Ebola. Le génome montre une zone au niveau du gène codant la GP permettant de générer un ARNm codant une autre protéine, la sGP via un mécanisme d'édition qui décale le cadre de lecture lors de la transcription. (19)

## 2.4. Cycle de vie du virus dans les cellules hôtes

### ➤ Entrée du virus dans la cellule hôte

Le virus entre dans la cellule hôte majoritairement via un mécanisme de macropinocytose. Cependant les étapes précises de la fixation du virus à la cellule hôte ne sont que partiellement connues à ce jour.

Concernant le mécanisme d'attachement du virus à la cellule hôte, deux particules virales de l'enveloppe du virus sont impliquées : la glycoprotéine GP (notamment la GP1) et les phosphatidylsérines. Elles vont toutes deux se lier aux TAM, protéines kinases situées sur la face externe de la membrane plasmique de nombreuses cellules hôtes. Ce mécanisme va permettre d'amarrer le virus à la cellule. L'entrée du virus fait intervenir différents mécanismes d'endocytose. Le mécanisme majoritaire est celui de

la macropinocytose où le virus entre dans la cellule en étant inclus dans un endosome. L'endocytose est favorisée par un environnement à pH acide médié par la GP.

Après pénétration dans la cellule, le virus se trouve dans un endosome et va devoir s'en libérer en fusionnant son enveloppe avec la membrane de l'endosome. Cela est possible grâce au clivage de la GP2 par les cathepsines, libérant ainsi un domaine sur la protéine GP2 capable de fixer la NPC1. Cette dernière est située dans les endosomes, et joue un rôle important de restructuration des membranes plasmiques, par le transport du cholestérol. L'ensemble de ces mécanismes va permettre de faciliter la libération des particules virales dans le cytoplasme (16,17). La Figure 7 ci-dessous illustre parfaitement ce mécanisme.

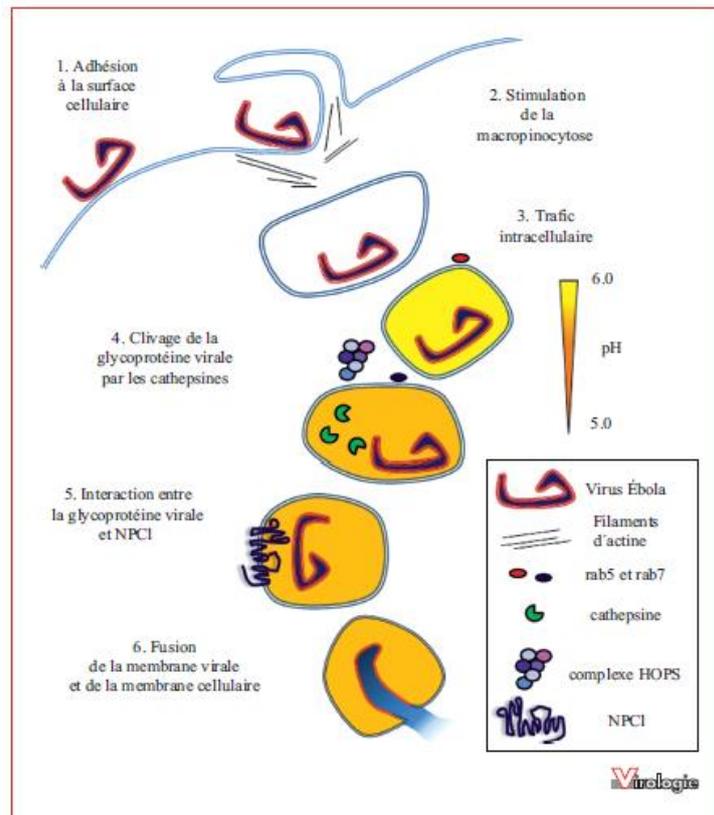


Figure 7 : mécanisme d'entrée du virus dans la cellule hôte par macropinocytose. 1) 2) 3) Le virus se lie à la membrane plasmique grâce à des facteurs d'attachement et active le mécanisme de macropinocytose puis est transporté au cœur de la cellule via des complexes protéiques (Rab5, Rab7, HOPS). 4) 5) 6) La GP est clivée par les cathepsines et va interagir avec la protéine NPC1 afin de fusionner les membranes virales et cellulaires et libérer les particules virales dans le cytoplasme (17).

➤ Transcription et réplication

Lorsque le virus a libéré son matériel génétique et ses protéines dans le cytoplasme de la cellule hôte, la transcription et la réplication virale vont débiter. L'ARN viral génomique, de polarité négative, va être libéré du complexe ribonucléoprotéique (RNP) grâce à la protéine virale VP35. Cet ARN génomique viral (brin de sens négatif) va donc pouvoir être transcrit directement en ARNm qui seront traduits en protéines virales par la machinerie cellulaire. L'ARN génomique va également permettre de synthétiser un brin d'ARN complémentaire (sens +) qui servira de matrice pour répliquer l'ARN génomique. L'ensemble de ces composants, ARN génomique et protéines virales, va pouvoir ensuite être assemblé afin de produire de nouveaux virions qui iront infecter les cellules voisines (16).

➤ Assemblage et bourgeonnement des virions

L'assemblage des virions débute par la formation de nucléocapsides qui vont être transportées vers les zones de bourgeonnement, en périphérie de la membrane plasmique où les protéines virales GP, VP24, NP et VP40 auront un rôle à jouer pour conférer au virus sa forme finale le faire bourgeonner hors de la cellule. Les mécanismes sont encore mal connus. On sait par exemple que la fixation de la VP40 aux phosphatidylsérines situées sur la face interne de la membrane plasmique joue un rôle majeur dans le processus de bourgeonnement. En même temps, la protéine GP2 va bloquer l'action de la téthérine, une protéine de surface cellulaire activée par les interférons alpha pour empêcher le bourgeonnement du virus à la surface de la cellule. L'ensemble de ces mécanismes va permettre aux virions de bourgeonner et d'être libérés en dehors de la cellule. L'enveloppe du virus est ainsi constituée d'une partie de la membrane plasmique de la cellule hôte.

Il a également été observé que les virus pouvaient bourgeonner à partir des endosomes tardifs et corps multivésiculaires à l'intérieur des cellules. Cela permet au virus d'utiliser une seconde voie d'infection des cellules voisines via les exosomes. Cette voie, bien que limitée, permet de répandre l'infection rapidement (16).

Le cycle de vie du virus Ebola est illustré par la Figure 8.

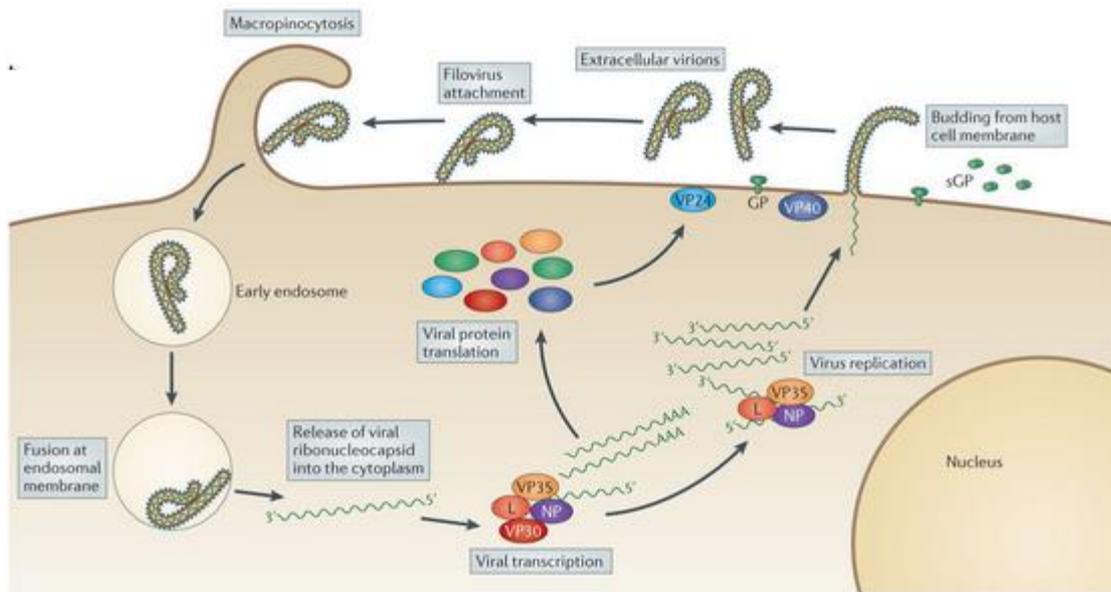


Figure 8 : cycle de vie du virus Ebola (20)

### 3. ECO-EPIDEMIOLOGIE ET MODES DE TRANSMISSION DU VIRUS

Pendant longtemps, il a été compliqué de déterminer la provenance du virus au cours des épidémies. Des études récentes ont permis de déterminer les espèces animales réservoirs du virus et celles qui étaient des hôtes ainsi que de cartographier la répartition de ces animaux sur le continent africain. Dans cette partie, nous essayerons de comprendre la transmission du virus Ebola de l'homme à l'animal ainsi que les réservoirs du virus.

#### 3.1. Les hôtes réservoirs et hôtes finaux

Trois chauves-souris frugivores de la famille des *Pteropodidae* ont été identifiées comme étant le réservoir du virus Ebola en Afrique : *Epomops franqueti*, *Hypsignathus monstrosus* et *Myonycteris torquata* (Figure 9). C'est-à-dire qu'elles abritent en permanence le virus dans leur organisme, sans développer une infection mortelle. Ces espèces sont donc responsables de la persistance du virus Ebola dans l'écosystème entre les épidémies, principalement de la souche Zaïre. Leur territoire s'étend de l'Afrique centrale à l'Afrique de l'ouest, où se situe précisément la forêt tropicale (Figure 10). Cette vaste zone coïncide également avec les pays d'Afrique qui ont connu des épidémies à répétition comme la République Démocratique du Congo (13).

L'Homme, les grands singes, les chimpanzés, d'autres chauves-souris ainsi que des animaux de la brousse, tels que les antilopes, constituent des hôtes sans issue pour le virus. En effet, l'infection engendre la mort de l'hôte en déclenchant une fièvre hémorragique ou bien est éliminée de l'organisme après guérison. Les animaux sauvages sont contaminés en se nourrissant de fruits ayant été en partie consommés par les chauves-souris réservoirs. La maladie Ebola chez l'Homme est qualifiée de zoonose. Elle se transmet par contact avec les animaux sauvages, notamment en consommant de la viande de brousse ou des fruits qui ont été contaminés par les chauves-souris (13). Le cycle écologique du virus Ebola est illustré dans la Figure 11 et peut se diviser en deux cycles :

- Le cycle enzootique, correspondant à la transmission du virus au sein des chauves-souris réservoirs.

- Le cycle epizootique, correspondant à la transmission du virus depuis les chauves-souris réservoirs aux primates, chimpanzés, antilopes, autres chauves-souris et à l'homme.

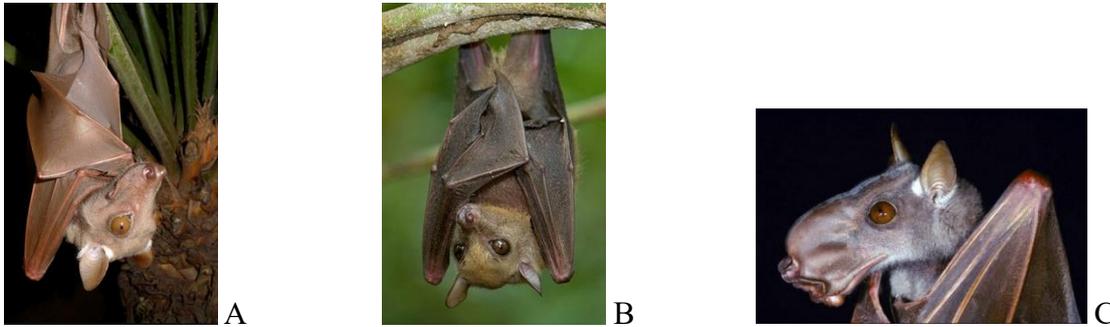


Figure 9 : photos des 3 chauves-souris réservoirs du virus Ebola : (A) *Epomops franqueti*, (B) *Myonycteris torquata*, (C) *Hypsignatus monstruosus*

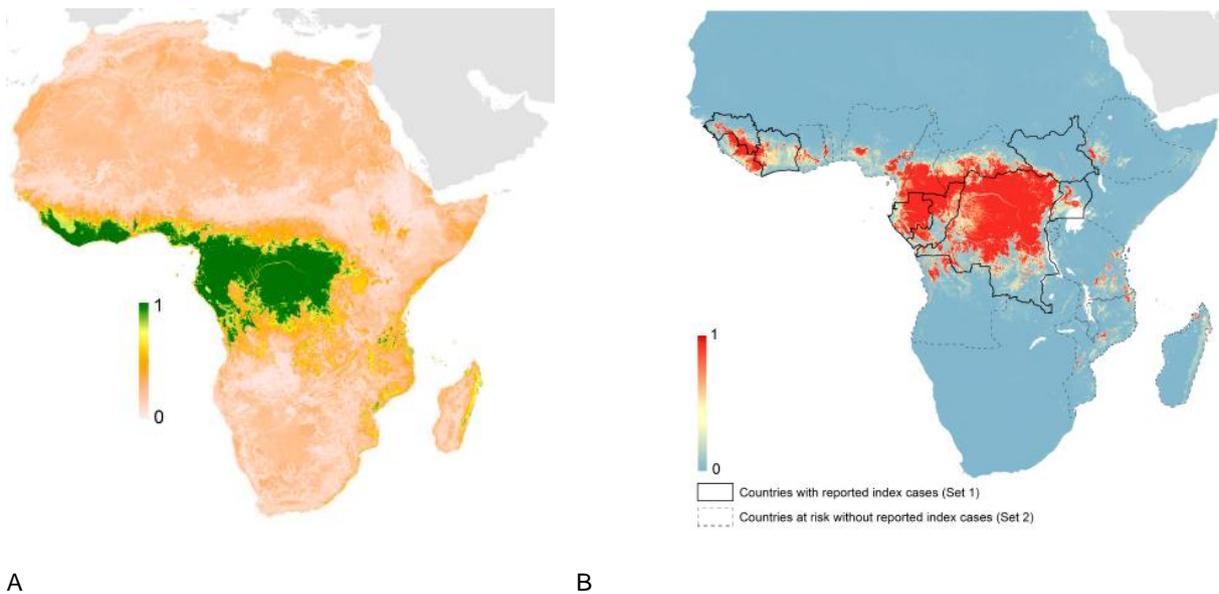


Figure 10 : (A) Carte de répartition des 3 types de chauves-souris réservoirs du virus Ebola. Les zones en vert représentent la probabilité de retrouver une forte densité de ces animaux. Ce territoire correspond à la forêt tropicale (B) Carte représentant les zones où la population est à fort risque d'être touché par le virus. Les zones en rouge indiquent une très forte probabilité d'être touché par la maladie. Les pays tracés en trait plein sont ceux qui ont déjà dû faire face à une épidémie. Les pays en pointillés sont à risque mais n'ont jamais reporté de cas d'Ebola jusqu'à aujourd'hui (13).

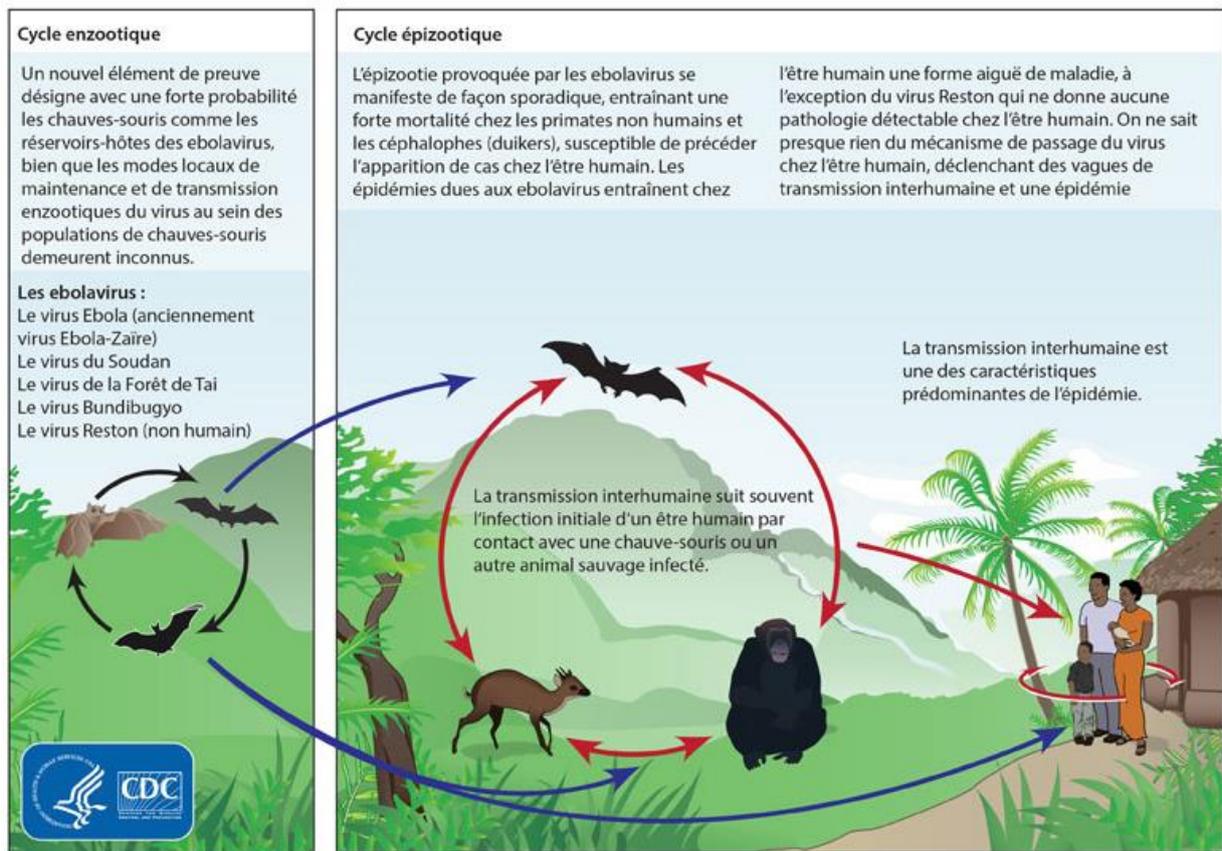


Figure 11 : cycle écologique du virus Ebola (21)

### 3.2. Modes de transmission interhumaine

La contamination interhumaine est due aux contacts étroits et directs des malades avec des individus sains. La transmission se fait lors du contact d'une peau lésée ou des muqueuses (buccales, conjonctivales) avec les fluides corporels infectés, tels que le sang, les selles et les vomissements, qui sont les plus infectieux. Ils sont particulièrement accrus lors de la prise en charge médicale des malades sans précautions d'isolement ni de matériel stérile. Le virus peut également se transmettre lors des soins dispensés par les guérisseurs ou encore lors des inhumations, durant lesquelles les rites funéraires ancestraux impliquent la manipulation du corps du défunt par de nombreuses personnes pendant plusieurs jours. Le taux de mortalité d'une maladie à virus Ebola est supérieur à 50% et peut atteindre 90%. Dans les formes hémorragiques qu'on décrira plus loin, la mort survient chez 80% des malades. Le virus a également été retrouvé dans le lait maternel, les urines et le sperme dans lequel il peut persister plus de 90 jours. La maladie peut également être contractée de façon

indirecte par contact de surfaces contaminées mais avec un risque plus faible. Contrairement à des idées reçues, la transmission par voie aérienne (toux, éternuement) est extrêmement rare voire inexistante, contrairement à la rougeole ou la varicelle par exemple. Ainsi, comme le montre la Figure 12, le virus Ebola est bien moins contagieux que la rubéole ou la rougeole. La maladie à virus Ebola est une maladie grave en raison du taux de mortalité élevé après contamination quel que soit l'âge et le sexe de l'individu. De plus, une absence de traitements efficaces et des mesures d'hygiène de premier ordre, associés à des systèmes de santé précaires, favorisent les flambées épidémiques. Les premiers signes cliniques étant très proches de maladies courantes dans ces pays d'Afrique, telles que le paludisme et la fièvre de Lassa, ont pour conséquences de retarder souvent la prise en charge et la mobilisation des autorités de santé (22).

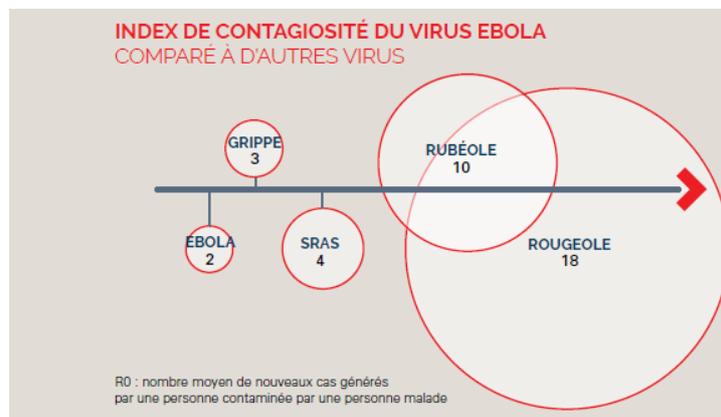


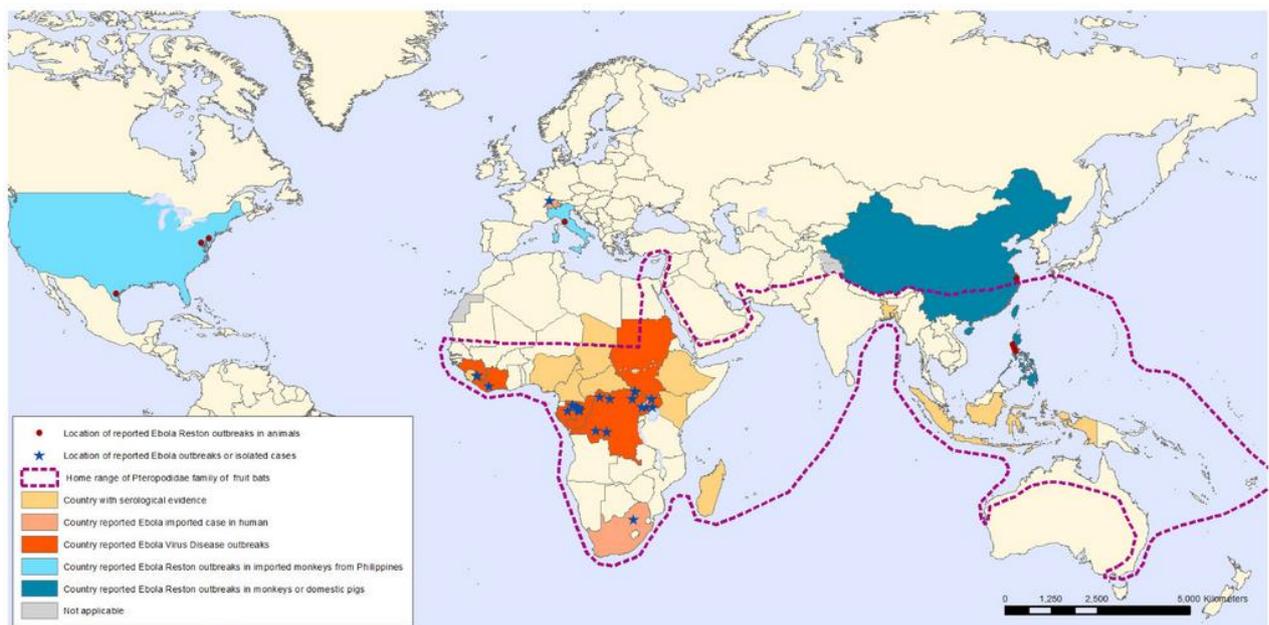
Figure 12 : index de contagiosité du virus Ebola. Comparaison avec d'autre virus connus (23)

### 3.3. Evolutions et populations à risque

Depuis les années 2000, de nombreuses épidémies ont été signalées. Cela est dû à l'augmentation de la démographie ainsi qu'aux mutations de la société dans les pays d'Afrique : les personnes voyagent plus et les forêts exploitées rapprochent les hommes des animaux sauvages avec des risques accrus de contamination. Aujourd'hui on estime près de 22,2 millions de personnes vivants dans une zone à forte probabilité de transmission d'Ebola de l'animal à l'Homme, dont 21,7 millions (97%) vivant en zone rurale. Parmi eux, environ 15 millions sont situés dans des pays ayant déjà subi une épidémie et 7 millions dans des pays à risques mais n'ayant

encore jamais été touchés par la maladie. Au final, le virus peut être transmis de l'animal à l'homme dans près de 22 pays d'Afrique (Figure 10) (13).

La carte ci-dessous (Figure 13) illustre la répartition des fièvres hémorragiques à virus Ebola dans le monde. Comme on l'a décrit précédemment, ce virus est spécifique de l'Afrique centrale et de l'Ouest, notamment pour les sous-type Zaïre, Soudan, Taï Forest et Bundibugyo. En revanche, le sous-type Reston, non pathogène pour l'homme, est spécifique de l'Asie, où des cas ont été retrouvés chez des singes et des porcs d'élevage en Chine et aux Philippines. Les Etats-Unis ont d'ailleurs été les premiers à découvrir cette souche, à l'occasion d'importation de singes en provenance des Philippines. En effet, le territoire des chauves-souris frugivores ne se limitent pas à l'Afrique mais comporte également l'Asie et l'Océanie, où circule le sous-type Reston. Les pays en orange clair sont ceux où il existe une prévalence sérologique au virus Ebola sans qu'il y ait eu une épidémie. Cela peut s'expliquer par les mouvements de population mais également des formes asymptomatiques ou bénignes de la maladie.



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data Source: World Health Organization  
Map Production: Health Statistics and Information Systems (HSI)  
World Health Organization



© WHO 2014. All rights reserved.

**Figure 13 : distribution des foyers de fièvres hémorragiques à virus Ebola dans le monde chez l'homme et l'animal, ainsi que l'aire de répartition des chauves-souris frugivores de la famille des *Pteropodidae*. (24)**



## 4. LA MALADIE : PHYSIOPATHOLOGIE ET ECHAPPEMENT DE LA REPOSE IMMUNITAIRE

### 4.1. Clinique

Les virus Ebola et Marburg sont des virus dits pantropiques, c'est-à-dire qu'ils infectent de nombreux organes et tissus de l'organisme. Ils provoquent une maladie à évolution rapide qui associe une forte fièvre et un syndrome hémorragique généralisé survenant au stade terminal, avec un taux de mortalité pouvant s'élever jusqu'à près de 90% (2,15).

La période d'incubation peut varier de 2 à 21 jours (8 jours en moyenne) durant laquelle le patient est asymptomatique et non contagieux. La maladie se déclare progressivement en 3 phases (Figure 14). Dès le début des symptômes, le malade est contagieux.

- **La première phase dure environ 5 jours.** Elle est caractérisée par une altération de l'état général avec des signes cliniques aspécifiques : fièvre (dans 90% des cas), asthénie, céphalées, arthromyalgies. À ce stade, il est impossible de distinguer cliniquement une maladie à virus Ebola d'une autre maladie tropicale tel qu'un accès palustre, la fièvre typhoïde ou la Dengue.
- **La seconde phase dure environ 2-3 jours et marque un tournant dans la maladie.** Le patient souffre de troubles digestifs (environ 1 patient sur 2 chez les malades étudiés) tels que nausées, vomissements, douleurs abdominales et anorexie, responsables de déshydratations. Des éruptions cutanées peuvent également se manifester comme des érythèmes et des conjonctivites.
- **La troisième phase peut être une phase de rémission avec guérison du malade, ou d'aggravation des symptômes entraînant la mort.** Les patients entrant en phase de rémission (forme résolutive de la maladie) passent le cap des 8 premiers jours sans développer des signes de gravité, puis les symptômes vont régresser entre le 10<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour. En revanche, les malades qui développent la forme grave vont présenter des déshydratations sévères par des vomissements et diarrhées profuses. Des défaillances multiviscérales vont affaiblir encore plus le

patient et sont marquées par divers signes cliniques : insuffisance rénale aiguë, rhabdomyolyse, atteintes hépatiques, encéphalopathie, collapsus cardiovasculaire et coagulopathie responsables d'hémorragies. Les hémorragies peuvent être mineures (gingivorragies, saignements au point de ponction) ou majeures (méléna, hémoptysies, ménorragies, rectorragies) et peuvent se généraliser et devenir incontrôlables. Dans les CTE (Centres de traitement d'Ebola), ces syndromes hémorragiques ont été observés lors de l'épidémie de 2014-2015 au cours d'une étude chez 26% des patients en Guinée contre 5% des malades de Sierra Léone. Durant ces trois phases, la contagiosité augmente avec la gravité. C'est la raison pour laquelle les rituels funéraires de ces malades présentent des risques élevés de contamination car les dépouilles sont extrêmement infectieuses. La mort survient dans un état de choc après généralisation des symptômes. Les décès observés en Guinée concernaient 44% des patients du CTE et survenaient en moyenne dans les 3,5 jours suivant leur entrée contre 53% en Sierra Léone, où la moyenne de survie était d'environ 10 jours après leur entrée dans le site (11).

D'autres manifestations cliniques de la maladie durant la phase aiguë ont été rapportées et permettent d'enrichir notre connaissance de la maladie et de la dépister plus rapidement. Ainsi, des manifestations neurologiques (confusion, prostration, obnubilation), ophtalmiques (conjonctivite avec larmoiement non purulent très fréquent chez les malades) et rhumatologiques (40% des patients se plaignent d'arthralgies, myalgie et rachialgies) se trouvent être évocatrices d'une maladie à virus Ebola. Malheureusement, ces signes sont généralement sous évalués et sous diagnostiqués car masqués dans une multitude de symptômes.

Dans les formes non fatales, la convalescence est longue avec des accès fébriles épisodiques mais les symptômes disparaissent rapidement après élimination du virus dans le sang. Cependant, des troubles dus à la persistance du virus dans des zones immunologiquement protégées peuvent se manifester chez les patients. C'est ce qu'on nomme le syndrome post-Ebola. Le virus persiste dans l'humeur aqueuse, et est responsable d'uvéites (inflammation des structures internes de l'œil). Il a également été retrouvé dans le sperme des convalescents jusqu'à 9 mois après le début de la maladie, à de très faibles concentrations et très probablement non

infectieux. Enfin, le virus a été identifié dans le liquide cébrospinal d'une infirmière anglaise, plusieurs mois après sa guérison et donnant lieu à une méningite. Malheureusement, les scientifiques sous estiment ce syndrome en raison du manque de données sur le sujet. Par exemple, lors de l'épidémie au Soudan dans les années 2000, 60 patients, sur 257 survivants de la maladie, ont développé un syndrome post-Ebola avec des complications tels que des douleurs abdominales, une perte de la vue et de l'audition, des troubles psychologiques et une faiblesse générale. L'épidémie de 2014-2015 a permis de mieux analyser ces symptômes chez les convalescents (11,14).

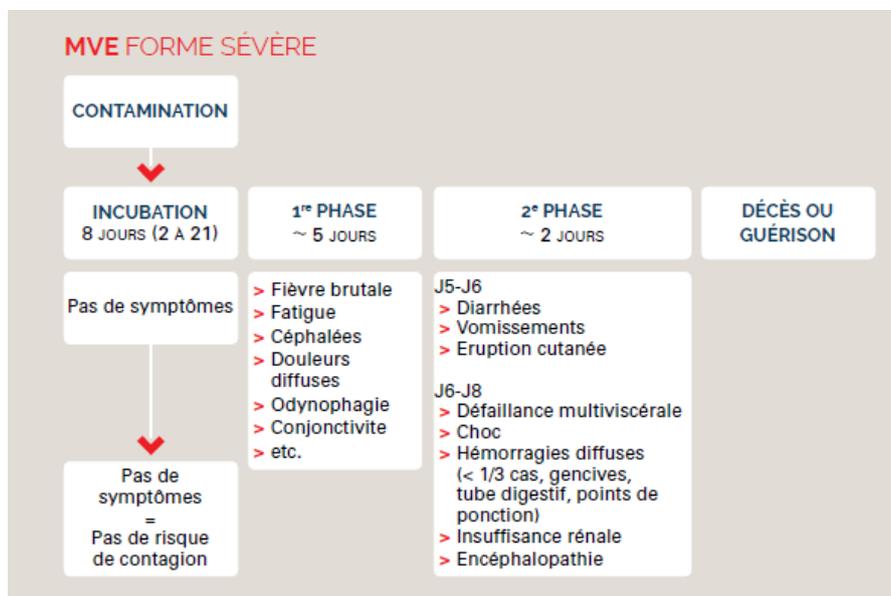


Figure 14 : Les phases de la maladie à virus Ebola (MVE) (23)

## 4.2. Physiopathologie

Les filovirus ont pour cible les cellules du système immunitaire, les cellules dendritiques et les macrophages, présents dans la peau et les muqueuses. Ces cellules infectées vont passer dans la circulation sanguine et lymphatique pour toucher d'autres cellules. Ensuite, le virus se multiplie dans les organes lymphoïdes secondaires (rates, ganglions lymphatiques) et le foie. En phase terminale il infecte d'autres cellules comme les cellules endothéliales et épithéliales, les fibroblastes et

d'autres organes comme les glandes surrénales et le foie (2,14). Le mécanisme est détaillé dans la Figure 15.

La forme fatale de la maladie est due à un dysfonctionnement de l'immunité innée et adaptative. Tout d'abord, les monocytes et macrophages infectés vont induire un relargage excessif et important de chimiokines et cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-10, IL-8, TNF $\alpha$ ,...). Cet environnement inflammatoire s'emballe lors de la phase terminale et va avoir des conséquences destructrices sur l'organisme. En effet, la production accrue de TNF $\alpha$ , IL-6 et IL-8 pourrait être à l'origine de la perméabilité vasculaire entraînant des fuites de sang hors des vaisseaux, une détérioration des cellules endothéliales et la diminution du tonus vasculaire, responsables d'hémorragies et de chocs hypovolémiques. Les macrophages infectés par le virus vont induire des coagulations intravasculaires disséminées par l'augmentation du facteur tissulaire FT. Par ailleurs, les cellules dendritiques infectées sont responsables de l'effondrement de l'immunité adaptative en entraînant un défaut de maturation et d'activation des lymphocytes B et T. Cela a pour conséquence un manque de production d'IgG spécifiques nécessaires pour assurer les mécanismes de la réponse immunitaire. Enfin, la dissémination du virus à travers l'organisme crée des lésions organiques, notamment des nécroses hépatocellulaires. (2).

Dans le cas d'une infection non fatale, aucune cellule du système immunitaire n'entre en apoptose. Les cellules organisent une réponse inflammatoire précoce et modérée impliquant la réponse adaptative des IgG et des cellules cytotoxiques spécifiques. Le virus est contrôlé et éliminé de l'organisme. (2)

Les protéines virales sont également impliquées dans la pathogénèse. La GP est toxique pour les cellules endothéliales en induisant un détachement de ces dernières, augmentant la perméabilité vasculaire. Ce phénomène est amplifié par l'action des cytokines pro-inflammatoires. D'autres protéines virales sont impliquées dans l'inactivation de la voie des interférons et seront détaillées dans la partie suivante.

Au niveau biologique, la maladie à virus Ebola associe généralement une lymphopénie, présente aux premiers jours de l'infection, à une thrombopénie. Elle est ensuite suivie d'une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles. Des anémies ont été retrouvées dans les formes hémorragiques mais n'est pas systématique. Les troubles de l'hémostase varient selon les malades et peuvent comprendre des

coagulations intravasculaires disséminées (CIVD) dans les formes sévères. Une atteinte hépatique avec augmentation des transaminases ainsi qu'une hypoalbuminémie sont courantes dans la maladie. Une rhabdomyolyse est également fréquemment retrouvée chez les patients. Elle est liée à l'augmentation des transaminases, des créatines phosphokinases CPK et de la bilirubine et peut engendrer une insuffisance rénale. Les analyses biologiques révèlent aussi chez ces patients des troubles hydroélectrolytiques avec hypokaliémie, hyponatrémie, hypomagnésémie et hypocalcémie. Une acidose métabolique peut être également être observée au cours de la maladie (25).

L'infection à virus Ebola est donc caractérisée par un effondrement du système immunitaire responsable des nombreuses défaillances multiviscérales.

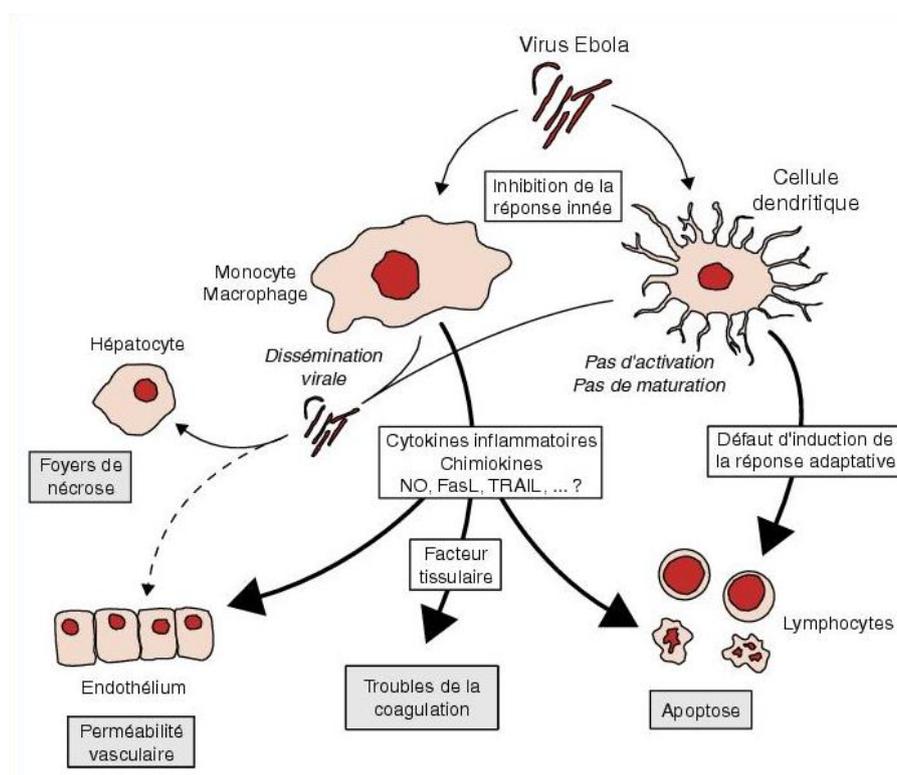


Figure 15 : mécanismes de la pathogénicité du virus Ebola dans l'organisme (26)

### **4.3. Echappement de la réponse immunitaire lors d'une infection à virus Ebola**

La particularité du virus Ebola est sa capacité à dévoyer le système immunitaire de l'hôte. Ces multiples dérèglements de l'immunité innée et adaptative, s'ils deviennent irréversibles, conduisent généralement à la mort du malade. Au cœur de ce système, les protéines virales VP24, VP30 et VP35 sont responsables des inhibitions de la cascade de signalisation de la réponse immunitaire, favorisant l'apoptose cellulaire et la réplication virale. Dans cette partie, nous verrons quels sont les différents mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire afin de comprendre en quoi le virus Ebola est particulièrement virulent (27).

#### **4.3.1. Le camouflage lors de l'entrée du virus dans la cellule hôte et mécanismes de sortie**

En mesurant jusqu'à 1 $\mu$ m de long, le virus Ebola a une taille supérieure à la moyenne des virus. Afin de pénétrer facilement dans les cellules hôtes sans déclencher de réponse immunitaire, il va avoir recours à deux stratégies. La première consiste à dissimuler les glycoprotéines GP de surface dans des "poches" afin d'en limiter l'accès aux anticorps qui reconnaîtraient la présence du virus. La seconde est d'avoir recours à un mécanisme de macropinocytose pour pénétrer dans la cellule hôte. Pour se faire, le virus se trouve recouvert de phosphatidylsérine (PS), des molécules présentes normalement sur la face interne des membranes plasmiques des cellules. Dans l'organisme, seuls les débris cellulaires de cellules entrées en apoptose exposent ces PS aux récepteurs extracellulaires. Ces corps apoptotiques sont ainsi reconnus par les cellules voisines et les cellules phagocytaires qui les internalisent par macropinocytose afin de les "digérer". Le virus Ebola se comporte donc, aux yeux de la cellule hôte, comme un corps apoptotique à phagocyter. En mimant un mécanisme d'apoptose, le virus Ebola assure une pénétration rapide dans la cellule, en évitant de déclencher les cascades de l'inflammation et d'activer les facteurs de l'immunité humorale et cellulaire.

Après réplication, lorsque les virions sont assemblés dans le cytoplasme de la cellule hôte, ils vont bourgeonner à la surface et être libérés pour infecter d'autres cellules.

Lors d'une infection virale, la protéine téthérine est activée par les interférons et a pour rôle d'empêcher le bourgeonnement des virions, limitant la sortie du virus hors de la cellule. Le virus Ebola, via la protéine GP, est capable d'inhiber l'action de la téthérine et donc de bourgeonner plus facilement pour s'attaquer ensuite aux cellules voisines (27).

#### **4.3.2. Interruption de la cascade de signalisation des interférons (IFN)**

De nombreux virus ont recours à divers mécanismes pour contourner la réponse immunitaire innée, première ligne de défense de l'organisme. Dans le cas présent, le virus Ebola inhibe la réponse des IFN I et II dans les cellules cibles : macrophages, monocytes et cellules dendritiques. Cela a pour conséquence un défaut de maturation des cellules dendritiques entraînant la diminution de l'activation et de la prolifération des Lymphocytes T, responsable d'une lymphopénie, caractéristique de la maladie. Les mécanismes anti-interférons impliquent les protéines virales VP35 et VP24.

##### ➤ La protéine virale VP35 :

Etant un cofacteur de la polymérase virale, elle participe à la réplication de l'ARN viral. VP35 a également un rôle dans l'inhibition de l'induction des IFN de type I ( $\alpha$  et  $\beta$ ). Dans le cytoplasme de la cellule hôte, deux types de récepteurs, RIG-I et MDA-5, traquent les ARN cytosoliques étrangers et activent la production d'IFN I et de cytokines pro-inflammatoires qui vont déclencher ensuite la réponse antivirale. Lors d'une infection à virus Ebola, VP35 agit comme un substrat leurre sur ces deux récepteurs, enrayant la voie RIG-I et empêchant le déclenchement de la synthèse des interférons.

De plus, VP35 agit en inhibant la PKR (protéine kinase ARN-dépendant), protéine antivirale sécrétée lors de la cascade d'activation jak-STAT, voie de signalisation antivirale et immunomodulatrice induite par les interférons. La PKR a pour rôle d'inhiber la traduction des ARNm viraux et cellulaires. Ainsi, l'action inhibitrice de VP35 sur la PKR permet à la cellule de continuer son activité, et au virus de se répliquer malgré les signaux induits en amont par les interférons.

##### ➤ La protéine virale VP24 :

VP24 agit en aval de la cascade des interférons. Lorsque l'ARN viral est identifié dans le cytoplasme de la cellule hôte, les IFN I sécrétés vont se fixer sur leurs

récepteurs situés sur les cellules voisines afin d'activer la voie Jak-STAT. La cascade d'activation qui en découle va déclencher les voies d'activité antivirales intrinsèques et les voies de signalisation des interférons. Elle permet donc au complexe de protéines STAT I et II qui la compose d'entrer dans le noyau de la cellule et stimuler la synthèse des protéines antivirales (dont la PKR décrite ci-dessus). La protéine VP24 agit en empêchant l'accumulation de STAT I dans le noyau de la cellule, limitant l'activité des interférons. VP24 agit également en bloquant la présentation des antigènes aux Lymphocytes T.

Ainsi, ces deux protéines VP24 et VP35 jouent un rôle efficace d'antagoniste de la réaction immunitaire innée médiée par les interférons (27).

#### **4.3.3. Mécanismes d'évitement de la réaction immunitaire adaptative**

Lorsque l'organisme est "dépassé" par l'infection, on observe une destruction des cellules de l'immunité, avec une mauvaise réponse des IgG, alors que chez les survivants ces taux sont très élevés.

Le virus utilise des mécanismes pour contourner l'action des anticorps. Le premier mécanisme a déjà été évoqué plus haut et constitue la dissimulation de la GP à la surface du virus afin qu'elle soit inaccessible aux anticorps. Le deuxième mécanisme est encore à l'état d'hypothèse et avance le fait que la sGP, petite protéine produite à partir de l'ARNm viral de la GP, jouerait un rôle dans la modulation et le détournement de la réponse immunitaire de l'hôte. La sGP est synthétisée dans le cytoplasme des cellules infectées est ensuite sécrétée dans le milieu extracellulaire (et non fixé à la surface des virions). Par ailleurs, des études sur des souris ont démontré que la sGP était capable de servir de leurre aux anticorps anti-GP afin de ne pas déclencher de réaction immunitaire et que la GP avait des propriétés immunosuppressives en inhibant la prolifération des lymphocytes T (27).

#### **4.3.4. Perturbation de la voie d'inhibition des ARNm viraux**

Cette voie est activée lors d'une infection virale via le complexe RISC (RNA-induced silencing complex) qui va cliver les ARNm viraux en fragments, ce qui va avoir

pour conséquence la perturbation de la traduction des protéines virales. Dans le cas du virus Ebola, les protéines VP35 et VP30 vont se lier au complexe RISC pour inhiber son action et favoriser la réplication virale.

De plus, le virus Ebola utilise des mécanismes du complexe protéique nucléaire pour stabiliser ses ARNm viraux, prolonger leur demi-vie et favoriser sa réplication (27).

#### **4.3.5. Contre-attaque de l'hôte**

Au cours de l'infection, les cellules "informées de la situation" par les interférons peuvent activer de puissants mécanismes de défense qui vont limiter la propagation du virus. L'entrée du virus peut être bloquée via les IFITM (protéines transmembranaires induites par les IFN). Ces protéines sont particulièrement actives sur les monocytes et causent des fusions incomplètes du virus avec la cellule hôte. La protéine ISG-15, activée par les interférons permet, de son côté, de bloquer le bourgeonnement des virions (c'est le cas aussi de la téthérine, évoquée plus haut).

L'ensemble de ces actions permet de limiter l'entrée et la sortie du virus de la cellule et est primordial pour faire reculer la propagation virale dans l'organisme (27).

#### **4.3.6. Le délicat équilibre de la réponse immunitaire**

La maladie Ebola repose sur un paradoxe : la génération d'une forte réponse immunitaire de l'hôte peut engendrer aussi bien la survie comme le décès des malades selon la capacité de l'organisme à doser la réaction inflammatoire pour éviter l'emballement. Le tableau 3 ci-dessous représente les différences dans la réaction immunitaire développée chez les survivants et ceux qui ont succombés.

**Tableau 3 : comparaison de la réponse immunitaire chez les survivants et les non-survivants (27)**

	SURVIVANTS	NON SURVIVANTS
Lymphocytes T	Taux élevés > aux non survivants	
Réponse cytotoxique à médiation cellulaire	Précoce	Tardive
Cytokines	➤ IL-6 et TNF $\alpha$ (pro-inflammatoires) : taux élevés aux premiers stades de la maladie.	➤ IL-6 : taux modérés au début de l'infection.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ IL-10 (anti-inflammatoires) : taux légèrement élevés et présents durant une courte période, suggérant une régulation par un rétrocontrôle négatif de l'inflammation.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ TNF<math>\alpha</math> : taux élevé et supérieur aux survivants plus tardivement au cours de la maladie.</li> <li>➤ IL - 10 : taux 6 à 10 fois supérieur aux survivants et plus encore au décès.</li> </ul>
Monocytes		Activation 2 à 10 fois supérieure aux survivants
IgG et IgM	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ IgM et IgG : présents dès l'apparition des symptômes en atteignant des taux élevés associés parallèlement à la diminution de l'antigénémie (Figure 16)</li> </ul>	Taux faibles d'IgM. Par ailleurs, les IgG sont peu sécrétées durant toute la maladie.

Ce tableau comparatif des réponses immunitaires chez les survivants et les non survivants met en lumière les inégalités biologiques des populations face à la maladie. Les malades dont l'organisme est capable d'équilibrer les réponses pro et anti-inflammatoires ainsi que de surmonter les défaillances de la réponse immunitaire orchestrées par les protéines virales VP24, VP30 et VP35 seront aptes à sécréter précocement les immunoglobulines ainsi que les cytokines de façon équilibrée avec des conséquences bénéfiques. En revanche, une incapacité à surmonter les mécanismes viraux de blocage de la réaction immunitaire précoce, associée à une réponse inflammatoire prolongée, entraînera une « tempête de cytokines » qui aura pour conséquence une réplication virale incontrôlable et la libération tardive et prolongée des cytokines, néfastes pour l'organisme. Cet ensemble de circonstances entraînera une dysrégulation généralisée de la réaction immunitaire et la mort des malades. Des études menées en Ouganda démontrent d'ailleurs que l'expression du gène B\*07 serait associé à une meilleure survie et faciliterait l'activation précoce des lymphocytes T. En revanche, l'expression des gènes B\*67 et B\*15 serait associée aux « non survivant » qui auraient une réponse immunitaire moins efficace, entraînant la mort des patients (11,27).

L'ensemble de ces mécanismes (Figure 17), mis en place par le virus pour contourner et bloquer la réaction immunitaire, nécessite une réactivité précoce de l'organisme face à l'infection. Elle implique également une réponse équilibrée complexe entre facteurs pro et anti-inflammatoires afin de permettre la neutralisation

du virus, via les mécanismes de l'immunité innée et son élimination par la réaction immunitaire à médiation cellulaire (27).

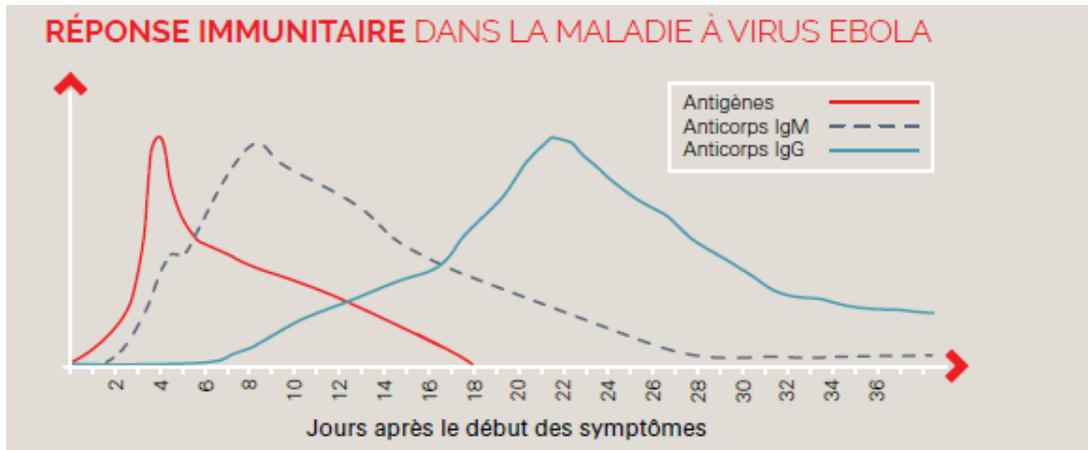


Figure 16 : réponse immunitaire lors d'une infection à virus Ebola chez un patient ayant survécu. Le graphique représente l'apparition des anticorps IgM et IgG au cours de la maladie (12).

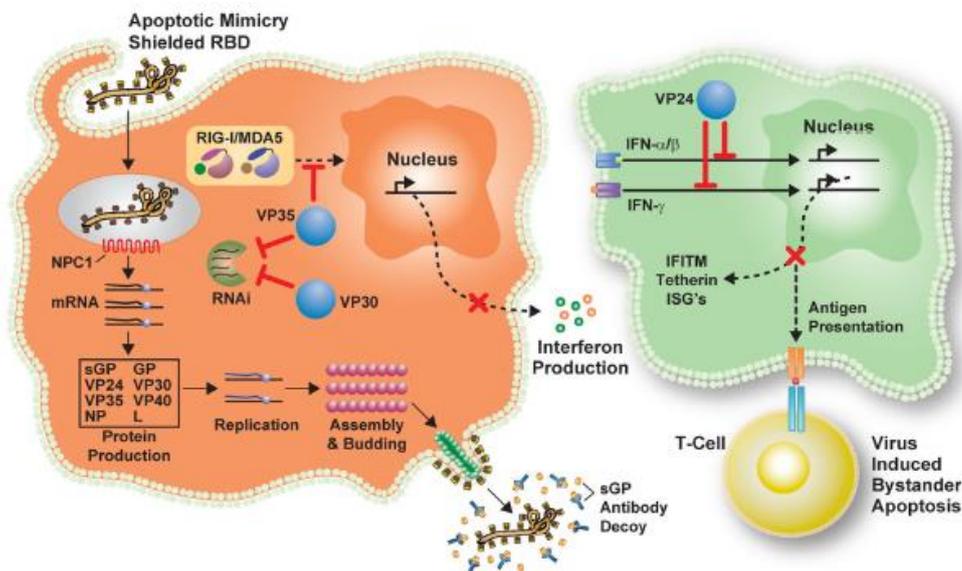


Figure 17 : les mécanismes d'échappement à la réaction immunitaire (27). *Cycle de vie du virus* (à gauche) : le virus pénètre dans la cellule hôte par macropinocytose, en mimant un corps apoptotique. Une fois dans la cellule, la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire va libérer le génome du virus qui sera transcrit en ARNm afin synthétiser les protéines virales. *Mécanismes de l'échappement immunitaire* : Les protéines sGP vont être sécrétées hors de la cellule pour servir de leurre aux anticorps anti-GP. Les protéines VP35, VP30 et VP24 vont bloquer la réaction immunitaire innée dans tous les types de cellules. (À gauche) VP35 interfère avec la signalisation RIG-I / MDA-5, bloquant la production d'interférons. De plus, VP35 et VP30 bloquent la réponse des ARNi contre l'expression génique virale. (À droite) VP24 agit pour inhiber la signalisation des interférons de type I et II (IFN). Cela empêche l'expression génique induite par l'interféron ainsi que la capacité des cellules présentatrices d'antigène de présenter les antigènes aux Lymphocytes T.



## 5. Diagnostic du virus Ebola

### 5.1. Quelles personnes sont concernées ?

Le virus Ebola a une période d'incubation comprise entre 2 et 21 jours. La partie la plus délicate consiste à détecter la maladie dès les premiers symptômes où les patients sont contagieux. Le tableau clinique est complexe et similaire à d'autres pathologies fréquente en Afrique comme la fièvre typhoïde, la fièvre de Lassa, la Malaria, la grippe, la fièvre jaune, la leptospirose et la Dengue. La première étape consiste donc à identifier les cas suspects et probables d'être infectés par le virus, ainsi que de reconstituer leur historique : d'où viennent-ils, où vivent-ils, quels sont leurs récents voyages et ont-ils été en contact avec des animaux sauvages.

Lors d'une épidémie Ebola, un cas est suspect ou probable selon l'OMS s'il répond à l'une de descriptions suivantes :

<b>Cas suspect</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Toute personne vivante ou décédée, présentant ou ayant présenté une fièvre élevée à début brutal ayant été en contact avec un cas suspect, probable ou confirmé d'Ebola ou un animal mort.</li></ul> <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Toute personne présentant une fièvre élevée à début brutal ainsi que 3 symptômes parmi les suivants : maux de tête, anorexie, fatigue intense, douleurs musculaires et articulaires, problèmes respiratoires, diarrhées, vomissements, douleurs abdominales, difficultés à avaler, hoquet.</li></ul> <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Toute personne présentant des saignements inexpliqués.</li></ul> <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Toute personne décédée brutalement d'une mort inexpliquée (14,28).</li></ul>
<b>Cas probable</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Tout cas évalué par un clinicien</li></ul> <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Tout cas suspect décédé (sans qu'il n'ait été possible de réaliser des prélèvements biologiques) et ayant un lien épidémiologique avec un cas confirmé.</li></ul>

Ces cas suspects sont à notifier et des prélèvements doivent être réalisés sur les patients pour pouvoir établir un diagnostic. Il faut ensuite convaincre ces patients

de se rendre à l'hôpital ou dans un Centre de Traitement d'Ebola (CTE) où ils seront pris en charge par du personnel médical formé. On établit également la liste des personnes ayant été en contact avec eux dans le mois qui précède leur identification afin de les surveiller. Si le patient est décédé, il faut expliquer à la famille l'importance d'un enterrement sécurisé et les accompagner dans cette démarche afin de limiter les contaminations. La sensibilisation en période d'épidémie permet aux communautés d'identifier les cas suspects et prévenir les autorités pour réaliser un diagnostic précoce (29).

Un cas suspect ou probable est confirmé au laboratoire lorsque qu'un test à RT-PCR est positif et/ou par la détection d'un antigène et/ou par la détection d'IgM anti-Ebola par des tests ELISA (30).

## **5.2. Prélèvement des échantillons**

Les prélèvements recommandés par l'OMS sur les patients suspectés d'être atteint du virus Ebola sont :

- Sang total pour les patients vivants.
- Ecouvillons prélevés dans la sphère orale, notamment auprès des enfants et malades décédés. Ce prélèvement est à réaliser en seconde intention chez les malades vivants car moins sensible pour l'analyse par RT-PCR.

Modalités de prélèvement :

- Si les premiers prélèvements sont réalisés moins de 3 jours avant le début des symptômes, des prélèvements complémentaires sont à réaliser au moins 48h plus tard pour confirmation du diagnostic.
- Les échantillons sont à conserver à température ambiante au maximum 24h, entre 0 et 5°C pendant une semaine et à -70°C pendant plus d'une semaine si ils doivent être envoyés dans un centre collaborateur de l'OMS pour analyse (30).

Les prélèvements sont à réaliser avec beaucoup de précautions car le virus est extrêmement contagieux et persiste dans le corps des patients, après leur mort ou, pour les survivants, après la fin des symptômes.

L’OMS recommande certaines mesures pour analyser les échantillons dans les meilleures conditions de sécurité biologique, notamment l’isolement du virus dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 4 et l’analyse des échantillons dans un laboratoire de niveau 3.

Dans le cadre d’une épidémie à virus Ebola, les pays touchés ne disposent pas toujours d’infrastructures de pointes. Des laboratoires mobiles équipés d’une enceinte de sécurité biologique de niveau 3 sont alors mis en place pour permettre de réaliser les diagnostics rapidement. Si les échantillons sont inactivés (lyse cellulaire), les manipulations peuvent être réalisées dans des conditions de sécurité biologiques de niveau 2 (30).

### 5.3. Les tests diagnostiques

Le tableau 4 ci-dessous représente les tests diagnostiques pouvant être réalisés aux différents stades de la maladie.

Tableau 4 : recommandations des tests diagnostiques à réaliser selon le stade de la maladie (31)

CHRONOLOGIE DE L’INFECTION	TESTS DIAGNOSTICS DISPONIBLES
Quelques jours après le début des symptômes	RT-PCR, test immunoenzymatique ELISA, test IgM ELISA, isolement du virus
Plus tard au cours de la maladie ou après la guérison	Anticorps IgM et IgG
Rétrospectivement chez les patients décédés	Tests d’immunohistochimie, RT-PCR, isolement du virus

#### 5.3.1. La RT-PCR : Reverse transcription Polymérase-Chain- Reaction

C’est le test de référence sur le terrain pour diagnostiquer un patient suspecté d’être atteint de la maladie Ebola et repose sur la détection de l’ARN viral. La RT-PCR

nécessite une phase de transcription inverse de l'ARN viral en ADNc grâce à une enzyme la *Transcriptase inverse*. Ensuite, les ADNc sont répliqués par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) faisant intervenir une enzyme (la polymérase), et des amorces ciblant les gènes à amplifier. Les résultats sont obtenus environ 4 heures plus tard. Le produit de la RT-PCR est analysé par électrophorèse ou par des mesures de fluorescence. Cette méthode permet donc de déterminer la virémie chez un individu malade, c'est-à-dire la présence d'un virus répliquant dans le sang (30).

Une autre méthode permet d'obtenir les résultats en temps réel et en moins d'une heure : il s'agit de la PCR en temps réel (RT-qPCR). Les résultats sont mesurés en Cycle Threshold (CT), c'est-à-dire en nombre de cycle minimum nécessaire à l'obtention d'un signal fluorescent de détection de l'ARN viral. Un nombre de CT élevé signifie que la charge virale est faible alors qu'un nombre de CT faible indique une charge virale élevée. En ce qui concerne le virus Ebola, des études ont démontré que les patients ayant une charge virale inférieure à 100 000 copies/ml de sang avaient un taux de létalité plus faible que ceux dont la virémie était supérieure à 10 millions de copies/ml de sang. Par convention, on définira une virémie élevée par un  $CT < 20$  et une virémie faible par un  $CT > 20$  (25).

Dans les deux cas, deux RT-PCR négatives à 48h d'intervalle excluent une infection à virus Ebola chez un patient asymptomatique (14,32).

Des versions de thermocycleurs portables arrivent sur le marché et pourraient permettre à terme, de réaliser des diagnostics rapides dans des laboratoires peu équipés ou même sur le terrain. C'est le cas du dispositif Genie III, qui utilise une méthode d'amplification isotherme des acides nucléiques, moins coûteuse et aussi efficace qu'une RT-PCR classique, d'après les résultats d'une étude japonaise sur des échantillons provenant de patients atteints du virus Ebola (31,33).



Figure 18 : dispositif Genie III, permettant de d'amplifier en temps réel les acides nucléiques (ADN ou ARN) de l'échantillon testé par la méthode LAMP. Cet instrument portable permet de visualiser les résultats directement sur l'écran tactile. Il dispose d'une batterie qui lui permet d'être utilisé en ambulatoire et de connexion wifi et Bluetooth pour faciliter le transfert de données (34).

### **5.3.2. Les tests ELISA : Enzyme-Linked-Immunosorbant-Assay**

Ces tests permettent de détecter les antigènes viraux (test direct) ou les anticorps anti-Ebola (test indirect)

➤ **Le test direct (ELISA sandwich) : détection des antigènes du virus Ebola**

La détection des antigènes viraux peut se faire dès le 3<sup>ème</sup> jour après le début des symptômes. Cette méthode permet en quelques heures de mettre en évidence notamment deux antigènes caractéristiques du virus : la nucléoprotéine NP et la glycoprotéine GP. Ce test repose sur une double capture de l'antigène d'abord par des anticorps de captures fixés sur un support puis par des anticorps de détection amenés par une solution d'anticorps monoclonaux. La spécificité et la sensibilité de ce test sont de 98% par rapport à l'isolement viral, référence absolue en terme de diagnostic en laboratoire (35).

➤ **Le test indirect : détection des anticorps anti-Ebola IgM et IgG**

Environ 2 jours après l'infection, les IgM commencent à apparaître et disparaissent entre 1 à 4 mois plus tard. Les IgG sont produites dans le sang plus tardivement, 6 à 18 jours après les premiers symptômes et peuvent perdurer des

années. Le principe de la technique repose sur la fixation des anticorps du sérum du patient sur les antigènes du support. Une fois fixés, les anticorps recherchés sont révélés par des anticorps de détection.

Deux prélèvements à quelques jours d'intervalles avec présence d'IgM et une augmentation du titre des IgG chez un patient doit faire suspecter une infection récente à Ebola et une prise en charge rapide. La présence seule des IgG témoigne d'une infection ancienne chez des patients guéris.

Ce test est donc intéressant mais compliqué en pratique dans la mesure où les IgM apparaissent rarement dans les formes mortelles et que les IgG apparaissent seulement lors de la phase terminale de l'infection, où les chances de guérisons sont très faibles. Ce test n'est donc pas à réaliser en routine sur le terrain pour le dépistage précoce, mais plutôt au cours de l'infection pour évaluer la réponse immunitaire ou dans cas d'enquêtes épidémiologiques (11,14,26,35).

### **5.3.3. Isolement du virus**

C'est la méthode de référence pour analyser le virus Ebola et sa pathogénicité in vitro. Elle n'est réalisable que dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 4 (sécurité la plus élevée). L'isolement du virus se fait sur cellule Vero E6 puis l'observation se fait en microscopie électronique. En France, par exemple, le laboratoire Jean Mérieux, à Lyon, est équipé pour étudier les microorganismes à très fort pouvoir pathogène, comme Ebola. L'isolement du virus n'est donc pas utilisé en routine sur le terrain pour le diagnostic précoce mais plutôt en rétrospective d'une infection afin d'étudier les caractéristiques du virus (35). De plus, il faut attendre 7 à 10 jours pour obtenir un résultat, ce qui rend impossible la prise en charge rapide lors d'une épidémie (14).

### **5.3.4. Tests d'immunohistochimie**

Cette technique permet de mettre en évidence les antigènes viraux fixés au formol dans les tissus d'animaux morts ou de patients décédés (35). Elle n'est donc pas utilisée sur le terrain lors d'une épidémie mais dans les laboratoires spécialisés pour étudier les échantillons.

## 5.4. Les tests de diagnostics rapides (TDR)

Suite à l'épidémie de 2014, des tests de diagnostic rapides faciles à utiliser sur le terrain ont été développés par différents pays :

### 5.4.1. ReEBOV™ Antigène Rapid Test (USA) :

Approuvé par l'OMS, ce test permet de diagnostiquer l'infection virale sur le terrain. Il repose sur l'affinité d'anticorps polyclonaux spécifiques de la protéine virale VP40. Les résultats disponibles en 15 à 25 minutes à partir d'une goutte de sang prélevée au doigt du patient. Selon les études, sa sensibilité est comprise entre 91,8% et 100% et sa spécificité entre 84,6% et 92%. Ce test de diagnostic rapide est présenté sous forme d'une carte de résultats (Figure 19). Dans un tube contenant une solution tampon, le soignant ajoute 30µL de sang total du patient suspect. Il insère ensuite la jauge dans le tube. Cette jauge comprend deux lignes : la ligne contrôle de couleur rouge (témoin d'un test positif à Ebola) et la ligne du test. En présence d'antigènes EBOV VP40, et selon le titre en antigènes, la ligne de test va se colorer de rose pâle (faible titre en antigènes), à rouge (titre élevé en antigènes). L'intensité du signal est notée sur une échelle de 1 à 5. Si aucun antigène EBOV n'est détecté, la ligne de test ne se colore pas et reste blanche. Même si ce test est moins précis qu'une RT-PCR, il est très facile d'utilisation et ne nécessite ni électricité, ni infrastructures particulières et est donc tout à fait adapté pour être pratiqué dans des zones reculées. Un test positif à ReEBOV doit être confirmé par une RT-PCR. Des tests ont été réalisés durant l'épidémie de 2014-2015 en Sierra Léone et se sont avérés très concluants (36–39).

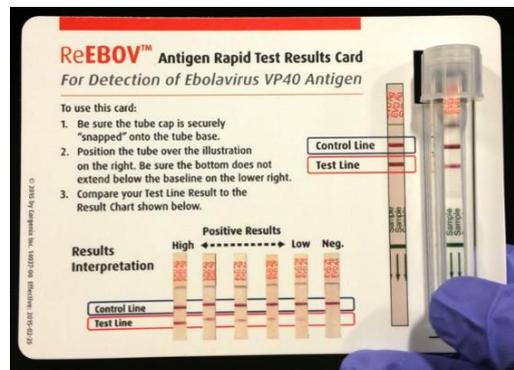


Figure 19 : carte de résultat du test de diagnostic rapide ReEBOV pour la détection de l'antigène VP40. Ce TDR sous forme de carte visuelle a été développée par la Food and Drug Administration et l'OMS. Elle permet à des soignants non expérimentés d'identifier les patients à forte probabilité d'être atteints de la maladie Ebola. (39)

#### 5.4.2. eZYSCREEN (France)

eZYSCREEN est un test de diagnostic rapide développé pendant la crise sanitaire d’Ebola de 2014-2015 par une équipe de la Direction des Sciences du Vivant (DSV) du CEA (commissariat à l’énergie atomique) en partenariat avec le laboratoire de haute sécurité biologique P4 Jean Mérieux à Lyon. Il est produit par le laboratoire industriel Vedalab, à Alençon. Il a été mis au point en trois mois et a été validé entre septembre et décembre 2014 pour pouvoir être utilisé sur le terrain en Guinée. Il consiste en la détection de la glycoprotéine GP par des anticorps monoclonaux sur le principe d’un test ELISA direct. Ainsi, eZYSCREEN permet de diagnostiquer un patient suspecté d’être infecté par Ebola en 15 minutes et résiste plusieurs jours jusqu’à une température de 45°C (40). Actuellement deux versions de ce test sont sur le marché : l’un pour un dépistage à partir d’une goutte de sang total et l’autre pour un dépistage à partir de sérum ou de plasma. Sur sang total, la sensibilité est de 65,3% et la spécificité de 98,9% alors qu’elles sont respectivement de 74,5 et 100% à partir d’un échantillon de sérum. Un résultat positif doit être confirmé par une RT-PCR (41).

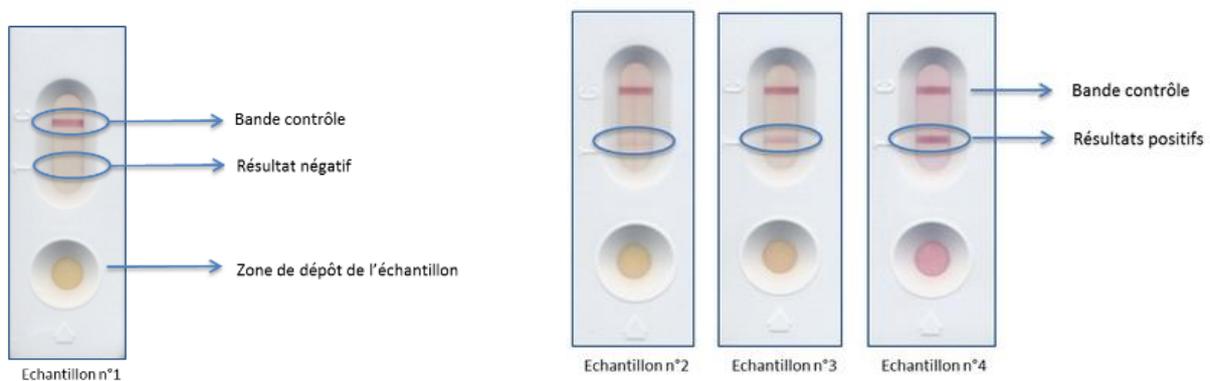


Figure 20 : test eZYSCREEN. L'échantillon 1 correspond à un résultat négatif alors que les échantillons 2,3 et 4 correspondent à des échantillons positifs au virus Ebola Zaïre. La couleur rose sur la ligne de test, plus ou moins intense selon la charge virale, témoigne d'une infection à virus Ebola (41).

#### 5.5. Autres tests :

Les progrès technologiques ont permis de développer d'autres méthodes diagnostiques comme les micro ARN (miARN) et les biopuces par exemple, mais également de mieux comprendre les épidémies grâce au séquençage haut débit

(NGS : Next generation Sequencing) qui permet de comparer et d'analyser les ARN viraux des différents sous-types (14).



## 6. LES TRAITEMENTS CANDIDATS

Cette partie est consacrée aux traitements médicamenteux en cours de développement. En effet, la maladie à virus Ebola ne bénéficie actuellement d'aucun traitement curatif autorisé et sa prise en charge est purement symptomatique. L'épidémie de 2014-2015 a encouragé à accélérer la recherche de nouveaux traitements.

Les soins de support ont été dispensés dans tous les hôpitaux et centres de traitement Ebola (CTE) dans les pays touchés. Ils reposaient essentiellement sur le remplissage vasculaire et les corrections des troubles hydroélectrolytiques liés aux troubles digestifs et à la fuite capillaire. Ces apports ont été administrés par voie intraveineuse et adaptés à chaque malade. Les traitements symptomatiques (antidiarrhéiques, antiémétiques) administrés ont permis également de limiter la déshydratation et améliorer la nutrition par voie orale. Un traitement par antibiothérapie (fluoroquinolone, céphalosporine) était également systématiquement administré aux patients des CTE. Dans les pays occidentaux, les malades ont bénéficié de techniques de réanimation intensives.

Les traitements qui sont décrits ci-dessous dans le Tableau 5 ont fait l'objet de nombreux essais précliniques et cliniques. Chez l'homme, ils sont généralement administrés en parallèle de ces soins de support (11).

Tableau 5 : principales molécules thérapeutiques en développement contre la maladie à virus Ebola (11)

Molécule	Voie	Phase de développement clinique
<b>Favipiravir T-705</b> (analogue nucléotidique inhibiteur de l'ARN polymérase)	orale	II en cours d'analyse
<b>BCX4430</b> (analogue de l'adénosine inhibiteur de l'ARN polymérase)	IM ou orale	Données précliniques. Phase I en cours
<b>Brincidofovir</b> (analogue nucléotidique inhibiteur de l'ARN polymérase)	orale	II interrompue (fin de l'épidémie)
<b>ZMAPP (anticorps monoclonaux)</b>	IV	I/II en cours
<b>TKM-ebola (siARN)</b>	IM	II interrompue (absence de bénéfice ?)
<b>PMOs antisens (siARN)</b>	IV	I terminée
<b>Interférons <math>\beta</math>1a</b>	SC	II
<b>rNAPc2</b>	IV	Données précliniques
<b>Plasma de convalescent (immunothérapie)</b>	IV	II/III terminée

## 6.1. Médicaments antiviraux

### 6.1.1. Le favipiravir (T-705) :

Cet antiviral est actuellement utilisé au Japon dans le traitement de certains cas de grippe compliquées ou résistantes aux traitements actuels (42). Des tests in vitro et in vivo ont également démontré des résultats encourageants sur d'autres virus à ARN, responsables de fièvres hémorragiques et/ou d'encéphalites, tels que les arenavirus, bunyavirus, flavivirus ou les alphavirus, avec réduction de la charge virale et de la mortalité. La crise Ebola de 2014 a relancé la recherche pour développer des traitements efficaces et le favipiravir a fait partie des molécules à étudier. Des études in vivo et in vitro, notamment chez des souris inoculées avec la souche Zaïre du virus Ebola, ont été menées afin d'évaluer son efficacité. Un essai clinique multicentré non randomisé (essai JIKI) a également été mené dans plusieurs centres de traitement d'Ebola durant la crise de 2014-2015.

#### ➤ Mécanisme d'action :

Des études in vitro ont permis de comprendre que le favipiravir était une prodrogue. Après phosphoribosylation, il est métabolisé dans la cellule en 3 composés dont seul le favipiravir-ribofuranosyl-5'-triphosphate (favipiravir-RTP) est actif, avec une activité antivirale spécifique de l'ARN polymérase virale (Figure 21). Le favipiravir-RTP agit en interférant dans la réplication virale. C'est un analogue nucléotidique des bases purines dont le mécanisme d'action spécifique n'est pas encore totalement élucidé. Deux hypothèses cohabitent actuellement :

- 1<sup>ère</sup> hypothèse : Le favipiravir-RTP est incorporé à la place d'une purine lors de la formation d'un ARN naissant. Une étude récente supporte cette théorie en démontrant que l'incorporation du favipiravir-RTP était à l'origine de mutation de substitution au sein de l'ARN viral, létale pour le virus.
- 2<sup>ème</sup> hypothèse : Le favipiravir-RTP se lie sur certains domaines spécifiques de l'ARN polymérase virale, empêchant ainsi l'incorporation de nucléotides et inhibant la réplication et la transcription virale (43).

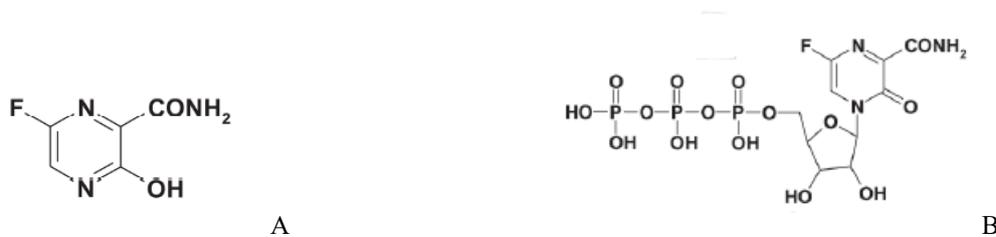


Figure 21 : (A) structure du favipiravir. (B) Structure du favipiravir-RTP après ribiphosphorylation dans la cellule (43).

➤ Résultats de l'essai clinique JIKI :

Des résultats précliniques réalisés sur les souris traitées par favipiravir à J6 après l'inoculation du virus Ebola se sont avérés très concluants (taux de survie de 100%). En revanche, les résultats sur les singes ont été plus mitigés chez des singes (les sujets inoculés avec le virus Ebola sont tous décédés après l'initiation du traitement). Cependant, cela a permis de comprendre le potentiel thérapeutique du favipiravir et de débiter les essais cliniques chez l'homme (42) (44).

Ainsi, une étude multicentrique non randomisée, JIKI, a été menée entre décembre 2014 et Mai 2015 dans quatre centres de traitements du virus Ebola en Guinée (Conakry, Gueckedou, Masenta et Nzerekore) pour évaluer l'efficacité du favipiravir (Figure 22). C'était également l'occasion de tester la faisabilité et l'acceptabilité d'un essai clinique réalisé dans des conditions d'urgence. L'étude n'a pas été randomisée compte-tenu du contexte ainsi que pour des raisons éthiques.

126 patients ont été inclus dans l'étude et ont reçu le traitement mais seulement 111 ont pu être analysés. Ils ont été comparés à un groupe témoins, dit historique (patients recrutés à partir d'une base de données de Médecins Sans Frontières et traité contre la maladie Ebola avec des soins de support). Les patients ont été répartis en 3 groupes : les patients ayant un CT < 20, ceux dont le CT > 20, et un 3<sup>ème</sup> groupe d'enfants de 3 à 5 ans (groupe YC pour Young Children). Le CT signifie le « cycle threshold ». Il représente le nombre de cycle d'amplification par RT-qPCR pour détecter le génome viral. Plus le nombre de cycle est bas, plus la charge virale de l'échantillon analysé est élevée.

Les résultats de cet essai clinique se sont basés sur 3 critères : le taux de mortalité, la réduction de la charge virale et les effets indésirables. Au total, 60 patients sont

décédés. Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : synthèse des résultats de l'étude JIKI (45)

	Groupe A : CT>20	Groupe B : CT<20	Groupe YC
<b>Nombre de patients</b>	55	44	12
<b>Taux de mortalité dans le groupe témoin</b>	30%	85%	70%
<b>Taux de mortalité de l'essai clinique (nombre de morts)</b>	20% (11 morts), soit 33% inférieur aux témoins.	91% (40 morts), soit 7% supérieur aux témoins.	75% (9 morts), soit 7% supérieur aux témoins.
<b>Charge virale</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chez les patients ayant survécu, la réduction moyenne de la charge virale est évaluée à <math>0,33\log_{10}</math> copies/ml par jour.</li> <li>- Chez les patients décédés, aucune réduction de la charge virale n'a été significativement observée.</li> </ul>		
<b>Tolérance</b>	Bonne tolérance qui suggère que le favipiravir peut être utilisé à une dose quotidienne deux fois plus élevée que pour le traitement de la grippe.	Difficile à évaluer car les patients décèdent rapidement avec toute une symptomatologie spécifique de la maladie.	

Tous les décès sont survenus avant le 9<sup>ème</sup> jour après initiation du favipiravir (survie moyenne de 3 jours) sauf une personne du groupe A, décédée à J17. Sur les 51 personnes ayant survécu, les symptômes de la maladie ont disparu en moyenne 9 jours après initiation du traitement.

Suite aux résultats observés sur la mortalité et la charge virale, le favipiravir en monothérapie est sans doute à réévaluer davantage chez les patients présentant une virémie intermédiaire à élevée que chez ceux ayant une virémie très élevée ; ces derniers nécessitant une prise en charge plus spécifique. Le faible taux de mortalité observé dans le groupe A, bien qu'encourageant, n'est cependant pas significatif (puissance statistique faible et IC95% de la mortalité incluant la valeur cible). Le favipiravir, bien toléré chez les patients de virémie moyenne à élevée pourrait faire l'objet de nouveaux essais cliniques à des doses plus importantes. L'étude JIKI a également permis de mettre en évidence la relation entre de faibles valeurs de CT et une insuffisance rénale (créatinine élevée). En effet, dans le groupe B (CT<20), 90% des patients avait une créatininémie  $\geq 110 \mu\text{mol/l}$  (dont la moitié une créatininémie  $\geq 300 \mu\text{mol/l}$ ), versus 48% dans le groupe A (CT>20) (dont moins d'un tiers avec une

créatininémie  $\geq 300 \mu\text{mol/l}$ ). Ainsi, dans le groupe B, 97% des patients ayant une créatininémie  $\geq 110 \mu\text{mol/l}$  sont décédés contre 17% dans le groupe A. Depuis, ces deux paramètres biologiques (faible valeur de CT et créatinine élevée) sont reconnus comme étant les deux marqueurs importants à analyser sur le terrain pour évaluer l'évolution de la maladie. Bien que l'ensemble de ces résultats ne permet pas de conclure fermement à l'efficacité du favipiravir, ceux-ci ouvrent tout de même de nouvelles perspectives de recherches (45).



Figure 22 : Centres de traitements de la maladie Ebola en Guinée. Les étoiles rouges représentent les centres de traitement de la maladie qui ont participé à l'étude JIKI. 3 centres sont situés au sud de la Guinée (Gueckedou, Masenta, Nzerekore) et un centre est situé sur la côte guinéenne (Conakry) (45)

### 6.1.2. **BCX4430**

Cet antiviral appartient à la classe des analogues nucléosidiques, très utilisés en traitement virologique. L'aciclovir, qui traite l'Herpes ou encore la zidovudine, un des traitements contre le VIH sont des représentants de cette famille.

Des études in vitro ont démontré l'efficacité antivirale à large spectre de BCX430 impliquant les virus à ARN négatif (*Filoviridae*, *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Picornaviridae* et *Paramyxoviridae*) et virus à ARN positif (*Flaviviridae* et *Coronaviridae*).

#### ➤ Mécanisme d'action :

BCX4430 a pour cible l'ARN polymérase virale en mimant l'adénosine (Figure 23). Les ARN viraux sont répliqués grâce aux nucléosides triphosphate ou nucléotides (ATP, CTP, GTP, UTP) présents dans la cellule.

L'objectif consiste à interrompre la synthèse des ARN viraux pour stopper la réplication du virus. BCX4430 est donc phosphorylé en BCX4430-TP (triphosphate). Sous forme triphosphate, BCX4430 agit en mimant une molécule d'ATP (adénosine triphosphate). Ainsi, BCX4430-TP est incorporé dans le brin d'ARN viral en cours de synthèse par l'ARN polymérase virale à la place de l'ATP naturelle. Les tests ont également permis de comprendre que BCX443 ciblait spécifiquement l'ARN viral, et n'était donc pas toxique pour la cellule.

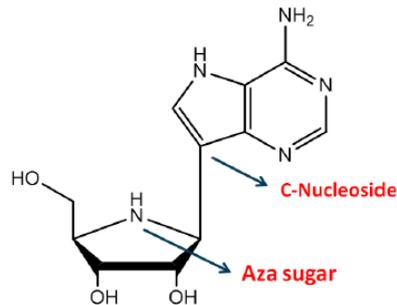


Figure 23 : structure de BCX4430 (46)

➤ Efficacité :

Des essais *in vitro* ont été menés sur des hépatocytes de souris, rats, primates et d'humains. Les résultats ont montré que la métabolisation hépatique de BCX4430 en BCX4430-TP, aussi nommé BCX6870, était assez rapide et augmentait significativement avec le temps (Figure 24, graphe de gauche). Chez des rats, des injections intramusculaires (IM) de BCX4430 ont montré que la métabolisation de BCX4430 en BCX4430-TP dans les cellules hépatiques était particulièrement efficace avec une concentration hépatique largement supérieure à la concentration plasmatique du composé initial dès les 30 premières minutes qui suivaient l'injection. L'écart se creusait ensuite au fil des heures et le taux hépatique de BCX4430-TP pouvait atteindre jusqu'à 100 fois la valeur du taux plasmatique de BCX4430 (Figure 24, graphe de droite).

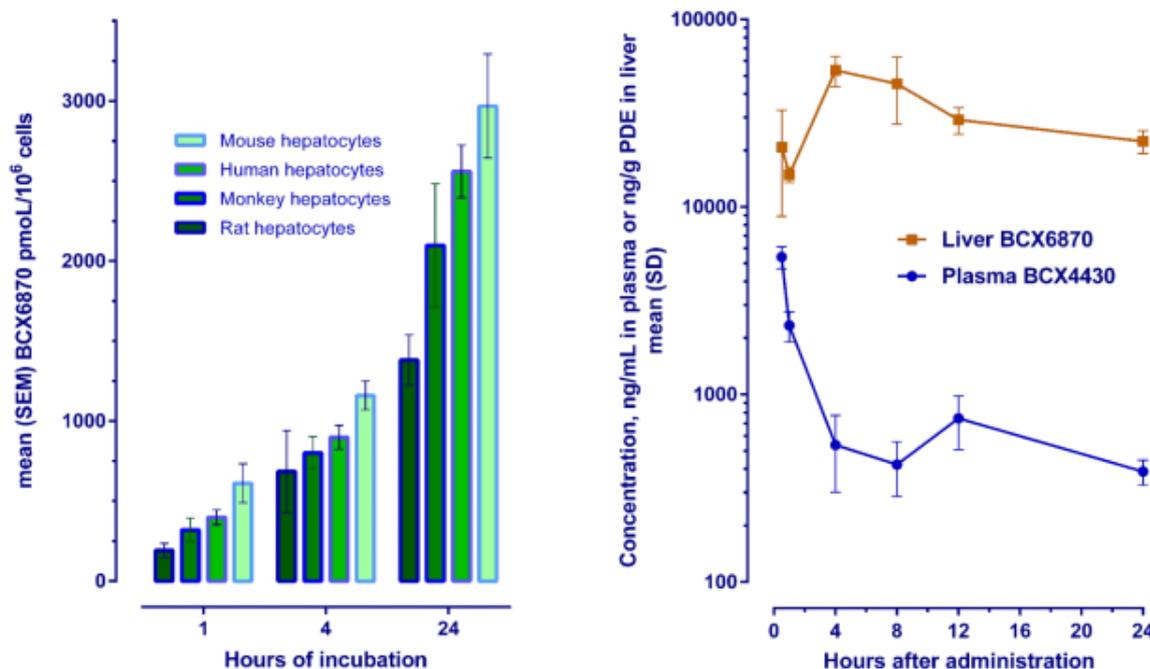


Figure 24 : métabolisme de BCX4430 en BCX4430-TP (appelé aussi BCX6870). Le graphique de gauche indique les taux de BCX6870 hépatique dans le temps après incubation de cellules de foie de différentes espèces en présence de BCX4430 à 10µg. Les résultats ont été analysés par HPLC. Le graphe de droite représente le taux de BCX4430 plasmatique et le taux de BCX6870 hépatique après injection IM de 30mg/Kg de BCX4430 chez le rat. Ces taux ont été quantifiés par HPCL/SM en tandem (46).

L'activité antivirale large spectre de BCX4430 a été démontrée chez les animaux dans plusieurs études précliniques. Chez les primates (macaques *Cynomolgus*), l'efficacité de BCX4430 a été mise en évidence dans le traitement des infections à virus Marburg et Ebola. Dans un premier essai, 18 singes ont été inoculés avec le virus Marburg et ont reçu 48 heures plus tard 15mg/kg IM de BCX4430 deux fois par jour pendant 14 jours. Les résultats ont été encourageants car 17 singes ont survécu alors que les 6 singes « contrôles » sont tous morts au bout de 12 jours. De plus, la charge virale maximale dans le groupe traité était 600 fois inférieure à celle du groupe « contrôle » et on a également noté une amélioration des paramètres biologiques tels que les taux de bilirubine, ASAT et TP (taux de prothrombine).

Dans un second essai, différents dosages de BCX4430 ont été testés, allant de 3,4 à 16 mg/kg, IM, deux fois par jour, sur des singes inoculés avec le virus Ebola. Tous les singes sont morts sauf ceux qui ont reçu la dose de 16 mg/Kg et dont la durée de vie a été prolongée de moitié par rapport aux autres groupes (13,2 jours contre 7,2 jours dans le groupe « contrôle »).

Une autre étude sur un groupe de *Rhesus macaques* a été menée pour établir une dose curative : 6 singes ont reçu 25 mg/kg de BCX4430 deux fois par jour après inoculation avec le virus Ebola. Tous ont survécu alors que les 6 singes du groupe contrôle sont tous décédés.

Ces résultats précliniques très concluants ont permis de lancer la phase I des essais cliniques sur des sujets humains sains. Dans un test consistant à évaluer la réponse plasmatique de BCX4430 selon la dose injectée en IM, à des concentrations allant de 0,3 mg/kg à 10 mg/kg, les résultats ont montré une réponse plasmatique linéaire à la dose reçue. Un premier essai sur cohorte a également été mis en place à raison d'une dose de 3,5 mg/kg par jour pendant 7 jours. L'étude continue aujourd'hui avec des doses qui augmentent progressivement. À ce jour, les injections sont bien tolérées. D'autres études sont à venir pour étudier l'administration par voie intraveineuse.

BCX4430 est donc un traitement antiviral à large spectre prometteur qui a démontré son efficacité *in vitro* et en phase préclinique aussi bien par voie IM que par voie orale. La phase I des essais cliniques chez l'homme est actuellement en cours et les premiers résultats sont encourageants. Des études complémentaires chez l'animal et les sujets atteints d'Ebola sont à venir afin de pouvoir définir plus précisément les paramètres pharmacologiques mais également de poursuivre les recherches sur la formulation galénique du composé et de sa synthèse pour permettre de traiter Ebola (46,47)

### **6.1.3. Brincidofovir (BCV)**

Le brincidofovir (BCV) est un antiviral disponible par voie orale actuellement utilisé dans le traitement des virus à ADN tels que le cytomégalovirus et l'adénovirus. C'est un conjugué lipidique de l'analogue nucléotidique du cidofovir (CDV). Des études *in vitro* ont démontré son efficacité contre le virus Ebola en 2014 et a encouragé les recherches chez l'homme dans le cadre de l'épidémie (48,49).

➤ **Mécanisme d'action :**

Le cidofovir est un analogue nucléotidique de la cytosine. Il est lié à un lipide, le 3-hexadécyloxy-1-propranol (HDP) pour former le brincidofovir. Cet antiviral mime un

phospholipide monoacyl, car sous cette forme il présente une bonne biodisponibilité orale et une bonne perméabilité cellulaire.

Pour comprendre comment agit le brincidofovir sur le virus Ebola, les scientifiques sont partis de son mécanisme d'action connu pour traiter une infection à cytomégalovirus, illustré par la figure ci-dessous (Figure 25). Le complexe HDP-CDV pénètre dans la cellule et libère le CDV par clivage enzymatique. Le CDV est ensuite phosphorylé pour donner du CDV diphosphate qui sera le substrat compétitif de l'ADN polymérase virale, enrayant l'élongation et donc la réplication du virus.

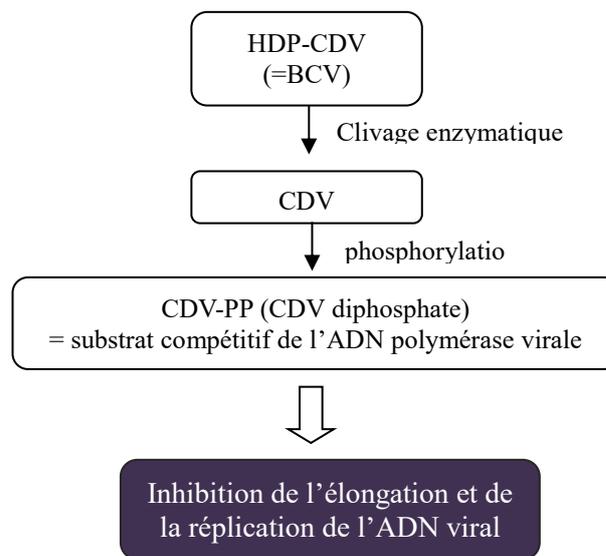


Figure 25 : Schéma illustrant le mécanisme d'action du brincidofovir utilisé dans le cas d'infection à cytomégalovirus.

En revanche, le mécanisme d'action antiviral pour le virus Ebola est encore inconnu. Il semble plus complexe et différent de celui observé pour le cytomégalovirus. Des tests ont démontré que la présence seule du CDV dans la cellule n'avait aucune activité antivirale alors que le HDP avait une faible activité antivirale mais 29 fois inférieure au composé conjugué BCV. Les essais réalisés ont permis de conclure que l'activité du BCV n'était pas médiée par le CDV-PP, comme pour le cytomégalovirus, mais nécessitait la fraction lipidique HDP. Le choix de l'analogue nucléotidique aurait également une influence sur l'efficacité contre le virus Ebola en améliorant la solubilité du composé ou sa perméabilité cellulaire (48).

➤ Efficacité :

Des études in vitro ont été menées pour évaluer l'inhibition de la réplication de EBOV par le brincidofovir et toutes ont prouvé son efficacité anti-Ebola.

Au cours de l'épidémie de 2014, la FDA (Food and Drug Administration) a déclaré que le BCV était sur la liste des médicaments prioritaires à développer pour traiter Ebola. Elle a donc soutenu l'administration de brincidofovir au Libéria chez des patients atteints d'Ebola dans le cadre d'un essai clinique réalisé pour des raisons humanitaires. 4 patients sont alors recrutés mais l'épidémie est endiguée et les cas de moins en moins nombreux. Le laboratoire Chimerix®, qui coordonnait cet essai clinique, a donc décidé d'interrompre ce traitement. Aucune conclusion sur l'efficacité du brincidofovir n'a pu donc être mise en évidence. Les 4 patients de l'étude sont décédés de la maladie Ebola et non à cause d'effets indésirables du traitement. Cette expérience démontre la difficulté d'organiser un essai clinique dans des conditions d'urgence et la nécessité de nouveaux tests précliniques afin d'approfondir nos connaissances du BCV sur son mécanisme d'action et sa pharmacologie (49).

## **6.2. Les immunoglobulines : le traitement par ZMAPP**

ZMapp résulte de l'association de 3 anticorps monoclonaux : 2 anticorps ZMAbs (2G4 et 4G7) combinés à 1 anticorps MB-003 (13C6). C'est un traitement expérimental co-développé par Mapp biopharmaceutical Inc. et Defyrus Inc. Les 3 anticorps sont synthétisés grâce à des plantes de tabac du genre *Nicotiana benthamiana* (50,51). Il a été administré avec succès à 2 américains ayant contracté le virus lors d'une mission dans un centre de traitement Ebola, au Libéria, durant l'épidémie de 2014.

➤ Mécanisme d'action :

Les détails du mécanisme d'action de ces anticorps dans le traitement contre le virus Ebola sont encore mal connus. ZMapp agirait en se liant aux glycoprotéines GP de surface du virus, ce qui empêcherait ce dernier de s'arrimer aux cellules hôtes avant d'y pénétrer. D'autres combinaisons d'anticorps ont été testées mais celle qui a donné

lieu au complexe ZMapp confère la meilleure affinité et fixation sur les glycoprotéines de surface du virus Ebola et donc une meilleure efficacité d'inhibition virale (50).

➤ Efficacité :

Après des tests in vitro et des essais précliniques encourageants sur des souris, une étude préclinique réalisée sur des macaques *Rhesus* auxquels on a inoculé le virus a été menée afin d'évaluer l'efficacité de ZMapp. Les injections aux 6 singes traités par ZMapp ont débuté entre J3 et J5 post infection à EBOV, à raison d'une dose de 50 mg/kg tous les 3 jours et comparées à 3 singes témoins. Au total, 3 injections ont été réalisées. Les résultats de cette étude ont été très positifs puisque tous les singes traités ont survécu alors que les témoins sont tous morts. De plus, les symptômes caractéristiques de la maladie (fièvre, thrombopénie, rash cutané) présents au début du traitement ont régresser progressivement chez les singes traités, dès le 12<sup>ème</sup> jour après l'infection (soit 2 jours après la dernière injection de ZMapp). Par ailleurs, 14 jours après infection, la charge virale était indétectable, signe d'une rémission complète (52).

Ces résultats encourageants sur les primates ont permis de lancer en mars 2015 un essai clinique randomisé et contrôlé nommé « Etude Prevail II ». L'objectif était de déterminer si un traitement ZMapp associé aux soins habituellement dispensés était plus efficace que les soins seuls. Les patients atteints d'Ebola recrutés pour l'étude ont été diagnostiqués par RT-PCR dans plusieurs sites d'Afrique de l'Ouest (Libéria, Sierra Leone, Guinée).

L'étude a inclus 72 patients mais seulement 71 ont pu être évalués. Le traitement a consisté en 1 injection intraveineuse de 50mg/kg de ZMapp tous les 3 jours (3 injections par semaines). Les soins habituellement dispensés dans le centre de traitement étaient le bon monitoring du patient (mesures de réhydratation et de renutrition, maintien des fonctions physiologiques, traitement d'autres infections) et comprenait également l'administration de favipiravir en Guinée. Le critère principal était la mortalité à 28 jours, puis le taux de survie était réévalué au 58<sup>ème</sup> jour. Les 71 patients ont été répartis dans 2 groupes : 36 patients constituaient le groupe traité avec ZMapp associé aux soins habituels (groupe A) et 35 patients constituaient le groupe témoin ne recevant que les soins habituels (groupe B). À l'issue de cette étude, on a observé que le taux de mortalité du groupe B était supérieur à celui du groupe A (37%

versus 22%) et donc un risque de décès réduit de 40% chez les sujets du groupe A. Cependant, l'analyse statistique de ces résultats ne démontre pas de différences significatives entre les deux groupes en raison d'un manque de puissance (nombre de sujets inclus inférieur à ce qui était prévu), une initiation tardive du traitement (à J7 après les premiers symptômes versus à J5 après inoculation du virus chez les singes), et des décès prématurés dans les 4 premiers jours suivant l'initiation du traitement. Par conséquent, même si le traitement associant ZMapp aux soins habituels semble plus efficace en termes de survie et de tolérance que les soins habituels seuls, les résultats de l'étude ne le démontrent pas.

Bien que l'efficacité du ZMapp n'ait pas été statistiquement démontrée à travers l'étude PREVAIL II, ce traitement a été autorisé au Libéria, en Sierra Leone ou en Guinée dans le cadre réglementaire d'un protocole d'accès étendu, au cas où de nouveaux malades atteints d'Ebola seraient diagnostiqués (53,54). Il a permis de traiter 2 américains travaillant dans un centre de soins au Libéria, ainsi que 3 médecins africains qui ont survécu.

## **6.3. Petits ARN antiviraux inhibiteurs**

### **6.3.1. TKM-ebola**

Ils appartiennent à la classe des petits ARN interférents (siARN). TKM-100802, nommé également « si-Ebola2 » est un cocktail de 2 siARN : siLpol-2 and siVP35-2, deux séquences nucléotidiques complémentaires de l'ARNm codant respectivement la polymérase virale et la protéine VP35. Cependant, les siARN sont instables et des mésappariements peuvent altérer leurs fonctions antivirales. Ainsi, pour augmenter l'efficacité et la spécificité d'action contre EBOV, des modifications nucléotidiques ont été opérées sur les deux siARN, donnant naissance au nouveau cocktail TKM-130803, encapsulé dans une nanoparticule lipidique (ou LNP pour Lipid Nanoparticle). TKM-130803 est aussi nommé « cocktail si-Ebola3 » (55).

#### ➤ Mécanisme d'action :

TKM-ebola agit en appariant les deux siARN à la séquence de l'ARNm viral correspondante : siLpol-2 se lie à l'ARNm viral codant la polymérase virale et siVP35-

2 se lie à l'ARNm viral codant la protéine virale VP35. Cela a pour conséquence le clivage de ces ARNm viraux puis leur dégradation. TKM-ebola, en inhibant l'expression de ces deux gènes, inhibant la traduction et la réplication du virus (56,57).

➤ Efficacité :

Les résultats d'études *in vitro* ont démontré que TKM-ebola permettait de réduire le taux d'ARN viral. Des tests précliniques ont également été pratiqués sur 6 macaques *Rhesus* inoculés avec EBOV, répartis équitablement en deux groupes : un groupe témoin et un groupe traité par siEbola-3, trois jours après l'inoculation du virus. Les résultats ont été concluants puisque tous les singes traités ont survécu, contrairement au groupe témoin dont les sujets sont tous morts au 8<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> jour après l'infection (cette durée de survie est similaire chez l'Homme infecté non traité). Par ailleurs, les sujets traités ont présenté des symptômes atténués de la maladie et une réduction progressive de la virémie jusqu'à guérison complète (55).

Ces résultats encourageants ont donc permis de mener un essai clinique de phase II, simple bras, non randomisé, chez des patients atteints du virus Ebola, au cours de l'épidémie, entre mars et juin 2015. Cet essai a été réalisé en Sierra Leone et les 14 patients inclus dans l'étude ont reçu le traitement TKM-130803 à raison d'une perfusion de 0,3 mg/kg par jour pendant 7 jours. Le critère principal de l'étude était la survie 14 jours après début du traitement. Sur les 14 patients, 2 ont été exclus car décédés 48h après l'inclusion et seulement 3 ont survécu à J14. La probabilité de survie a donc été de 27%, très inférieure à 0,55, valeur seuil permettant de conclure au bénéfice significatif du TKM-130803 en terme de survie. Bien que ce traitement ait été bien toléré, ces résultats n'ont donc pas permis de conclure à l'efficacité du traitement chez des patients à charge virale élevée. En effet, les 14 patients de l'étude avaient tous une charge virale  $\geq 1 \times 10^8$  copies d'ARN viral/ml de plasma, associée à un taux de mortalité supérieur à 90%. Ces résultats sont donc très différents de ceux qui ont été obtenus avec les primates et suggèrent que TKM-130803 a une action antivirale inefficace sur des patients arrivés à un stade avancé de la maladie. D'autres études sont donc encore à mener afin de redéfinir la formulation du traitement et de réévaluer son efficacité sur d'autres sujets (56).

### 6.3.2. PMOs antisens : Phosphorodiamidate Morpholino Oligomers : AVI-7537, AVI-7539 et AVI-6002

Les PMOs sont des oligonucléotides antisens de synthèse, capables de s'apparier sur des ARNm viraux spécifiques afin d'en modifier l'expression. Ils ont une taille comprise entre 20 et 22 nucléobases. Plusieurs PMOs sont en cours d'étude pour inhiber l'expression des gènes responsables de la réplication du virus Ebola : AVI 7537 et AVI-7539. La combinaison de ces deux oligonucléotides a également été évaluée et nommée AVI-6002.

➤ Mécanisme d'action :

AVI-6002 est composé de deux PMOs : AVI-7537 et AVI-7539. Ces deux PMO ont été additionnés de groupements pipérazine en différents endroits de leur squelette afin de les charger positivement et former des *PMOplus* qui ont donc une affinité plus forte pour l'ARNm viral, chargé négativement (Figure 26). Ils forment donc des complexes plus stables avec l'ARNm viral et sont donc plus efficaces. Ils sont également résistants à la dégradation enzymatique. AVI-7537 se lie à l'ARNm viral codant la protéine VP24 et AVI-7539 s'apparie à l'ARNm viral codant la VP35. Cela a pour conséquence l'inhibition spécifique de la traduction de ces deux protéines et permet donc d'enrayer la réplication virale et d'améliorer la réponse immunitaire des patients. Pour rappel, VP24 et VP35 sont deux protéines virales qui jouent un rôle essentiel à dans la réplication virale ainsi que dans l'affaiblissement du système immunitaire des malades en inhibant la cascade d'activation des interférons (58,59).

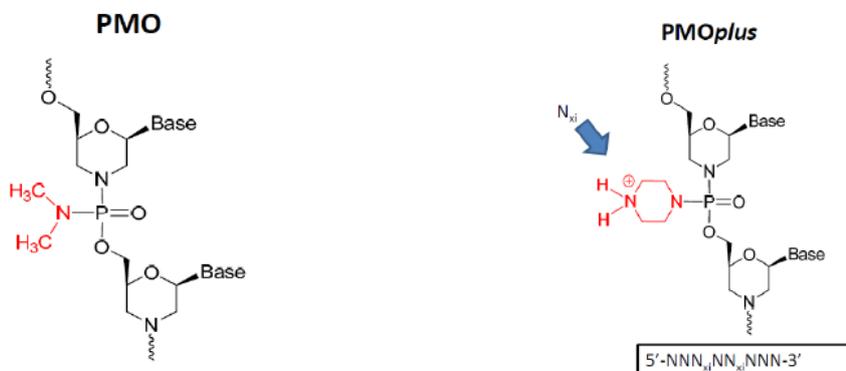


Figure 26 : structure chimique à gauche d'un PMO et à droite d'un *PMOplus*. On remarque que le *PMOplus* possède un groupement positif, qui va lui conférer une plus grande affinité de liaison à l'ARNm viral, chargé négativement.

➤ Efficacité :

Des tests précliniques réalisés en 2012, sur des souris et des porcs, ont permis de comprendre que l'inhibition de certains gènes viraux était plus importante que d'autres pour stopper la réplication virale. Ainsi, parmi les PMOs testés, seuls les PMOs ciblant VP35 (AVI-7539) et VP24 (AVI-7537) avaient une activité antivirale efficace contre le virus Ebola (Figure 27). D'autres tests ont permis de déterminer que l'association de 3 PMOs (cibles : VP24+VP35+L) était défavorable à la survie des souris par rapport à l'association des 2 PMOs (cibles : VP24+VP35), qui conférait un taux de survie de 100%. De plus, une étude chez les porcs guinéens démontre un net bénéfice de AVI-6002, avec un taux de survie de 83%, par rapport à AVI-7539 (cible VP35) et AVI-7537 (cible VP24) dont les taux de survie sont respectivement de 38% et 49%.

Les tests chez les primates ont été en revanche plus mitigés. Après inoculation du virus, les singes ont été traités avec AVI-6002. Les résultats ont montré une survie dose-dépendante et une réduction significative de la charge virale ainsi que les symptômes de la maladie. Mais récemment, AVI-7537 et AVI-7539 ont été testés indépendamment chez les primates. Les résultats ont montré que la survie à long terme du groupe traité avec AVI-7537 était supérieure à celle du groupe traité avec AVI-6002, ce qui indique que AVI-7537 serait le composant actif de AVI-6002 et pourrait être développé seul comme futur traitement pour Ebola.

En 2014, un premier essai clinique de phase I, à dose IV unique croissante, a été mené sur 30 sujets sains pour évaluer l'innocuité, la tolérance et le profil pharmacologique de AVI-6002. En se basant sur les données obtenues sur les primates, les chercheurs ont défini qu'environ 9mg/kg d'AVI-6002 devaient permettre d'avoir un taux de survie maximal chez l'homme (soit 4,5mg/kg pour chacun des deux composants AVI-7537 et AVI-7539). Les résultats ont été encourageants puisque AVI-6002 a bien été toléré et présentait peu d'effets indésirables graves. Les composants AVI-7537 et AVI-7539 présentaient également le même profil pharmacocinétique (59).

Cependant les récentes études démontrant l'efficacité de AVI-7537 vont orienter les recherches thérapeutiques dans ce sens car il nécessitera des doses d'administration moindre que AVI-6002. Des études sont actuellement en cours chez

l'homme et les primates afin d'évaluer plus précisément la dose thérapeutique de AVI-7537 assurant son efficacité et son innocuité (58,60,61).

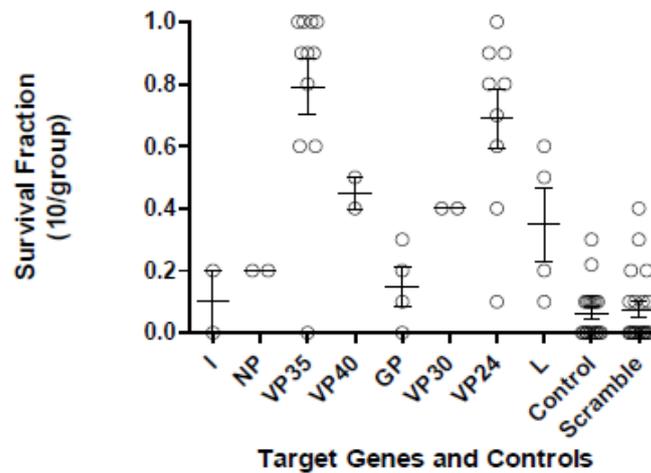


Figure 27 : taux de survie des souris traitées avec différents PMOs après inoculation du virus. Chaque transcrite du virus a été étudié afin de déterminer le PMO qui conférerait le meilleur taux de survie. Chaque cercle correspond au taux de survie (nombre de survivants/nombre de souris infectées) pour chaque expérimentation (58).

#### 6.4. Les immunomodulateurs : Interférons $\beta$ 1a

Les interférons (IFN) de type 1,  $\alpha$  et  $\beta$ , ont une activité antivirale à large spectre qui déclenche directement les mécanismes de l'immunité innée et acquise afin de neutraliser l'infection virale. Ils sont très efficaces pour traiter de nombreuses pathologies telles que l'hépatite B et C. Cependant, certains virus ont développé des mécanismes de résistance face aux interférons. C'est le cas du virus Ebola. En effet, les protéines virales VP24 et VP35 inhibent la production des IFN de type 1. Une étude a alors montré que l'administration d'interférons dès les premiers symptômes chez un patient permettait de surpasser cette inhibition (62).

##### ➤ Mécanisme d'action :

L'interféron  $\beta$ 1a est une glycoprotéine de 166 acides aminés ayant un poids de 23kDa (63). La virulence du virus Ebola est en partie due à sa capacité à déjouer la vigilance de système immunitaire en inhibant les interférons. Cependant des expériences in vitro et des tests précliniques ont démontré que l'administration d'IFN  $\beta$ 1a permettait tout de même de surpasser cette inhibition et d'augmenter la survie

chez les singes testés. Ce mécanisme est encore mal connu (64).

➤ Efficacité :

Des études ont démontré que l'administration d'IFN  $\beta$ 1a chez des singes *Rhésus* infectés par le virus Ebola a permis de prolonger leur survie (13,8 jours en moyenne versus 8,3 jours chez les témoins) mais sans réduire le taux de mortalité puisque tous les singes traités sont morts, et cela même avec des doses d'interférons plus élevées. Par ailleurs, le traitement a également permis la réduction de la charge virale et une apparition plus tardive des signes cliniques de la maladie.

Un essai clinique a donc été mené en Guinée durant l'épidémie entre mars et juin 2015 afin d'évaluer l'efficacité thérapeutique de l'IFN  $\beta$ 1a. 9 patients ont reçu le traitement par interféron (Avonex®) dans les 6 jours suivant les premiers symptômes, en plus des soins de supports dispensés sur le camp, et ont été comparés à 21 patients témoins (pris en charge avec soins de support uniquement). Pour des raisons éthiques, ce test n'a pas été réalisé par randomisation.

Les résultats de cette étude ont permis d'avancer que le traitement par IFN  $\beta$ 1a avait un impact significatif sur la durée de survie des patients en réduisant la charge virale mais également en réduisant les symptômes liés au virus : douleurs abdominales, nausées et vomissements. Malgré le petit échantillon de patients, l'étude a montré que les patients traités avaient un taux de survie supérieur aux témoins (67% versus 19%). Ainsi, le taux de mortalité dans le groupe témoin était 1,5 fois supérieure à celui du groupe traité par IFN  $\beta$ 1a.

Le traitement par IFN  $\beta$ 1a aux prémices de la maladie est donc à considérer sérieusement car accroît significativement la survie chez les patients et permet également de réduire les symptômes gastro-intestinaux. Le mécanisme d'action n'est pas encore élucidé et d'autres études sont en cours. La limite de ce traitement réside dans le dépistage précoce de la maladie auprès des populations, qui n'est pas toujours facile à réaliser.

Par ailleurs, un traitement par interféron serait à envisager en association avec d'autres traitements antiviraux afin d'obtenir une meilleure réponse thérapeutique (62,64).

## 6.5. Autres traitements

### 6.5.1. Un anticoagulant : rNAPc2

La majorité des traitements contre le virus Ebola cible la réplication virale. Une autre piste a été explorée et vise à lutter contre les hémorragies engendrées par le virus. En effet, lors d'une infection à virus Ebola, on observe une surexpression du Facteur Tissulaire (FT) dans les monocytes et macrophages des primates étudiés, responsables de coagulations intravasculaires disséminées. Un traitement inhibant le Facteur Tissulaire pourrait donc améliorer l'état du patient et réduire la fièvre hémorragique. rNAPc2 est la protéine de nématode c2 anticoagulante recombinée (*Ancylostoma caninum*) ayant pour fonction d'inhiber le complexe FVIIa/FT (Facteur VIIa étant le facteur VII de la coagulation activé, et FT, le Facteur Tissulaire). Ce composé est actuellement en phase II d'essais clinique en tant que possible nouveau anticoagulant oral dans le traitements et la prévention des accidents thrombotiques cardiovasculaires (65).

➤ Mécanisme d'action :

Le rNAPc2 est une protéine de 85 acides aminés qui inhibe directement le complexe FVIIa/FT. En effet rNAPc2 se lie d'abord au facteur Xa ou à son précurseur. Ce complexe va ainsi pouvoir se lier au le complexe FVIIa/FT pour inhiber son action dans la cascade de la coagulation (Figure 28). rNAPc2 semble agir de la même manière que le TFPI (Tissue Factor Pathway inhibition), inhibiteur de la voie du Facteur Tissulaire naturellement présent chez l'Homme et la plupart des mammifères. L'inhibition du potentiel antithrombotique du complexe FVII/FT a été démontré en phase II d'essais cliniques dans la chirurgie orthopédique et en revascularisation coronarienne.

Afin de tester le bénéfice de l'inhibition du complexe FVIIa/FT par rNAPc2 sur une infection à Ebola, des tests précliniques ont été menés sur des macaques inoculés avec le virus (65,66).

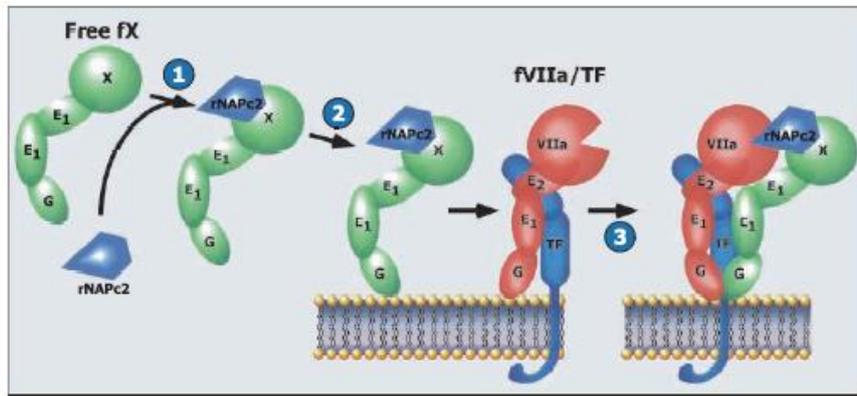


Figure 28 : schéma représentant le mécanisme d'action de rNAPc2 et le complexe quaternaire inhibiteur final. Etape 1 : rNAPc2 se lie au FX circulant, précurseur du FXa (le schéma ne représente pas la liaison au FXa). Ce complexe va se lier au complexe FVIIa/TF, formant le complexe quaternaire inhibiteur de la cascade de la coagulation [FVIIa/TF-Xa-rNAPc2](66).

➤ Efficacité :

Dans une étude préclinique menée en 2003, 12 singes ont été inoculés avec le virus Ebola puis 9 d'entre eux ont reçu le traitement de rNAPc2 en IV, 10 minutes ou 24h après infection, selon le groupe. Au total, 3 singes sur 9 ont survécu. L'expérience n'a pas mis en évidence une différence significative du temps de survie des animaux traités dans les deux groupes et les témoins. En revanche, le temps de survie des animaux traités décédés était significativement plus long que chez les singes témoins (11,7 jours versus 8,3 jours). La demi-vie du composé était de 18 à 20 heures chez les primates, plus courte que chez l'être humain (plus de 50 heures) et n'a démontré aucune toxicité aux différentes concentrations testées.

D'un point de vue physiologique, des rashes érythémateux modérés à sévères ont été observés plusieurs jours avant la mort chez tous les sujets témoins, contrairement aux singes traités chez qui ces symptômes, d'apparition de plus lente et modérée, sont survenus juste avant la mort. Par ailleurs, les singes traités ayant survécu n'ont pas développé ces rashes. D'un point de vue biologique, les D-dimères, marqueur de l'activité fibrinolytique lors d'une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), ont augmenté plus précocement chez les témoins que chez les sujets traités. Les résultats ont également démontré que les concentrations du complexe TFPI/FXa étaient considérablement plus faibles chez les sujets non traités, signe d'une coagulopathie sévère due à la consommation de TFPI. Chez les sujets ayant reçu le traitement par rNAPc2, le taux de Facteur Tissulaire plasmatique a diminué plus que

chez les témoins.

Le traitement par rNAPc2 semble donc actif contre une infection à virus Ebola, en interrompant la cascade de coagulation responsable des hémorragies. Son profil pharmacocinétique et son innocuité ont déjà été évalués chez l'Homme dans le cadre des préventions de thromboses mais des essais cliniques sont à prévoir afin d'évaluer son efficacité chez l'être humain lors d'une infection à virus Ebola. Son utilisation est à envisagée en association avec d'autres traitements (65).

#### **4.5.2. Plasmas de convalescent**

Certaines études laissent à penser que les transfusions sanguines de donneurs ayant contracté la maladie Ebola et guéris pourraient être utilisées en traitement curatif ou préventif. Les résultats sont encore mitigés. Une étude récente, publiée en 2016 n'a pas réussi à mettre en évidence l'efficacité d'un tel traitement au cours d'un essai clinique réalisé en Guinée entre février et août 2015, au cœur de l'épidémie qui a sévit en Afrique de l'Ouest. En effet, le risque de décès était de 31% dans le groupe perfusé avec du plasma de convalescent, contre 38% chez les témoins. De plus, une telle intervention nécessiterait une bonne logistique, notamment dans la gestion des banques de sang, ce qui peut s'avérer compliqué dans des pays où les infrastructures de soins sont défaillantes. D'autres études sont à venir, notamment pour évaluer l'efficacité de perfusions répétées et si cela permettrait de traiter à l'avenir les jeunes enfants et femmes enceintes (67,68).

## 7. LES VACCINS

Le développement des premiers vaccins a débuté dès la découverte du virus Ebola. Depuis, différentes plateformes vaccinales ont été mises au point et ont permis de lancer des essais précliniques. Ainsi, le développement des vaccins à ADN, des vecteurs viraux recombinants, des protéines recombinantes et des VLP (virus-like particles) ont progressé. De nombreux vaccins ont prouvé leur intérêt dans des tests précliniques et sont actuellement à l'étude dans des essais cliniques de phase I, II ou III ; la dernière épidémie ayant accéléré le processus de recherche. Cette partie détaillera les différentes stratégies vaccinales en cours de développement, présentées dans le Tableau 7 ci-dessous, afin de prévenir une prochaine épidémie.

**Tableau 7 : vaccins en cours de développement pour la maladie Ebola (69,70)**

Vaccin	Multivalent/ monovalent	Antigène et souche	Stratégie	Phase de développement clinique
<b>ChAd3-EBOV</b>	Monovalent/ bivalent	GP de EBOV et de SUDV	1 injection ou associé à un boost MVA	Phase IIb/III
<b>rVSV-EBOV</b>	Monovalent	GP de EBOV	1 injection	Phase III
<b>Ad26-ZEBOV</b>	Monovalent	GP de EBOV	En association avec un boost de MVA	Phase IIb
<b>MVA-BN Filo</b>	Multivalent	GP de EBOV, SUDV, Marburg et NP de TAFV	Utilisé en boost	Phase IIb
<b>MVA-EBOZ</b>	Monovalent	GP de EBOV	Utilisé en boost	Phase I
<b>GP VLP</b>	Monovalent	GP de EBOV	1 injection à dose élevée	Phase Ib
<b>Plasmide à ADN</b>	Bivalent	GP de EBOV et SUDV	Utilisé en boost	Phase Ib
<b>EBOVΔVP30</b>	Monovalent	Virus EBOV entier	1 injection	Phase préclinique chez les primates
<b>EBOV, souche Zaïre du virus Ebola ; SUDV, souche Soudan du virus Ebola ; TAFV, souche Taï Forest du virus Ebola ; MVA, Modified vaccinia Ankara ; GP, glycoprotéine ; NP, nucléoprotéine ; VLP, virus-like particle.</b>				

## **7.1. Les vecteurs viraux recombinants**

Les virus recombinants utilisés comme outils pour développer les vaccins sont devenus populaires en raison de leur capacité à induire des réponses immunitaires efficaces. Selon les virus utilisés, les vecteurs viraux ont conservé ou non leur capacité à se répliquer. Les vaccins les plus avancés pour prévenir la maladie Ebola sont les vecteurs viraux codant la glycoprotéine complète du virus : l'adénovirus humain recombinant, l'adénovirus simien recombinant, le virus de la vaccine recombinant (VV) et le virus recombinant de la stomatite vésiculaire (VSV) (69).

### **7.1.1. Vaccin rVSV-EBOV**

Le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) est un virus enveloppé à ARN monocaténaire qui provoque des infections chez le bétail. Chez l'homme, il peut en résulter un syndrome pseudo-grippal. Les transmissions chez l'homme étant rares, il n'y a quasiment pas d'immunité préexistante, ce qui en fait un vecteur viral intéressant pour développer des vaccins.

Le rVSV-EBOV est donc un vaccin élaboré à partir du virus de la stomatite vésiculaire (VSV) recombinant dont le génome a été modifié pour y introduire le gène exprimant la protéine GP du virus Ebola (protéine de surface permettant l'entrée du virus dans les cellules de l'hôte). La réplication de ce virus hybride rVSV-EBOV va alors déclencher la réaction immunitaire et la fabrication d'anticorps anti-GP et stopper l'infection virale à ses débuts si elle apparaît. Par ailleurs, le choix du virus de la stomatite vésiculaire comme vecteur est dû à sa capacité à stimuler le système immunitaire du patient sans déclencher de pathologie. Les protéines GP générées par le virus VSV ne peuvent en aucun cas engendrer une maladie à virus Ebola chez le sujet. Elles permettent uniquement la fabrication d'anticorps et sont donc sans risque pour le patient. Ce vaccin a été développé par le laboratoire Merck et est actuellement le plus prometteur. (69)

Après de nombreux tests précliniques concluants, un essai clinique ouvert nommé « Ebola ça suffit » a été mené en Guinée lors de la crise de 2014 afin d'évaluer l'efficacité du vaccin à prévenir l'apparition de la maladie. Ainsi, entre le 1 avril et le 20 juillet 2015, 7651 personnes ont été incluses dans l'étude. L'organisation de cet essai

clinique a reposé sur des « cercles » de vaccination, ou cluster, c'est-à-dire un ensemble de personnes ayant été en contact avec un malade. Ainsi, lorsqu'une personne était diagnostiquée porteuse du virus Ebola, on définissait la liste des contacts en fonction des liens de proximité. Les contacts directs du malade durant les 21 jours suivant les premiers symptômes (famille proche) ainsi que les « contacts de contact » (famille éloignée et voisins) constituaient un cluster.

Ainsi, 3512 personnes, réparties dans 90 clusters, ont été vaccinées. Après randomisation, 48 clusters ont reçu la vaccination immédiatement (soit 2014 personnes) et 42 clusters ont été pris en charge avec les soins habituels puis vaccinés 21 jours plus tard (soit 1498 personnes). L'injection du vaccin s'est faite dans le muscle deltoïde. Le critère principal de cette étude était la survenue de symptômes de la maladie jusqu'à 10 jours après randomisation, durée moyenne d'incubation du virus. Les résultats obtenus ont été très concluants puisque dans le groupe recevant immédiatement le vaccin, aucun cas de maladie n'a été diagnostiqué à 10 jours après la vaccination alors que 16 cas d'Ebola ont été identifiés durant cette même période dans le groupe où la vaccination a été retardée. Cela indique une efficacité vaccinale de 100%. Par ailleurs, aucun nouveau cas n'a été détecté 6 jours après vaccination dans les deux groupes. L'étude a donc conclu à l'efficacité du vaccin et à sa protection rapide.

L'efficacité de la vaccination réside dans sa planification, à savoir identifier les cercles de populations à haut risque. Avec de fortes doses, le vaccin produit des taux élevés d'anticorps anti-GP neutralisants. Cependant, les taux n'ayant été évalués qu'à J1 et à J28, aucune donnée précise sur la durée nécessaire pour offrir une immunité protectrice n'a pu être avancée. On suppose qu'elle est comprise entre quelques jours et une semaine. De plus aucune étude n'a été menée pour évaluer la persistance de la réponse immunitaire dans le temps. Ce vaccin est actuellement en phase III d'essai clinique. Une demande d'AMM sera déposée prochainement. Si elle est acceptée, rVSV-EBOV sera le premier vaccin contre Ebola disponible sur le marché (69,71,72).

### **7.1.2. Vaccin MVA-BN-EBOV Filo**

MVA-BN signifie Modified Vaccinia Virus Ankara-Bavarian Nordic. Il s'agit du virus de la vaccine vivant recombinant à réplication restreinte, dérivé de souche initiale pathogène Ankara, et produit par le laboratoire Bavarian Nordic. Ce virus a été mis au point comme vecteur viral dans la vaccination de la variole, maladie aujourd'hui totalement éradiquée. De nombreuses données cliniques ont démontré qu'il permettait d'obtenir des vaccins recombinants sûrs avec des réponses immunitaires efficaces chez l'animal et l'homme, contre des antigènes hétérologues (issus de gènes introduits dans le génome d'un virus par recombinaison génique).

Ainsi, 3 vaccins sont actuellement en développement :

- MVA-BN Filo : vaccin multivalent exprimant la glycoprotéine GP du virus Ebola, des souches EBOV (Zaïre) et SUDV (Soudan) et du virus Marburg, ainsi que la nucléoprotéine NP de la souche Taï Forest du virus Ebola. MVA-BN Filo a été inclus dans des essais cliniques de phase I en tant que boost après une première injection avec un vecteur viral à adénovirus recombinant humain Ad26 ou de chimpanzé ChAd3-EBOV. Chez les macaques, l'injection de Ad26 suivie du boost de MVA-BN Filo a permis d'obtenir une protection de 100% sur les sujets infectés par le virus. Chez l'homme, les études ont montré que le boost MVA-BN Filo injecté 3 à 10 semaines après le vaccin ChAd3-EBOV a permis d'améliorer de 10 à 20 fois les réponses humorales et cellulaires.
- MVA-BN GP : Vaccin monovalent codant la GP de EBOV. Il a été testé en boost après une première injection de ChAd3. Le paramètre clé à déterminer est l'intervalle de temps entre la première injection et le boost. Des études sur des animaux suggèrent que plus le boost est administré tardivement (jusqu'à 8 semaines après la première injection), plus la réaction immunitaire qui suivra sera importante. Cependant, des essais cliniques tentent de générer cette même réponse immunitaire avec un intervalle de 7 jours entre la première injection et le boost. Si les résultats sont concluants, cela pourrait faciliter les campagnes de vaccination.

- MVA-BN VLP : ce vaccin multivalent est capable de produire des particules virales mimant le virus Ebola à partir de l'expression des protéines VP40 et GP provenant de EBOV ainsi que la NP provenant de la souche Taï Forest. Ces particules virales virus-like (VLP pour « virus-like particles ») présentent à leur surface les protéines GP, antigènes qui vont déclencher la réponse immunitaire pour neutraliser les VLP non infectieux. Des tests chez les souris ont prouvé l'efficacité de ce vaccin à stimuler les réponses immunitaires cellulaires et humorales spécifique de la GP.

Les vaccins multivalents ont l'intérêt de présenter une plus large palette d'antigènes aux lymphocytes tueurs et donc d'améliorer la réponse immunitaire en cas d'infection.

D'autres études sont en cours pour mettre au point un vaccin efficace pouvant exprimer des protéines virales (principalement la GP, NP et VP30) de différentes souches d'Ebola mais également du virus Marburg afin d'augmenter le spectre d'efficacité et de l'utilisation du vaccin (69,73)

### **7.1.3. Vaccins utilisant des vecteurs à adénovirus**

Les adénovirus sont des virus non enveloppés à ADN double brin. Ils sont divisés en sérotypes en fonction des protéines de leur capsid. Les adénovirus humains de sérotype 5, 1 et 2 sont les plus répandus et sont responsables d'infections respiratoires bénignes.

#### **7.1.3.1. Le vecteur Ad5, adénovirus humain**

Ce vaccin utilise l'adénovirus de sérotype 5 recombinant, comme vecteur pour exprimer la glycoprotéine GP du virus EBOV. Ce vecteur viral ne peut se répliquer. Il est facile à manipuler et permet de produire une forte réponse immunitaire contre l'antigène cible, la GP en l'occurrence. Il a été testé avec succès en Chine chez des sujets sains dans un essai clinique de phase I. Un essai clinique de phase II a donc été lancé en Sierra Leone en octobre 2015 sur des sujets sains afin d'évaluer son efficacité, son innocuité ainsi que la dose optimale à administrer dans une population endémique du virus Ebola. Les résultats ont été mitigés car les anticorps anti-GP n'ont pas persisté dans le temps. Le pic d'anticorps apparaît 28 jours après la vaccination,

mais à 6 mois le taux d'anticorps anti-GP a chuté de 85%. Cela signifie qu'un rappel est nécessaire afin d'avoir une protection durable dans le temps. Par ailleurs, les données obtenues entre la Chine et la Sierra Léone ne sont pas similaires. Ainsi, en Sierra Léone, aucune différence significative d'efficacité n'a été observée entre une dose de vaccin de  $8 \times 10^{10}$  et une dose de  $1,6 \times 10^{11}$  particules virales. De nombreux effets secondaires mais sans gravité, notamment au site d'injection, ayant été relevés à la dose la plus élevée, la dose optimale retenue a donc été celle de  $8 \times 10^{10}$  particules virales (versus  $1,6 \times 10^{11}$  en Chine). De plus, environ 85% de la population en Sierra Léone est déjà immunisée contre l'adénovirus type 5, ce qui limite l'utilisation de ce virus comme plateforme pour le vaccin. Par ailleurs, il semblerait que les anticorps des populations endémiques persistent moins bien dans le temps que ceux des populations non-endémiques. Bien que ce vaccin ait une protection limitée dans le temps, rendant son utilisation plus complexe et exigeant des rappels, des études de phase III vont être réalisées afin de réévaluer son efficacité en zone endémique (69,74).

#### 7.1.3.2. Schéma vaccinal Ad26-ZEBOV suivi d'un boost de MVA-BN-Filo

Le vaccin Ad26-ZEBOV est conçu sur le même schéma que les précédents. Il utilise un vecteur à adénovirus humain recombinant Ad26 exprimant la GP d'EBOV pour générer une réponse immunitaire avec des anticorps anti-GP spécifiques. Les tests chez les primates ont révélé une réponse immunitaire correcte mais partielle.

Un essai clinique de phase I réalisé au Royaume Uni a été mené pour évaluer l'innocuité et l'immunogénicité de l'association de deux vaccins : Ad26-ZEBOV et MVA-BN-Filo. Le vecteur MVA-Filo exprime la GP d'EBOV (comme Ad26-ZEBOV), de SUDV et de Marburg ainsi que la NP de TAFV. La groupe A a d'abord reçu le vaccin Ad26-ZEBOV puis l'injection boost de MVA-BN-Filo 28 ou 56 jours plus tard selon le sous-groupe. Le groupe B quant à lui recevait le protocole inverse à savoir une première injection de MVA-BN-Filo suivie 28 ou 56 jours plus tard d'un boost de Ad26-ZEBOV selon le sous-groupe. Aucun effet secondaire grave n'a été observé dans les deux groupes hormis un peu de fièvre transitoire. Les résultats ont montré que les taux d'anticorps anti-GP à 28 jours (donc juste avant la dose de boost) étaient détectés chez 97% des sujets recevant en premier le vaccin Ad26-ZEBOV, avec un titre en

anticorps anti-GP d'environ de 531 unités/ml avant le boost à J28 et de 581 unités/ml avant le boost à J56, versus seulement 23% dans le second groupe recevant en premier le vaccin MVA-BN-Filo, avec un titre en anticorps anti-GP très faible (inférieur à 50 unités/ml) avant l'injection du boost à J28 ou J56. Dans les deux groupes, les titres en anticorps ont atteint un maximum après le boost injecté à J56 avec un titre en anticorps à J78 de 18573 unités/ml dans le groupe ayant débuté le protocole par MVA-BN-Filo et 7553 unités/ml dans celui ayant débuté par Ad26-ZEBOV (Figure 29).

Dans les deux groupes, les anticorps anti-GP ont persisté pendant la période d'observation de 240 jours (8 mois) après le boost. De plus, 7 jours post boost, au moins 86% des sujets ont montré des réponses de lymphocytes T spécifiques d'Ebola. L'ensemble de ces résultats a permis de suggérer que le vaccin Ad26-ZEBOV devrait être injecté en premier, car il a fourni une réponse immunitaire efficace et rapide dès les premiers jours suivant l'injection, et doit être suivi par un boost de MVA-BN-Filo pour renforcer cette réponse immunitaire et la faire persister dans le temps.

Les limites de ce schéma vaccinal sont liées à la population testée. En effet, la population britannique n'est pas endémique du virus Ebola et n'est donc pas représentative de la population qui devrait bénéficier de cette vaccination. Plus généralement, les populations occidentales ne sont pas en contact avec les mêmes pathogènes que ceux de l'Afrique Subsaharienne et ne développent donc pas la même immunité. Alors que les titres en anticorps anti-adénovirus 26 sont rares en occident, jusqu'à 60% des adultes d'Afrique Subsaharienne présenteraient une immunité virale faible à modérée (jusqu'à 1000 unités/ml) et jusqu'à 6% d'entre eux une immunité élevée (supérieure à 1000 unités/ml). Cela pourrait avoir des conséquences en terme d'efficacité vaccinale. Ce schéma vaccinal testé par le laboratoire Janssen fera l'objet d'études cliniques de phase II et III afin d'évaluer son efficacité dans les zones endémiques (73,75).

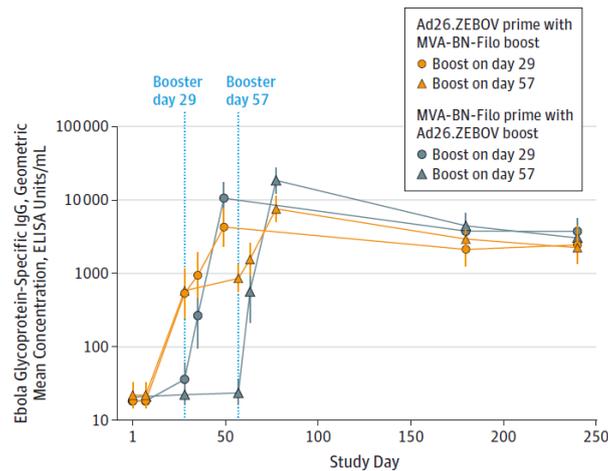


Figure 29 : titres en anticorps spécifiques anti-GP dans les 2 groupes randomisés en fonction du temps. En ordonnée, le titre en anticorps spécifique anti-GP Ebola exprimé en Unité/ml après dosage par méthode Elisa, et en abscisse le nombre de jours d'observation. Le jour 1 correspond à la première injection. Les boosts à J29 et J57 sont indiqués sur le graphique. Les courbes orange correspondent au groupe A recevant d'abord le vaccin Ad26-ZEBOV et subdivisé en 2 sous-groupes, l'un recevant le boost de MVA-BN-Filo au 29<sup>ème</sup> jour de l'étude (soit 28 jours après la première injection) et le second au 57<sup>ème</sup> jour de l'étude. Le groupe B est représenté par les courbes bleues et correspond au schéma vaccinal inverse, à savoir l'injection en premier du vaccin MVA-BN-Filo suivi 28 ou 58 jours plus tard de l'injection boost de Ad26-ZEBOV (75)

### 7.1.3.3. ChAd3-EBOV-Z : vaccin à vecteur adénovirus de chimpanzé recombinant

C'est un vaccin également très prometteur. Il utilise l'adénovirus de chimpanzé de sérotype 3, rendu incapable de se répliquer, comme vecteur pour exprimer les glycoprotéines GP du virus Ebola, souche Zaïre et Soudan. L'adénovirus de chimpanzé ayant une très faible prévalence dans la population humaine, l'utilisation d'un tel virus comme vecteur vaccinal permettrait d'obtenir une réponse vaccinale homogène quelle que soit la population humaine étudiée (zone endémique ou non). Le développement de ce vaccin par le laboratoire GlaxoSmithKline s'est accéléré durant l'épidémie de 2014 et les premiers essais cliniques de phase I réalisés aux États-Unis et au Mali ont été encourageants. Dans ces deux études, des doses croissantes de vaccin ont été injectées dans plusieurs groupes. Une dose comprise entre 1 et  $2 \cdot 10^{11}$  PFU (Plaque Forming Units) a permis d'obtenir une réponse immunitaire optimale. Le taux maximal d'anticorps anti-GP a été obtenu à la 4<sup>ème</sup> semaine après vaccination, a diminué légèrement ensuite, mais est resté très élevé jusqu'à la 48<sup>ème</sup> semaine, ce qui a démontré une immunité durable (Figure 30).

Ce vaccin a également été testé avec un boost de MVA-BN-VLP, injecté environ 14 semaines après la première vaccination. Ce boost a permis de maintenir une

protection durable avec un taux d'anticorps anti-GP important. En effet, les taux d'anticorps anti-GP ont augmenté de façon significative après le boost, atteignant des valeurs supérieures à celles obtenues avec le vaccin ChAd3-EBOV-Z seul. Ainsi, l'introduction d'un vaccin boost, tel que MVA-BN Filo, quelques mois après le premier vaccin pourrait être intéressant pour les professionnels de santé sur le terrain dans les zones à haut risque, afin d'être protégé durablement et efficacement de la maladie. Par ailleurs, aucun effet secondaire lié à la vaccination n'a été rapporté dans chacune des études. (69,76,77).

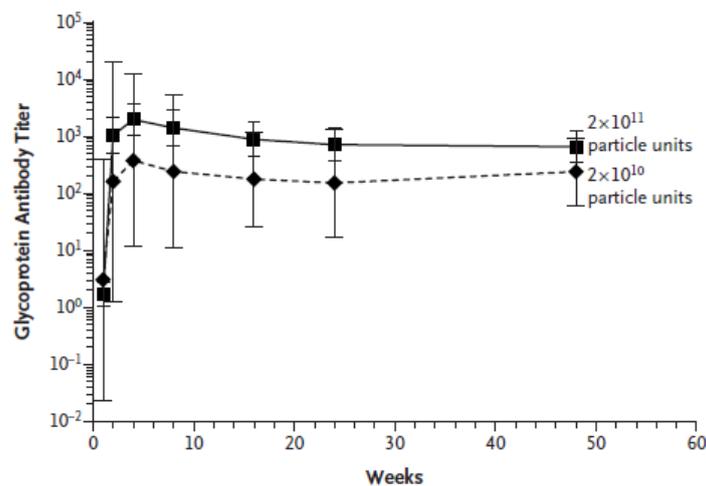


Figure 30 : persistance du taux d'anticorps anti-GP mesurés par test ELISA, après injection du vaccin ChAd3-EBOV-Z. Les taux d'anticorps anti-GP ont été évalués dans deux groupes de patients, l'un recevant une dose de  $2 \times 10^{10}$  PFU et l'autre  $2 \times 10^{11}$  PFU, pendant les 48 semaines suivant la vaccination. L'injection de  $2 \times 10^{11}$  PFU a permis d'obtenir la meilleure réponse immunitaire. Dans les deux cas, le taux maximal d'anticorps anti-GP a été obtenu à la 4<sup>ème</sup> semaine. (77)

## 7.2. Les vaccins à ADN

Une autre piste concerne le développement d'un vaccin à ADN. En effet, ce type de vaccin peut être aisément adapté aux différentes souches virales et être produit en grande quantité. Il consiste en un plasmide bactérien dans lequel sont insérés les antigènes d'intérêt. Cet « ADN immunogène » est ensuite injecté par voie intramusculaire. Après pénétration dans les cellules près du point d'injection, il sera transcrit puis traduit et les antigènes d'intérêt seront alors présentés au système immunitaire. Ils ne sont pas infectieux mais permettent d'induire une réponse immunitaire humorale et cellulaire. Ces vaccins ont déjà été évalués pour un certain

nombre de maladies (VIH, hépatite B et C) et ont un bon profil d'innocuité, même si aucun n'est actuellement sur le marché. En revanche, la réponse immunitaire est faible et nécessite des doses vaccinales élevées et répétées. Ainsi deux vaccins ont été testés dans des essais cliniques de phase I. Le premier code la GP et la NP de EBOV ainsi que la GP de SUDV. Des effets secondaires légers à modérés ont été observés. Les résultats ont montré qu'il était nécessaire d'injecter de façon répétée des doses élevées de vaccin afin d'obtenir un fort titre en anticorps.

Le second vaccin développé comprend deux plasmides, l'un exprimant la GP de EBOV, l'autre exprimant celle de SUDV. Testé sur des individus sains aux Etats-Unis, la réponse immunitaire générée chez 70% des sujets a nécessité 4 injections pour avoir un titre en anticorps élevé et persistant dans le temps. Ce vaccin a également été testé en Ouganda chez des sujets sains, en co-administration avec un autre vaccin à ADN codant la GP du virus Marburg. La réponse immunitaire a été similaire à celle observée chez les américains et aucune interférence entre les anticorps d'EBOV et de Marburg n'a été observée. Les limites de ce type de vaccin réside dans la répétition des doses et la nécessité d'un boost afin d'obtenir des titres en anticorps élevés et une réponse immunitaire persistante (69).

### **7.3. Les vaccins à virus entier EBOVΔVP30**

Des essais précliniques chez les primates ont démontré qu'un vaccin basé sur le virus entier Ebola, dont la réplication a été inactivée, était une piste potentielle de prévention contre la maladie. Le vaccin EBOVΔVP30 a été conçu de telle sorte que la région du génome codant pour la protéine VP30, impliquée dans la transcription, soit manquante. Les vaccins à virus entier atténué ou inactivé ont permis de mettre au point des vaccinations efficaces comme dans le cas de la grippe et de la rougeole par exemple. L'avantage d'une telle stratégie réside dans le fait qu'il présente au système immunitaire toutes les protéines virales ainsi que le génome du virus, permettant de déclencher une réponse immunitaire plus large et plus robuste. En comparaison, les vaccins vectorisés ne présentent que quelques antigènes au système immunitaire. Le vaccin EBOVΔVP30 testé sur les primates a permis d'obtenir un taux de survie de 100% après inoculation du virus Ebola. Une seule injection est suffisante pour obtenir

une réponse immunitaire suffisante. Etant donné que le développement de ce vaccin repose sur le virus entier Ebola, la production doit se faire impérativement dans un laboratoire de niveau 3. Des tests plus poussés seront menés afin de mettre au point un vaccin efficace (70).

#### **7.4. Les vaccins à VLPs (Virus-like particles)**

Ces vaccins sont issus d'une approche basée sur les protéines du virus. Des structures multiprotéiques imitent l'organisation et la conformation de virus natifs mais sans le génome viral, donnant ainsi lieu à des candidats vaccins plus sûrs et à moindre coût. Actuellement, les vaccins VLP sont commercialisés dans le monde pour vacciner contre l'hépatite B et le Papillomavirus humain. Des VLP composés de la glycoprotéine GP et la nucléoprotéine NP du virus Ebola sont en cours de développement et présentent des résultats encourageants. Suite à l'épidémie récente de 2014-2015, un premier vaccin EBOV-GP-VLP a été mis au point et testé dans un essai clinique de phase I. Les résultats sur l'innocuité et l'immunogénicité sont encourageants d'après l'OMS (69).



## 8. BILAN DE L'ÉPIDÉMIE DE 2014-2015 EN AFRIQUE DE L'OUEST

Avant 2014, le virus Ebola a été responsable de 21 épidémies en Afrique Centrale. Depuis 1976, année de découverte du virus, la maladie a engendré de nombreuses épidémies mortelles à travers plusieurs pays d'Afrique Centrale, et en 2000, l'Ouganda a subi une épidémie qui avait comptabilisé le plus grand nombre de cas (425 cas) pour un seul pays.

L'épidémie de 2014-2015 a fait beaucoup parler d'elle puisqu'elle est la plus meurtrière avec 28 616 cas et plus de 11 300 morts (Figure 31). Cette épidémie, comme les précédentes, s'est répandue comme une traînée de poudre et le diagnostic a été long à établir. Ainsi, entre le décès de la première victime de la maladie le 26 décembre 2013, et le déclenchement de l'état d'urgence par l'OMS le 23 mars 2014, il s'est écoulé 3 mois. Durant cette période, aucune mesure de prévention des populations et d'isolement des patients n'a été mise en place. Contrairement aux épidémies précédentes, celle-ci s'est déroulée pour la première fois en Afrique de l'Ouest, en frappant successivement la Guinée, le Libéria et enfin la Sierra Léone, pays parmi les plus pauvres du monde (78).

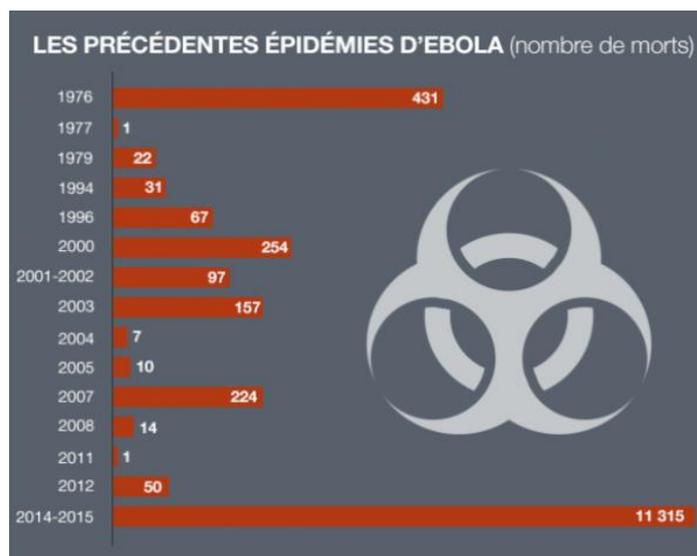


Figure 31 : Nombre de décès au cours de précédentes épidémies d'Ebola (10)

## **8.1. Circonstances d'apparition de l'épidémie**

Le 26 décembre 2013, un enfant de 18 mois décède en deux jours des suites d'une maladie responsable de fièvre, de selles noires et de vomissements. Cet évènement s'est déroulé en Guinée Forestière dans le village éloigné de Méliandou, dans le district de Guéckédou. La forêt autour a été en partie détruite pour exploiter les mines et le bois, ce qui a eu pour conséquence de rapprocher les animaux sauvages des villages. Certains de ces animaux, comme les chauves-souris, dont certaines sont des réservoirs naturels du virus Ebola, sont potentiellement infectés. Quelques jours plus tôt, l'enfant avait d'ailleurs été vu en train de jouer à proximité d'un arbre creux infesté de chauves-souris. Au cours de la 2<sup>ème</sup> semaine de janvier 2014, les membres de la famille directe de l'enfant ont développé les mêmes symptômes de la maladie avant de décéder rapidement. Les sages-femmes et guérisseurs du villages sollicités pour prodiguer les soins chez ces malades, ainsi que certains soignants de l'hôpital de Guéckédou qui les avaient pris en charge, sont également décédés. Une semaine plus tard, des membres de la famille éloignée du garçon ayant assistés aux funérailles succombent à leur tour de la maladie. Pendant ce temps, la maladie s'est propagée dans plusieurs sous-districts, suite à l'exposition non protégée des malades et lors des funérailles.

Cette maladie mortelle soudaine a déclenché une première alerte, le 24 janvier 2014, par le chef du poste de santé de Meliandou aux autorités sanitaires du district. Une enquête a été menée par des professionnels de santé dans le village. Les signes cliniques évoqués ont fait penser à ceux du choléra (déshydratation sévère, diarrhées, vomissements) mais aucun diagnostic n'a fermement été posé. Le 27 janvier, une équipe de Médecins Sans Frontière (MSF) s'est rendue au village pour faire des prélèvements et réaliser des analyses plus poussées qui semblaient confirmer une épidémie de choléra.

L'épidémie s'est étendue et a touché Conakry, la capitale, le 1<sup>er</sup> février, importée par un parent du 1<sup>er</sup> enfant infecté qui décèdera 4 jours plus tard dans un hôpital. Malheureusement ne sachant pas qu'il s'agit du virus Ebola, l'équipe soignante n'a pris aucune mesure d'isolement, entraînant de nouveaux cas. Ainsi, en quelques semaines, la maladie s'est propagée à travers tout le pays (Figure 32 et Figure 33).

Le 13 mars, le bureau régional de l’OMS en Afrique (AFRO) a lancé une alerte de situation d’urgence pour cette maladie non identifiée, suspectée maintenant d’être la fièvre de Lassa, une maladie à fièvre hémorragique. Du 14 au 25 mars, l’OMS, le ministère de la santé de Guinée et Médecin Sans Frontières ont réalisé une investigation de grande envergure dans plusieurs villes du pays. L’enquête a permis de recouper les flambées et d’établir des liens entre elles avec pour origine la ville de Guéckédou. Cependant la maladie est encore non identifiée et la cause inconnue.

Des échantillons ont donc été envoyés à l’Institut Pasteur de Lyon. Le 23 mars, les résultats ont confirmé que l’épidémie était due à un filovirus, celui de la souche Zaïre du virus Ebola, la plus virulente. L’OMS a annoncé ce même jour la flambée à virus Ebola, d’évolution rapide. Officiellement, 49 cas et 29 décès ont déjà été recensés (78).



Figure 32 : propagation de la maladie en Guinée depuis la ville de Guéckédou (79)

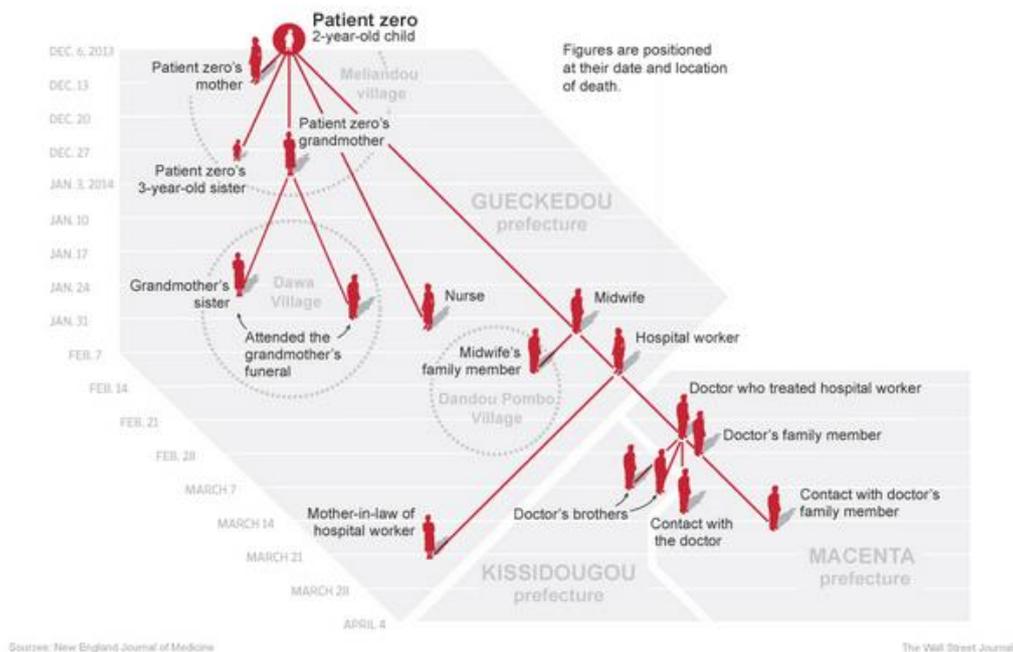


Figure 33 : les débuts de la chaîne de transmission du virus Ebola en Guinée, adapté de la publication « Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea » (79)

## 8.2. Les facteurs de la propagation du virus

Toutes les précédentes épidémies mortelles à virus Ebola se sont déroulées en Afrique Centrale, notamment en République Démocratique du Congo (RDC), en Ouganda, au Soudan, au Gabon et en République du Congo. Touchés à plusieurs reprises depuis près de 40 ans, ces pays sont désormais formés à la gestion d'une telle crise malgré leurs systèmes de santé encore fragiles. Une infection à Ebola est suspectée dès qu'une maladie mystérieuse est signalée, ce qui permet d'établir un diagnostic précoce et les échantillons sont rapidement analysés dans des laboratoires compétents. Dans les hôpitaux, le personnel est formé à la lutte contre les infections, les patients isolés (à Kinshasa, capitale de la RDC, l'hôpital dispose de services d'isolement) et les premiers traitements de base (réhydratation) sont prodigués efficacement. La maladie, généralement confinée aux zones rurales bien identifiées, est rapidement endiguée en quelques mois.

La virulence de l'épidémie de 2014-2015 est la conséquence de multiples facteurs défailants des systèmes de santé dans les 3 pays touchés : La Guinée, le Libéria et la Sierra Léone. Ces pays font partis des plus pauvres du monde et leur situation

politique et économique est instable. Les infrastructures de santé sont donc détruites ou endommagées et on ne compte qu'un médecin ou deux disponibles pour 100 000 habitants. Ces pays ne sont donc pas préparés pour faire face à une épidémie de cette nature. De plus, cette maladie ancienne, qui réapparaît brutalement dans une zone qui n'avait jamais été touchée auparavant, est difficilement identifiable à ses débuts. En effet les premiers symptômes font penser au paludisme, au choléra et à la fièvre de Lassa, maladies courantes en Afrique de l'Ouest. De ce fait, aucune précaution n'a été prise dès les premiers cas signalés. Par ailleurs, la souche Ebola Zaïre, responsable de l'épidémie, est la plus mortelle, et bien que légèrement différente de celle ayant été responsable des épidémies en RDC par le passé, les services de santé ont souligné l'importance de stopper la progression d'un virus qui s'adapte vite. Les autorités ont également dû faire face à l'incompréhension des populations face à cette maladie qui les a frappés de plein fouet.

Aux défaillances du système sanitaire, avec l'épuisement et la contamination du personnel soignant, s'ajoutent les croyances culturelles. Le culte des morts, extrêmement important dans les zones rurales, dominées par les chefs de village, a été responsable, en Sierra Léone, de 80% des contaminations d'après l'OMS. En effet certains rituels funéraires consistaient à se baigner avec l'eau de rinçage utilisée pour préparer les défunts, mais également de dormir plusieurs nuits auprès d'eux afin de garantir la transmission de pouvoirs. Ces dépouilles infectieuses ainsi que les soins prodigués par des guérisseurs traditionnels ont été responsables de l'augmentation exponentielle des nouveaux cas. Par ailleurs, en plus d'un accès très limité aux soins, les taux de mortalité élevés dans les hôpitaux ont contribué à promouvoir la rumeur selon laquelle ces lieux transmettaient la maladie et la mort. Les malades ont donc été dissimulés par les familles dans les villages et soignés avec des méthodes traditionnelles, ignorant les précautions recommandées par les autorités, ce qui a engendré encore de nouveaux cas.

Ces trois pays, aux frontières poreuses, sont également caractérisés par une population sept fois plus mobile que dans le reste du monde. Les familles sont éclatées à travers plusieurs pays pour se nourrir et travailler. Ainsi, lorsque la maladie commençait à régresser dans l'un des pays, cela avait pour conséquence d'attirer les populations et les malades des pays voisins en recherche de soins et de lits disponibles, relançant la chaîne de transmission malgré les actions engagées par le

gouvernement et les ONG. Les vols internationaux ont également permis à des voyageurs d'exporter la maladie au Nigéria et aux Etats-Unis, ce qui a accentué la médiatisation de l'épidémie et créé un climat anxiogène à travers le monde.

À mesure de la progression des flambées épidémiques, la population, majoritairement pauvre et privée d'éducation, est devenue suspicieuse devant les hôpitaux encadrés de barbelés, les équipes de désinfection des foyers et les centres anti-Ebola dont le personnel portait des combinaisons de protection impressionnantes. De plus, des inhumations de malades sont réalisées par les militaires dans des conditions d'asepsies qui ne pouvaient malheureusement prendre en compte certaines coutumes ancestrales, générant de l'indignation auprès de la population. Les messages de prévention ont également alimenté un climat d'anxiété face à une maladie qui n'a ni traitement, ni vaccin. Les malades préféraient alors se cacher pour éviter d'être stigmatisés et rejetés de leur communauté au lieu de se rendre dans un centre de traitement.

Les précédentes épidémies avaient la particularité d'être confinées aux zones rurales. Au contraire, en Afrique de l'Ouest, le virus s'est répandu depuis les villes pour finalement toucher de nombreux districts dans les 3 pays, ce qui a compliqué la riposte organisée par les ONG en termes de logistique et de prévention. De plus les flambées persistaient et se déplaçaient à travers les pays à la manière de feux de forêts. L'identification des contacts de malades, la prise en charge des enfants orphelins, l'approvisionnement en soins et nourriture, la création de nouveaux cimetières ont sollicité toutes les ressources des ONG, constamment débordées. La défiance de la population envers ces dernières s'est apaisée dès lors que des volontaires locaux ont commencé à participer aux actions de prévention et de prise en charge des malades. Durant toute l'épidémie, l'OMS a coordonné les opérations sur le terrain, collaborant avec MSF, Save the Children, la Croix Rouge, Center for Disease Control and Prevention et bien d'autres.

Le 29 mars 2016, plus de deux années après le premier cas, l'épidémie en Afrique de l'Ouest prend officiellement fin (80).

### **8.3. Situation en Guinée, Libéria et Sierra Leone durant la crise**

Bien que la Guinée fût à l'origine de l'épidémie, le Libéria et la Sierra Leone ont encore plus souffert de la propagation fulgurante de la maladie. En effet, Guéckédou, la ville de Guinée où tout a débuté, se situe à proximité de la frontière du Libéria et de la Sierra Leone, ce qui a facilité les flambées dans les trois pays (Figure 34). Une logistique extrêmement défaillante a ralenti la riposte et a alimenté les chaînes de transmissions.

La Guinée a subi des flambées par vague successives et persistantes. La résistance communautaire a été à l'origine d'émeutes violentes. Le pays a vite été débordé avec près de 40% des agents de santé guinéens infectés et un manque de place dans les centres de traitement tenus par les ONG qui ont tardé à se construire. La maladie s'est alors propagée à travers tout le pays et a traversé les frontières. Ainsi, des malades se rendaient en Sierra Leone pour bénéficier des soins d'une guérisseuse réputée. Cette dernière finit par décéder et sera à l'origine de 365 morts, lançant une nouvelle chaîne de transmission à travers toute la Sierra Leone. Le pic de l'épidémie est enregistré en octobre 2014 où plus de 300 cas sont rapportés (Figure 35). Au 30 mars 2016, fin de l'épidémie, 3811 cas ont été déclarés en Guinée dont 2543 morts.

L'épidémie en Sierra Leone a débuté lentement et silencieusement. Les premiers cas ont été déclarés début avril 2014 et l'épidémie s'est intensifiée jusqu'à mi-juin, où l'état d'urgence a été déclaré. Le nombre de décès croissant a, une nouvelle fois, multiplié les chaînes de transmission. C'est dans ce pays que la maladie a finalement été la plus fulgurante, et où la capitale, Freetown, est devenu le nouvel épice. Les autorités et les ONG ont rapidement fini par être débordées. Des malades signalés pouvaient attendre plusieurs jours chez eux avant d'être pris en charge. À la demande de la population, des tentes d'isolement des familles ont donc été montées dans les villages afin de limiter les contaminations. Le mois de novembre 2014 a enregistré le plus fort nombre de cas. Ainsi plus de 500 cas ont été notifiés, soient trois fois plus qu'au Libéria et en Guinée réunis (Figure 35). Cela a déclenché l'opération Western Area Surge, un partenariat avec la Fondation Bill Gates, l'OMS, MSF et le gouvernement du Royaume Uni afin d'organiser efficacement la riposte. Au

30 mars 2016, date de fin de l'épidémie, 14124 cas ont été recensés et 3965 personnes sont décédées, dans un pays comprenant seulement 6,2 millions d'habitants.

Les premiers cas au Libéria ont été déclarés le 30 mars 2014 dans le quartier de Lofa à proximité de la frontière Guinéenne, puis la maladie a atteint la capitale Morovia. La maladie, d'abord modérée, a fini par éclater courant juin dans les grandes villes avant de devenir incontrôlable. Le pic de l'épidémie se situe durant le mois de septembre, avec plus de 500 cas déclarés (Figure 35). L'Etat a fini par rendre l'inhumation par crémation obligatoire. Le personnel soignant du seul grand hôpital du pays a particulièrement été touché, ce qui a ralenti la prise en charge et a engendré encore plus de nouveaux cas. La chaîne de transmission dans les grandes villes s'est stabilisée fin octobre pour finalement être relancée dans les zones rurales difficiles d'accès. L'intervention de l'OMS et des autorités a permis de stopper la progression du virus à travers le pays. À la fin de l'épidémie, la maladie a touché 10675 personnes et fait 4809 morts d'après l'OMS (81–84).

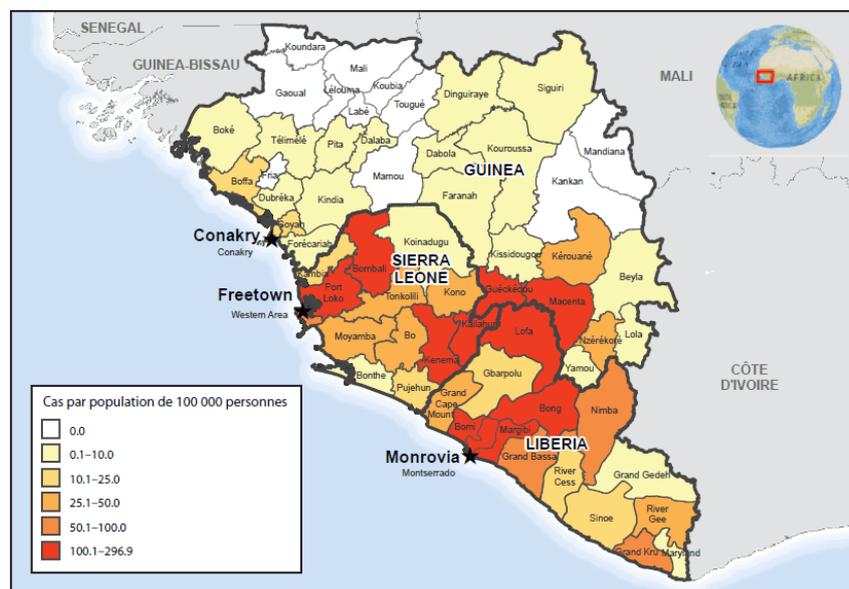


Figure 34 : incidence de la maladie à virus Ebola - Afrique de l'Ouest, 18 octobre 2014, au plus fort de l'épidémie (85)

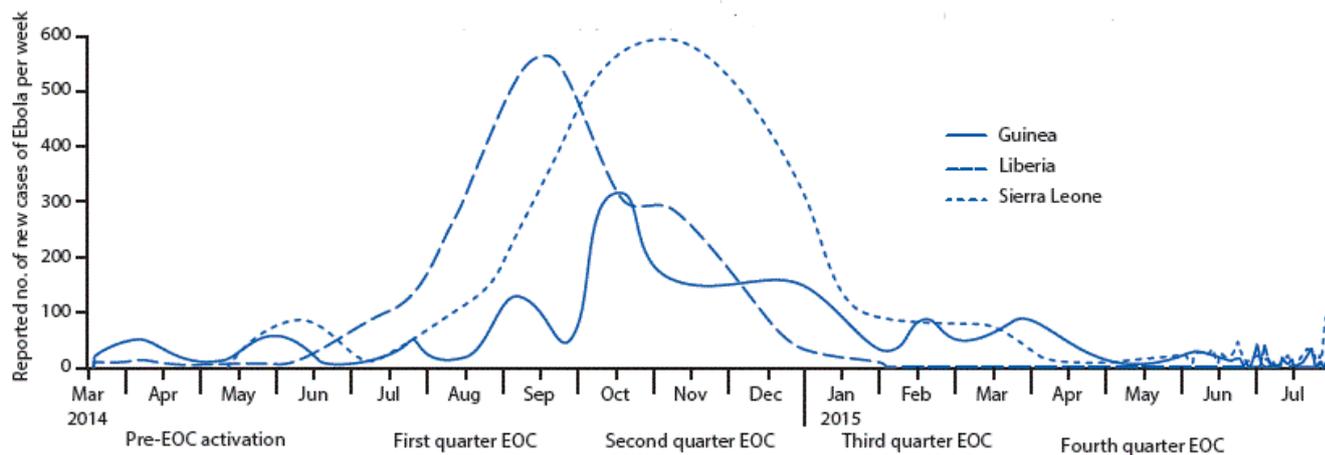


Figure 35 : ce graphique présente le nombre de nouveau cas de maladie à virus Ebola au cours de l'épidémie de 2014-2015 en Guinée, Libéria et Sierra Leone (86).

	Nbre de Cas	Nbre de Décès	%
Guinée	3805	2533	66,57
Sierra Leone	13911	3955	28,43
Liberia	10666	4806	45,08
Nigeria	20	8	40
Mali	8	6	75
Sénégal	1	0	0
Espagne	1	0	0
Grande Bretagne	1	0	0
États-Unis	4	1	25
Total	28417	11309	39,8

Figure 36 : nombre de cas et de décès lors de l'épidémie d'Ebola au 1er octobre 2015 (11)

#### **8.4. Cas sporadiques dans les pays frontaliers et réémergence de la maladie en République Démocratique du Congo**

Des cas sporadiques de maladie à virus Ebola ont été notifiés dans d'autres pays frontaliers tels que le Mali, le Sénégal et le Nigéria mais ont été très rapidement neutralisés, n'excédant pas 15 décès pour ces trois pays cumulés (Figure 37). L'excellente prise en charge dans ces pays est due à des infrastructures adaptées, des laboratoires d'analyse de haute qualité travaillant avec l'OMS et une logistique organisée et réactive menée par les Chefs d'Etats.

Au Nigéria, le premier cas a été déclaré le 23 juillet 2014, chez un patient qui ne survivra pas, dont la sœur est décédée de la maladie au Libéria. Une excellente riposte de la part des autorités locales a permis d'endiguer l'épidémie de façon spectaculaire, limitant les décès au nombre de 7 sur les 19 cas. Le 20 octobre 2014, l'OMS déclare la fin de l'épidémie au Nigéria.

Au Sénégal, le premier cas est confirmé le 29 août 2014 chez un jeune homme en provenance de Guinée où il avait été en contact avec un malade atteint d'Ebola. Dakar, la capitale, abrite L'institut Pasteur et ses laboratoires, une fondation sénégalaise d'excellence approuvée par l'OMS. Les autorités locales ont déployé beaucoup de moyens pour recenser les contacts du patient. Le jeune homme a rapidement été pris en charge et sauvé. Au final, aucun autre cas n'a été déclaré dans le pays, officiellement exempté de transmettre la maladie le 17 octobre 2014 après les résultats négatifs du second tests effectués sur le seul cas.

Au Mali, le premier cas déclaré le 23 octobre 2014 est celui d'un enfant de deux ans, décédé, en provenance de Guinée. Le pays a mobilisé toutes ses ressources en recherchant tous les cas contacts. Au total 6 patients sont décédés sur les 8 cas recensés. L'épidémie a officiellement été terminée en novembre 2015.

Quant à la réémergence de cas d'Ebola en République Démocratique du Congo qui a débuté le 24 août et s'est terminée le 21 novembre 2014, il s'agissait d'une épidémie localisée et indépendante de la flambée en Afrique de l'Ouest. Le premier cas était une femme enceinte mariée à un chasseur. Il s'agissait alors de la 7<sup>ème</sup> flambée d'Ebola dans le pays. La RDC a donc très bien géré cette crise en organisant

la détection des cas et des contacts, en mettant en place des centres d'isolement et en réalisant des inhumations sans risques. Au total, 66 cas et 49 décès ont été recensés dans le pays. (87,88)

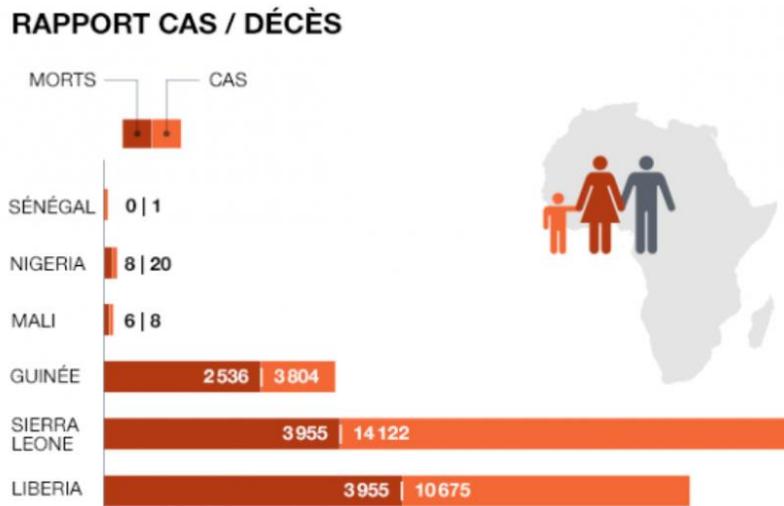
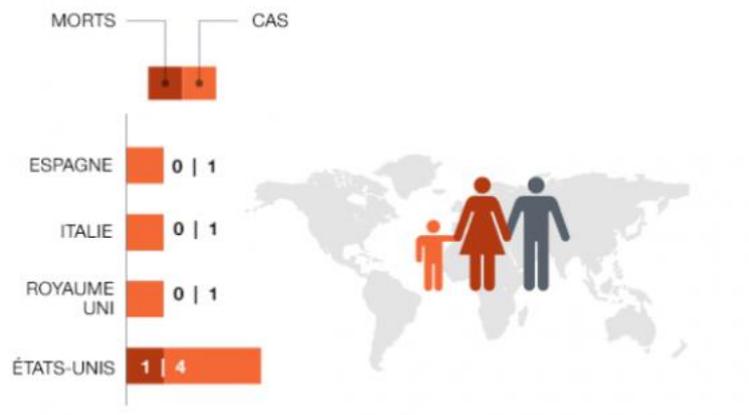


Figure 37 : graphique représentant le nombre de cas et de décès en Afrique de l'Ouest (89).

## 8.5. Cas exportés dans le monde

Les voyages internationaux ont exporté la maladie Ebola depuis l'Afrique de l'Ouest jusqu'en occident. Ainsi, des cas isolés aux Etats-Unis, en Europe et en Espagne ont contribué à alimenter le climat anxiogène et la peur d'une pandémie. Comme le montre la figure ci-dessous (Figure 38), seulement un décès a été recensé aux USA.

L'épidémie de 2014-2015 a fait entrevoir les risques qu'une maladie, à priori restreinte à une région d'Afrique, pourraient engendrer si elle se propageait dans d'autres pays du monde, notamment dans les pays à forte densité de population.



**Figure 38 : nombre de cas et de décès enregistrés en dehors de l'Afrique suite à des exportations (89)**

## **9. PRISE EN CHARGE DANS LES CENTRES DE TRAITEMENT EBOLA AU COURS DE L'ÉPIDÉMIE DE 2014-2015**

Dès le début de l'épidémie, l'OMS a déployé le Réseau Mondial d'Alerte et d'Action en cas d'épidémie (GOARN – Global Outbreak Alert and Response Network), un réseau multidisciplinaire, en partenariat avec les autorités locales et les ONG. L'objectif était d'établir des stratégies de riposte et de prise en charge des malades dans les trois pays. Il s'agissait également de prendre des mesures de préventions afin d'informer et encadrer les populations. Dans cette partie, nous verrons comment s'est organisée la prise en charge dans les trois pays au sein des centres de traitement Ebola (CTE).

### **9.1. Les Centres de Traitement d'Ebola**

Les centres de traitement d'Ebola (CTE) ont fait partie des premières mesures à avoir été mises en place durant l'épidémie. Ils ont été construits par les autorités sanitaires, les ONG et l'armée afin de désengorger les hôpitaux qui ne sont pas équipés de chambres d'isolement, et permettre ainsi de prendre efficacement les patients atteints de la maladie. Les CTE ont été construits selon des normes qui doivent garantir la dignité des malades tout en assurant la protection du personnel soignant. Ces structures avaient pour objectif de traiter, informer et limiter la propagation du virus. Au total, 49 CTE ont été construits en Guinée, Sierra Léone et Libéria durant l'épidémie (Figure 39).

Un CTE est organisé en de deux zones :

- La zone à bas risque (ZBR) : zone réservée au personnel du site pour coordonner les opérations. C'est une zone de travail qui est non contaminée.
- La zone à haut risque (ZHR) : zone destinée à la prise en charge et au traitement des patients. Le personnel soignant doit impérativement porter la tenue EPI (équipement de protection individuel) afin de se protéger et éviter les transmissions croisées entre patients. Ces derniers sont répartis dans 3 zones

selon leur diagnostic à l'arrivée : patients suspects, probables ou confirmés. Toutes les personnes et éléments contenus dans la ZHR sont considérés comme contaminés et doivent suivre des procédures de décontamination et/ou de destruction appropriées.

Le site est organisé de telle façon qu'il faille procéder étapes par étapes pour pouvoir passer d'une zone à l'autre afin ne pas risquer les contaminations croisées. Les circuits de ces deux zones sont illustrés dans la Figure 40. Les patients considérés comme malades suspects ou probables sont préservés dans une zone protégée en attendant les résultats d'analyse. Dans tous les cas, un soutien psychologique est assuré aux patients afin de les informer et les rassurer sur leur devenir. Les familles peuvent également venir voir leur proche traité dans le centre en toute sécurité et bénéficier d'un soutien moral. Leur venue est une occasion pour les sensibiliser aux mesures d'hygiène à respecter durant l'épidémie. L'objectif est de créer un climat de confiance afin de ne pas dissuader les futurs patients de venir. Un malade guéri est vécu comme une victoire par toute l'équipe médicale. Un entretien est fixé avec la famille et permet d'assurer son suivi au sein de la communauté. En revanche, lors d'un décès, le corps est désinfecté et rendu dignement à la famille. Les funérailles se font avec l'aide du personnel du CTE afin de réaliser les rituels traditionnels en respectant les mesures d'hygiène.

Le CTE peut également comprendre un laboratoire d'analyse qui permet de confirmer ou d'infirmier les cas suspects ou probables. Au total 26 laboratoires ont été mis en place lors de l'épidémie dans les 3 pays.

La promotion du centre auprès des communautés est également un point central de la réussite de la lutte contre l'épidémie. Le CTE est ouvert au public et surtout aux chefs des communautés et guérisseurs traditionnels qui sont invités à prendre connaissance du fonctionnement du centre. Le but est d'établir une relation de confiance et de coopération ainsi que de dissiper les rumeurs. Il est important de véhiculer des messages de prévention et de sensibilisation afin qu'ils puissent être transmis dans les communautés.

Une crèche peut également être construite à proximité du CTE, si c'est possible, afin de permettre aux enfants non infectés d'être en sécurité si leurs parents ou des membres de la famille sont suivis dans le centre.

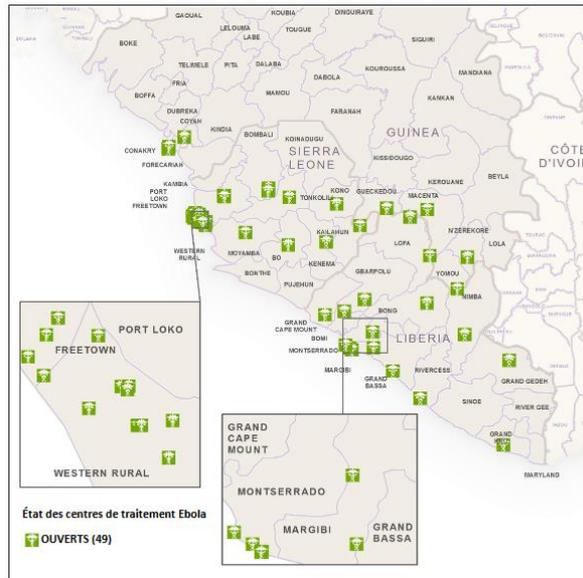


Figure 39 : carte représentant les emplacements des Centres de Traitement Ebola opérationnels en Afrique de l'Ouest au 25 février 2015 (90).

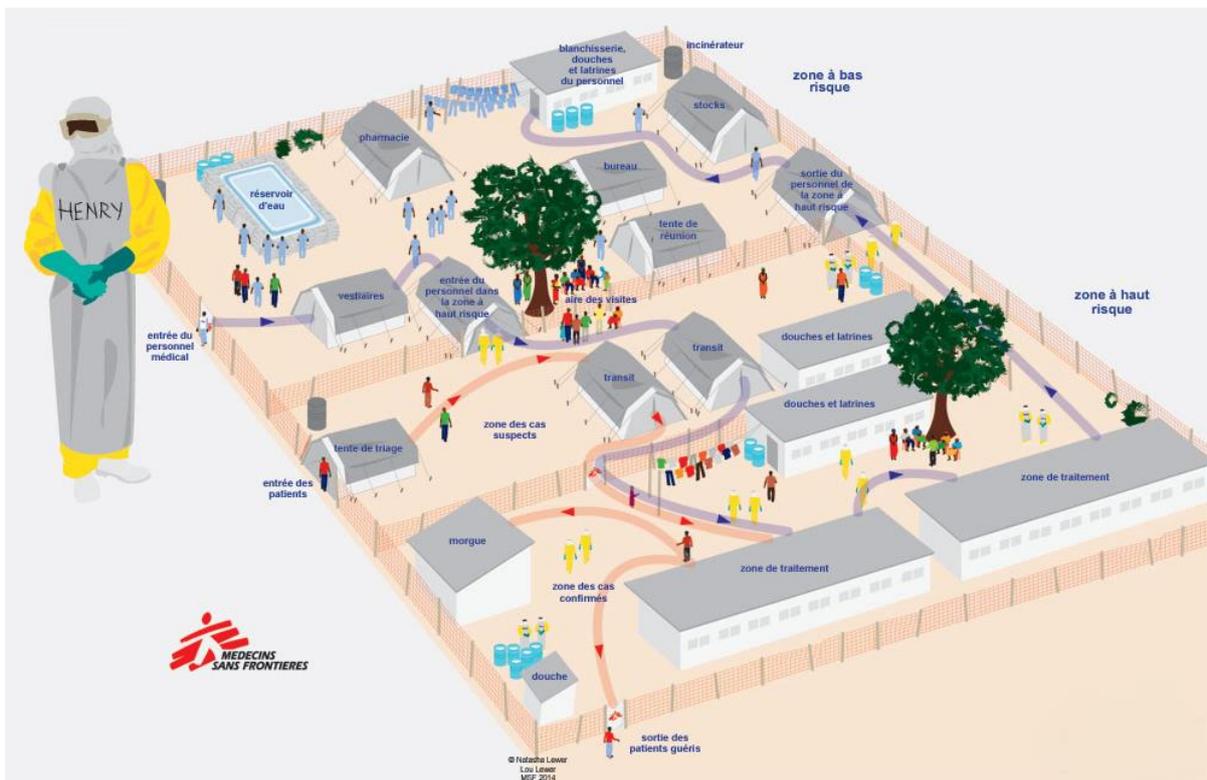


Figure 40 : centre de traitement Ebola par MSF (91)

Tableau 8 : détail de l'organisation des zones à haut risque et à bas risque ainsi que les espaces de passage d'une zone à l'autre (23)

Zone à bas risque (ZBR)	Zone à haut risque (ZHR)	Modules avec connexion ZBR/ZHR et cas particuliers
Accès du personnel avec zone de contrôle	Espace d'admission des patients : > transfert et arrivée des patients > zone d'attente des patients > zone de décontamination des ambulances	Zone de déshabillage
Accès des visiteurs avec zone de contrôle et espace de visites	Espace Suspects	Triage (avec salle d'attente)
Vestiaires (hommes / femmes)	Espace Probables	Douches de sortie des patients non admis
Zone d'habillage	Espace Confirmés	Douches de sortie des patients non infectés
Zone de chloration et de stockage des solutions chlorées et de l'eau claire	Douches, latrines, fosses à vomis des patients (un module sanitaire distinct par zone Suspects / Probables / Confirmés)	Douche de sortie des patients survivants
Fosses à déchets coupants / tranchants	Zone de lavage pour décontamination des équipements ZHR	Laboratoire <sup>2</sup>
Laverie / zone de séchage	Espaces de vie des zones Suspects, Probables, Confirmés (incluant les zones depuis lesquelles les patients peuvent communiquer avec les visiteurs situés en ZBR)	Zone à déchets <sup>3</sup>
Espaces de stockage : > pharmacie > stock WatSan > stock Logistique	Morgue + accès véhicule pour la morgue	Douche de sortie des patients non admis
Salle de repos	Accès ambulance pour le transfert et l'arrivée de patients	
Salle de réunion	Accès piéton pour les patients arrivant au triage	
Bureau médical		
Bureau EHA / PCI*		
Bureau Sensibilisation / Promotion de l'hygiène et Soutien psychosocial		
Douches et latrines du personnel		
Bureau interventions communautaires		
Accès véhicules pour l'approvisionnement du CTE		
Accès piéton pour l'entrée / sortie du personnel		
Accès piéton pour l'entrée / sortie des visiteurs		
Cuisines		

\* Eau, hygiène et assainissement / Prévention et contrôle des infections.

## 9.2. Equipement des soignants

Les équipes soignantes prenant en charge les patients atteints d’Ebola dans les CTE doivent impérativement vêtir une combinaison spéciale permettant de se protéger et qui sera désinfectée et décontaminée à chaque sortie des zones à risque du CTE.

La phase d’habillement se fait dans la zone à bas risque, dans l’espace prévu à cet effet. L’EPI (équipement de protection individuel) à porter comprend les éléments suivants : gants d’examen, combinaison de protection, masque respiratoire, cagoule, lunettes de protection, gants de WatSan (surgants) ou gants de chirurgien pour le personnel soignant (Figure 41). Une affiche explicative permet de faciliter l’habillage et de respecter les étapes. L’habillage se fait en binôme avec l’aide de deux hygiénistes. Une fois habillés, les hygiénistes doivent vérifier la conformité des EPI avant leur entrée en zone à haut risque. Pour chaque personne qui entre dans la ZHR, on note son nom, la date et l’heure d’entrée. Si une protection est mal ajustée, le soignant doit immédiatement sortir de la zone et prévenir un responsable. Les entrées et sorties dans la ZHR se font toujours en binôme.

La durée maximale en zone à haut risque est d’une heure et doit être signalée si dépassée. En effet, les combinaisons imperméables sont inconfortables et les températures élevées dans ces pays rendent la pratique des soins éprouvante. Les soignants ne doivent pas être trop fatigués lors du déshabillage, étape délicate qui doit respecter des règles précises. Le déshabillage se fait dans la zone prévue à cet effet. Un hygiéniste pulvérisateur en combinaison EPI pulvérise sur les soignants une solution chlorée à 0,5%. Les lunettes de protection, le tablier et les gants sont à plonger dans une solution chlorée pour être ensuite récupérés. La cagoule, la combinaison de protection et le masque respiratoire seront jetés et incinérés. Après sortie de la ZHR, les soignants doivent se laver les mains avec une solution chlorée et se reposer.



Figure 41 : combinaison de protection des soignants contre le virus Ebola dans les CTE (92)

## CONCLUSION

À travers cette étude, on se rend compte que le virus Ebola est responsable d'épidémies virulentes pour trois principales raisons. D'abord ce virus présente un taux de mortalité élevée, notamment la souche Zaïre, responsable de la majorité des épidémies. Ensuite, la maladie n'est pas toujours connue des populations et sévit dans les zones reculées des pays d'Afrique centrale et de l'Ouest, dépourvues d'infrastructures de santé, retardant ainsi la prise en charge. Enfin, un manque évident de traitements spécifiques de la maladie et de vaccins limitent les actions de prévention à grande échelle et les stratégies de riposte. Pour l'instant, les soins sont purement symptomatiques, et durant les épidémies, elles masquent bien souvent d'autres infections comme le paludisme.

La compréhension du virus et l'identification des zones à risques au sein des pays est primordiale. Pour tirer les leçons de cette épidémie, plusieurs actions sont actuellement mises en œuvre en Guinée, Libéria et Sierra Leone ainsi que dans d'autres pays à risques, afin de préparer une éventuelle nouvelle épidémie d'Ebola. La formation des professionnels de santé sur le virus et la maladie constitue une étape clé permettant de donner l'alerte le plus tôt possible en cas de diagnostic positif et de mettre en place les mesures d'isolement nécessaires pour limiter les contaminations au sein des patients et des soignants. Des mesures de prévention au sein des collectivités doivent être également mises en place afin d'éduquer les populations sur la maladie et leur permettre d'alerter les soignants s'ils suspectent un cas d'Ebola.

L'aide au financement d'infrastructures de soins et de laboratoires permettant de délivrer un diagnostic rapidement est un second axe à développer dans les pays fragiles économiquement. Enfin, il est essentiel d'engager les autorités de santé de chaque pays à risque, à commencer par la Guinée, le Libéria et la Sierra Leone, à se positionner sur le réseau de santé publique déjà effectif en Afrique et à prendre modèle sur les stratégies de riposte et de veille sanitaire déjà mises en place dans les pays voisins, telle que la République Démocratique du Congo. Il est également important que ces pays ne restent pas isolés de la communauté internationale en créant des partenariats de premier ordre avec les organismes de santé publique et les

laboratoires internationaux tels que ceux de la France, des Etats-Unis, de la Grande-Bretagne et du Canada.

L'épidémie mortelle de 2014-2015 en Afrique de l'Ouest ainsi que les mouvements de panique que cette maladie a engendré à travers le monde ont démontré à quel point nous ne sommes pas préparés à faire face aux maladies émergentes. Bien que la maladie Ebola soit connue depuis très longtemps, elle est réapparue dans un contexte totalement différent, ce qui en fait une nouvelle menace. Elle appartient également à la longue liste des pathologies nécessitant un besoin urgent de traitements spécifiques, au même titre que Zika, le SARS (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère), le MERS-CoV (Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient), la fièvre de Lassa ou encore la Fièvre de la Vallée du Rift. En Février 2018, l'OMS a rajouté à cette liste, la maladie X. Cette maladie encore inconnue matérialise la prise de conscience de la communauté scientifique à la nécessité d'envisager de nouvelles stratégies de riposte, afin d'être prêt en cas de survenue d'une épidémie brutale et de grande envergure. D'après certains scientifiques, il y a une forte probabilité que la prochaine grande épidémie puisse être une zoonose, en raison des pressions qu'exercent l'homme en permanence sur les écosystèmes, par la déforestation et l'accroissement des populations dans les grandes villes à proximité des zones forestières tropicales (93).

Aujourd'hui, les réémergences d'une épidémie à virus Ebola sont particulièrement surveillées dans plusieurs pays d'Afrique autour de la forêt tropicale. Il a fallu attendre l'épidémie de 2014-2015 pour entrevoir les enjeux sanitaires que pouvaient engendrer une crise de cette ampleur et tirer la sonnette d'alarme. Les avancées rapides en recherche vont permettre de mettre au point les premiers traitements et vaccins contre la maladie. Certains, comme le favipiravir, le brincidofovir et ZMapp ou encore le vaccin rVSV-EBOV, offrent des perspectives de guérisons futures, mais les besoins restent encore importants.

## **BIBLIOGRAPHIE :**

1. Fields BN, Knipe DM, Fields BN, Knipe DM. Fields virology / ed. in chief Bernard N. Fields,... David M. Knipe,... [Internet]. Raven press. New York; 1990 [cité 8 oct 2017]. 2 vol. (XIX-2336-83 p.); ill. 29 cm. Disponible sur: <http://documentation.unicaen.fr/Default/doc/FLORA/204923/fields-virology-ed-in-chief-bernard-n-fields-david-m-knipe>
2. Leroy E, Baize S, Gonzalez J-P. Les fièvres hémorragiques à virus Ebola et Marburg : l'actualité des filovirus. 2011.
3. Huraux J-M, Barré-Sinoussi F (1947-), Huraux J-M, Barré-Sinoussi F. Virologie médicale / coord. Jean-Marie Huraux, Jean-Claude Nicolas, Henri Agut, Hélène Peigue-Lafeuille [Internet]. Agence universitaire de la francophonie; 2003 [cité 8 oct 2017]. 1 vol. (699 p.); ill. en noir et en coul., jaquette ill.; 31 cm; rel. Disponible sur: <http://documentation.unicaen.fr/Default/doc/FLORA/216432/virologie-medicale-coord-jean-marie-huraux-jean-claude-nicolas-henri-agut-helene-peigue-lafeuille>
4. Knipe DM, Howley PM. Fields' Virology. Lippincott Williams & Wilkins; 2007. 1650 p.
5. Mammette A. Virologie médicale / A. Mammette [Internet]. Presses Universitaires de Lyon. Lyon; 2002 [cité 4 oct 2017]. 1 vol. (798 p.); ill. 24 cm; br. (Collection Azay (Lyon)). Disponible sur: <http://documentation.unicaen.fr/Default/doc/FLORA/216016/virologie-medicale-a-mammette>
6. ebola\_reston\_300309.pdf [Internet]. [cité 8 oct 2017]. Disponible sur: [http://invs.santepubliquefrance.fr/international/notes/ebola\\_reston\\_300309.pdf](http://invs.santepubliquefrance.fr/international/notes/ebola_reston_300309.pdf)
7. Formenty P, Hatz C, Le Guenno B, Stoll A, Rogenmoser P, Widmer A. Human Infection Due to Ebola Virus, Subtype Côte d'Ivoire: Clinical and Biologic Presentation. J Infect Dis. 1 févr 1999;179(Supplement\_1):S48-53.
8. Fleury HJA. Virologie humaine / H. J. A. Fleury,... [Internet]. Elsevier-Masson. Issy-les-Moulineaux; 2009 [cité 4 oct 2017]. 1 vol. (XXI-265 p.); ill.cartes, tabl.graph., couv. ill. en coul.; 25 cm; br. (Abrégés. Connaissances et pratique). Disponible sur: <http://documentation.unicaen.fr/Default/doc/FLORA/531444/virologie-humaine-h-j-a-fleury>
9. Ebola Virus Disease Distribution Map | Ebola Hemorrhagic Fever | CDC [Internet]. 2017 [cité 3 mai 2018]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/distribution-map.html>
10. Outbreaks Chronology: Ebola Virus Disease | Ebola Hemorrhagic Fever | CDC [Internet]. 2017 [cité 3 mai 2018]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/chronology.html>
11. Médecine & Armées tome 44 n° 2 [Internet]. calameo.com. [cité 26 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.calameo.com/books/000354785d82ddce716c4>

12. Negrodo A, Palacios G, Vázquez-Morón S, González F, Dopazo H, Molero F, et al. Discovery of an Ebolavirus-Like Filovirus in Europe. *PLOS Pathog.* 20 oct 2011;7(10):e1002304.
13. Pigott DM, Golding N, Mylne A, Huang Z, Henry AJ, Weiss DJ, et al. Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *eLife.* 8 sept 2014;3:e04395.
14. Singh RK, Dhama K, Malik YS, Ramakrishnan MA, Karthik K, Khandia R, et al. Ebola virus - epidemiology, diagnosis, and control: threat to humans, lessons learnt, and preparedness plans - an update on its 40 year's journey. *Vet Q.* déc 2017;37(1):98-135.
15. Collier LH (1921-), Oxford J, Pipkin J, Joly V (19-)- médecin, Pipkin J, Joly V. *Virologie humaine / Leslie Collier,...* John Oxford,... [Internet]. Flammarion médecine-sciences. Paris; 2004 [cité 4 oct 2017]. 1 vol. (XII-284 p.); ill. en noir et en coul., couv. ill. en coul.; 26 cm; br. (Collection De la biologie à la clinique). Disponible sur: <http://documentation.unicaen.fr/Default/doc/FLORA/218510/virologie-humaine-leslie-collier-john-oxford>
16. Yu D-S, Weng T-H, Wu X-X, Wang FXC, Lu X-Y, Wu H-B, et al. The lifecycle of the Ebola virus in host cells. *Oncotarget.* 15 juin 2017;8(33):55750-9.
17. L entrée du virus Ébola et Marburg : interaction entre la glycoprotéine virale et les facteurs cellulaires - PDF [Internet]. [cité 9 avr 2018]. Disponible sur: <http://docplayer.fr/35796479-L-entree-du-virus-ebola-et-marburg-interaction-entre-la-glycoproteine-virale-et-les-facteurs-cellulaires.html>
18. 8201 Le Virus Ebola, et l'épidémie 2014 [Internet]. *Les-Crises.fr.* 2015 [cité 21 mars 2018]. Disponible sur: <https://www.les-crises.fr/virus-ebola/>
19. Virus Pathogen Database and Analysis Resource (ViPR) - Filoviridae - Genome database with visualization and analysis tools [Internet]. [cité 22 mars 2018]. Disponible sur: [https://www.viprbrc.org/brc/home.spg?decorator=filo\\_ebola](https://www.viprbrc.org/brc/home.spg?decorator=filo_ebola)
20. Messaoudi I, Amarasinghe GK, Basler CF. Filovirus pathogenesis and immune evasion: insights from Ebola virus and Marburg virus. *Nat Rev Microbiol.* nov 2015;13(11):663-76.
21. Virus Ecology | Ebola Hemorrhagic Fever | CDC [Internet]. [cité 7 avr 2018]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/resources/virus-ecology-fr.html>
22. OMS | Ce que l'on sait à propos de la transmission interhumaine du virus Ebola [Internet]. WHO. [cité 7 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/06-october-2014/fr/>
23. française C-R. Guide opérationnel sur la lutte contre Ebola [Internet]. Croix-Rouge française. [cité 17 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.croix-rouge.fr/Actualite/Guide-operationnel-sur-la-lutte-contre-Ebola-2011>
24. WHO | Ebola maps [Internet]. WHO. [cité 3 mai 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/maps/en/>
25. adsp n° 98 - Épidémies Ebola : quels enseignements ? [Internet]. [cité 9 mars 2018].

Disponible sur: <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/Adsp?clef=155>

26. Georges-Courbot M-C, Baize S, Georges A-J. Les filovirus. *Virologie*. 1 mars 2007;11(2):105-20.
27. Misasi J, Sullivan NJ. Camouflage and Misdirection: The Full-On Assault of Ebola Virus Disease. *Cell*. 23 oct 2014;159(3):477-86.
28. OMS | Définitions de cas recommandées pour la surveillance des maladies à virus Ebola ou Marburg [Internet]. WHO. [cité 14 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/case-definition/fr/>
29. OMS | Définitions de cas recommandées pour la surveillance des maladies à virus Ebola ou Marburg [Internet]. WHO. [cité 14 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/case-definition/fr/>
30. WHO\_EVD\_GUIDANCE\_LAB\_14.1\_fre.pdf [Internet]. [cité 11 nov 2017]. Disponible sur: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/164584/1/WHO\\_EVD\\_GUIDANCE\\_LAB\\_14.1\\_fre.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/164584/1/WHO_EVD_GUIDANCE_LAB_14.1_fre.pdf)
31. Diagnosis | Ebola Hemorrhagic Fever | CDC [Internet]. [cité 12 nov 2017]. Disponible sur: <https://francais.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html>
32. la\_rtpcr\_en\_diagnostic\_clinique\_jle\_revue générale abc [Internet]. [cité 12 nov 2017]. Disponible sur: [http://www.jle.com/download/abc-261442-la\\_rtpcr\\_en\\_diagnostic\\_clinique\\_--WgiGEH8AAQEAAABQCW38AAAK-a.pdf](http://www.jle.com/download/abc-261442-la_rtpcr_en_diagnostic_clinique_--WgiGEH8AAQEAAABQCW38AAAK-a.pdf)
33. Kurosaki Y, Magassouba N, Oloniniyi OK, Cherif MS, Sakabe S, Takada A, et al. Development and Evaluation of Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Assay Coupled with a Portable Device for Rapid Diagnosis of Ebola Virus Disease in Guinea. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 22 févr 2016 [cité 14 nov 2017];10(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4764121/>
34. Swift Analytical | Instruments | Low Volume Liquid Handling and Quantification | DNA, RNA & Proteins [Internet]. [cité 25 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.swiftanalytical.com/instruments/product/genie-iii/>
35. Avis de l'Anses relatif à une « demande d'expertise sur le rôle potentiel des animaux domestiques dans la transmission du virus de la maladie d'Ebola » [Internet]. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2014sa0229.pdf>
36. Broadhurst MJ, Kelly JD, Miller A, Semper A, Bailey D, Gropelli E, et al. ReEBOV Antigen Rapid Test kit for point-of-care and laboratory-based testing for Ebola virus disease: a field validation study. *Lancet Lond Engl*. 29 août 2015;386(9996):867-74.
37. Ebola : vers un test de diagnostic fiable et rapide [Internet]. lesechos.fr. [cité 19 avr 2018]. Disponible sur: [https://www.lesechos.fr/26/06/2015/lesechos.fr/021166806349\\_ebola---vers-un-test-de-diagnostic-fiable-et-rapide.htm](https://www.lesechos.fr/26/06/2015/lesechos.fr/021166806349_ebola---vers-un-test-de-diagnostic-fiable-et-rapide.htm)

38. Walker NF, Brown CS, Youkee D, Baker P, Williams N, Kalawa A, et al. Evaluation of a point-of-care blood test for identification of Ebola virus disease at Ebola holding units, Western Area, Sierra Leone, January to February 2015. *Eurosurveillance*. 26 mars 2015;20(12):21073.
39. Boisen ML, Cross RW, Hartnett JN, Goba A, Momoh M, Fullah M, et al. Field Validation of the ReEBOV Antigen Rapid Test for Point-of-Care Diagnosis of Ebola Virus Infection. *J Infect Dis*. 15 oct 2016;214(Suppl 3):S203-9.
40. CEA. Validation technique d'un test de diagnostic du virus Ebola en moins de quinze minutes sur le terrain [Internet]. CEA/CEA. 2014 [cité 25 oct 2017]. Disponible sur: <http://www.cea.fr/Pages%2factualites%2fsante-sciences-du-vivant%2fVirus-Ebola--validation-technique-d%e2%80%99un-test-de-diagnostic-en-moins-de-quinze-minutes-sur-le-terrain.aspx>
41. Gallais F, Gay-Andrieu F, Picot V, Magassouba N, Mély S, Peyrefitte CN, et al. Validation sur le terrain du nouveau test de diagnostic rapide Ebola eZYSCREEN®Field assessment of the new rapid diagnostic test Ebola eZYSCREEN®. *Bull Société Pathol Exot*. 1 févr 2017;110(1):38-48.
42. Bixler SL, Bocan TM, Wells J, Wetzel K, Van Tongeren S, Dong L, et al. Efficacy of favipiravir (T-705) in nonhuman primates infected with Ebola virus or Marburg virus. *Antiviral Res* [Internet]. 28 déc 2017 [cité 17 janv 2018]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354217307374>
43. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smee DF, Barnard DL. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Res* [Internet]. nov 2013 [cité 12 janv 2018];100(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3880838/>
44. Oestereich L, Lüdtke A, Wurr S, Rieger T, Muñoz-Fontela C, Günther S. Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Res*. 1 mai 2014;105:17-21.
45. Sissoko D, Laouenan C, Folkesson E, M'Lebing A-B, Beavogui A-H, Baize S, et al. Experimental Treatment with Favipiravir for Ebola Virus Disease (the JIKI Trial): A Historically Controlled, Single-Arm Proof-of-Concept Trial in Guinea. *PLoS Med* [Internet]. 1 mars 2016 [cité 16 nov 2017];13(3). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4773183/>
46. Taylor R, Kotian P, Warren T, Panchal R, Bavari S, Julander J, et al. BCX4430 – a broad-spectrum antiviral adenosine nucleoside analog under development for the treatment of Ebola virus disease. *J Infect Public Health*. 2016;9(3):220-6.
47. Warren T, Wells J, Panchal R, Stuthman KS, Garza NL, van Tongeren SA, et al. Protection against filovirus disease by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430 [Internet]. Chinese center for disease control and prevention. 2014 [cité 22 nov 2017]. Disponible sur: [http://www.chinacdc.cn/was5/web/search?searchword=BCX4430&btn\\_search=&channelid=233877&timescope=&timescopecolumn=&orderby=-%E6%97%A5%E6%9C%9F&perpage=10&searchscope=](http://www.chinacdc.cn/was5/web/search?searchword=BCX4430&btn_search=&channelid=233877&timescope=&timescopecolumn=&orderby=-%E6%97%A5%E6%9C%9F&perpage=10&searchscope=)

48. McMullan LK, Flint M, Dyall J, Albariño C, Olinger GG, Foster S, et al. The lipid moiety of brincidofovir is required for in vitro antiviral activity against Ebola virus. *Antiviral Res.* 1 janv 2016;125:71-8.
49. Dunning J, Kennedy SB, Antierens A, Whitehead J, Ciglenecki I, Carson G, et al. Experimental Treatment of Ebola Virus Disease with Brincidofovir. *PLOS ONE.* 9 sept 2016;11(9):e0162199.
50. Davidson E, Bryan C, Fong RH, Barnes T, Pfaff JM, Mabila M, et al. Mechanism of Binding to Ebola Virus Glycoprotein by the ZMapp, ZMAb, and MB-003 Cocktail Antibodies. *J Virol.* 26 août 2015;89(21):10982-92.
51. Zhang Y, Li D, Jin X, Huang Z. Fighting Ebola with ZMapp: spotlight on plant-made antibody. *Sci China Life Sci.* 1 oct 2014;57(10):987-8.
52. Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB, et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp™. *Nature.* 2 oct 2014;514(7520):47-53.
53. A Randomized, Controlled Trial of ZMapp for Ebola Virus Infection. *N Engl J Med.* 13 oct 2016;375(15):1448-56.
54. Lutte contre Ebola : résultats encourageants pour l'essai clinique Prévail [Internet]. Salle de presse | Inserm. 2016 [cité 20 janv 2018]. Disponible sur: <http://presse.inserm.fr/lutte-contre-ebola-resultats-encourageants-pour-lessai-clinique-prevail/25407/>
55. Thi EP, Mire CE, Lee ACH, Geisbert JB, Zhou JZ, Agans KN, et al. Lipid nanoparticle siRNA treatment of Ebola virus Makona infected nonhuman primates. *Nature.* 21 mai 2015;521(7552):362-5.
56. Dunning J, Sahr F, Rojek A, Gannon F, Carson G, Idriss B, et al. Experimental Treatment of Ebola Virus Disease with TKM-130803: A Single-Arm Phase 2 Clinical Trial. *PLOS Med.* 19 avr 2016;13(4):e1001997.
57. Tatiparti K, Sau S, Kashaw SK, Iyer AK. siRNA Delivery Strategies: A Comprehensive Review of Recent Developments. *Nanomaterials.* 5 avr 2017;7(4):77.
58. Iversen PL, Warren TK, Wells JB, Garza NL, Mourich DV, Welch LS, et al. Discovery and Early Development of AVI-7537 and AVI-7288 for the Treatment of Ebola Virus and Marburg Virus Infections. *Viruses.* 6 nov 2012;4(11):2806-30.
59. Heald AE, Iversen PL, Saoud JB, Sazani P, Charleston JS, Axtelle T, et al. Safety and Pharmacokinetic Profiles of Phosphorodiamidate Morpholino Oligomers with Activity against Ebola Virus and Marburg Virus: Results of Two Single-Ascending-Dose Studies. *Antimicrob Agents Chemother.* nov 2014;58(11):6639-47.
60. Warren T, Warfield K, Wells J, L Swenson D, S Donner K, A Van Tongeren S, et al. Advanced antisense therapies for postexposure protection against lethal filovirus infections. *Nat Med.* 1 sept 2010;16:991-4.
61. AVI 6002 (AVI-7537) Drug Therapy (Sarepta Therapeutics) for Treating Ebola Virus Disease [Internet]. ECRI Institute. [cité 23 janv 2018]. Disponible sur:

<https://www.ecri.org/components/ProductBriefs/Pages/14371.aspx>

62. Konde MK, Baker DP, Traore FA, Sow MS, Camara A, Barry AA, et al. Interferon  $\beta$ -1a for the treatment of Ebola virus disease: A historically controlled, single-arm proof-of-concept trial. PLoS ONE [Internet]. 22 févr 2017 [cité 15 nov 2017];12(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5321269/>
63. Arnaud P. Les différents interférons : Pharmacologie, mécanismes d'action, tolérance et effets secondaires. Rev Médecine Interne. 1 nov 2002;23:449S-458S.
64. Smith LM, Hensley LE, Geisbert TW, Johnson J, Stossel A, Honko A, et al. Interferon- $\beta$  Therapy Prolongs Survival in Rhesus Macaque Models of Ebola and Marburg Hemorrhagic Fever. J Infect Dis. 15 juill 2013;208(2):310-8.
65. Geisbert TW, Hensley LE, Jahrling PB, Larsen T, Geisbert JB, Paragas J, et al. Treatment of Ebola virus infection with a recombinant inhibitor of factor VIIa/tissue factor: a study in rhesus monkeys. The Lancet. 13 déc 2003;362(9400):1953-8.
66. Lee AYY, Vlasuk GP. Recombinant nematode anticoagulant protein c2 and other inhibitors targeting blood coagulation factor VIIa/tissue factor. J Intern Med. 1 oct 2003;254(4):313-21.
67. OMS | Traitements et vaccins potentiels contre le virus Ebola [Internet]. WHO. [cité 15 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/potential-therapies-vaccines/fr/>
68. van Griensven J, Edwards T, de Lamballerie X, Semple MG, Gallian P, Baize S, et al. Evaluation of Convalescent Plasma for Ebola Virus Disease in Guinea. N Engl J Med. 7 janv 2016;374(1):33-42.
69. Sridhar S. Clinical development of Ebola vaccines. Ther Adv Vaccines. sept 2015;3(5-6):125-38.
70. Marzi A, Halfmann P, Hill-Batorski L, Feldmann F, Shupert WL, Neumann G, et al. An Ebola whole-virus vaccine is protective in nonhuman primates. Science. 24 avr 2015;348(6233):439-42.
71. Henao-Restrepo AM, Longini IM, Egger M, Dean NE, Edmunds WJ, Camacho A, et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. The Lancet. 29 août 2015;386(9996):857-66.
72. Préparation contre le risque de nouvelles épidémies d'Ebola : la garantie d'achat de vaccin par Gavi [Internet]. [cité 24 avr 2018]. Disponible sur: <https://www.gavi.org/librairie/actualites/communiqués-de-presse/2016/preparation-contre-le-risque-de-nouvelles-epidemies-ebola-garantie-achat-vaccin-par-gavi/>
73. Schwenecker M, Laimbacher AS, Zimmer G, Wagner S, Schraner EM, Wolferstätter M, et al. Recombinant Modified Vaccinia Virus Ankara Generating Ebola Virus-Like Particles. J Virol [Internet]. 12 mai 2017 [cité 21 févr 2018];91(11). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5432887/>

74. Zhu F-C, Wurie AH, Hou L-H, Liang Q, Li Y-H, Russell JBW, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in Sierra Leone: a single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*. 11 févr 2017;389(10069):621-8.
75. Milligan ID, Gibani MM, Sewell R, Clutterbuck EA, Campbell D, Plested E, et al. Safety and Immunogenicity of Novel Adenovirus Type 26– and Modified Vaccinia Ankara–Vectored Ebola Vaccines: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 19 avr 2016;315(15):1610-23.
76. Tapia MD, Sow SO, Lyke KE, Haidara FC, Diallo F, Doumbia M, et al. Use of ChAd3-EBO-Z Ebola virus vaccine in Malian and US adults, and boosting of Malian adults with MVA-BN-Filo: a phase 1, single-blind, randomised trial, a phase 1b, open-label and double-blind, dose-escalation trial, and a nested, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Infect Dis*. janv 2016;16(1):31-42.
77. Ledgerwood JE, DeZure AD, Stanley DA, Coates EE, Novik L, Enama ME, et al. Chimpanzee Adenovirus Vector Ebola Vaccine. *N Engl J Med*. 9 mars 2017;376(10):928-38.
78. OMS | Les origines de l'épidémie d'Ebola 2014 [Internet]. WHO. [cité 9 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/virus-origin/fr/>
79. Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, et al. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea. *N Engl J Med*. 9 oct 2014;371(15):1418-25.
80. OMS | Les facteurs qui ont contribué à la propagation cachée du virus Ebola et empêché son confinement rapide [Internet]. WHO. [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/factors/fr/>
81. OMS | Guinée: le virus Ebola montre sa ténacité [Internet]. WHO. [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/guinea/fr/>
82. OMS | Le Libéria: un pays, et sa capitale, submergés par les cas d'Ebola [Internet]. WHO. [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/liberia/fr/>
83. OMS | Sierra Leone: une flambée initialement modérée qui s'est finalement révélée être la plus fulgurante [Internet]. WHO. [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/sierra-leone/fr/>
84. L'épidémie d'Ebola en chiffres [Internet]. rts.ch. 2014 [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <https://www.rts.ch/info/monde/6209480-l-epidemie-d-ebola-en-chiffres.html>
85. Update: Épidémie de maladie à virus Ébola — Afrique de l'Ouest, octobre 2014 [Internet]. [cité 24 avr 2018]. Disponible sur: [https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6343a3\\_french.htm](https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6343a3_french.htm)
86. Bell BP. Overview, Control Strategies, and Lessons Learned in the CDC Response to the 2014–2016 Ebola Epidemic. *MMWR Suppl* [Internet]. 2016 [cité 7 mai 2018];65. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/su/su6503a2.htm>

87. OMS | Le succès des ripostes contre le virus Ebola au Nigéria, au Sénégal et au Mali [Internet]. WHO. [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/nigeria/fr/>
88. OMS | La flambée classique de maladie à virus Ebola en République démocratique du Congo [Internet]. WHO. [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/drc/fr/>
89. [Infographie] Ebola: géographie, chiffres et histoire de l'épidémie - RFI [Internet]. RFI Afrique. [cité 14 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.rfi.fr/afrique/20160114-infographie-ebola-bilan-epidemie-plus-meurtriere>
90. OMS | Feuille de route pour la riposte au virus Ebola: rapports de situation [Internet]. WHO. [cité 15 mai 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/situation-reports/fr/>
91. Frontières (MSF) MS. Centre de traitement d'Ebola [MSF] by Médecins Sans Frontières (MSF) [Internet]. [cité 17 mars 2018]. Disponible sur: <https://www.thinglink.com/scene/559360742642417666>
92. C F E | Caisse des Français de l'Etranger [Internet]. [cité 19 mars 2018]. Disponible sur: <https://www.cfe.fr/pages/votre-sante/guidespatho.php?id=115>
93. Site du Séminaire des Maladies Infectieuses Emergentes [Internet]. [cité 7 mai 2018]. Disponible sur: <http://www.malinfemerg.org/>



UNIVERSITÉ  
CAEN  
NORMANDIE

**U.F.R. Santé**  
**Faculté des Sciences Pharmaceutiques**

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE  
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.



---

## TITRE

EBOLA : ORIGINES ET CIRCONSTANCES DES EPIDEMIES, PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MALADIE ET PERSPECTIVES DE TRAITEMENTS EN COURS DE DEVELOPPEMENT

---

## Résumé

Découvert en 1976, le virus Ebola a été responsable jusqu'à présent d'une vingtaine d'épidémies en Afrique Centrale et Afrique de l'Ouest. Ce virus est une zoonose dont le réservoir est constitué de chauves-souris frugivores. L'homme peut contracter la maladie par contact avec des animaux infectés. Le virus Ebola appartient à la famille des filovirus et comprend 5 espèces, parmi lesquelles la souche Zaïre est la plus virulente. La maladie à virus Ebola est responsable de fièvres hémorragiques dont la létalité peut atteindre 90%. La durée d'incubation est comprise entre 2 et 21 jours durant lesquels le patient est asymptomatique et non contagieux. Dans les formes graves, la maladie est responsable de déshydrations sévères, de rash érythémateux et d'hémorragies multiviscérales. Le virus cible préférentiellement les cellules du système immunitaire, ce qui entraîne un affaiblissement rapide du patient en l'absence de soins appropriés.

L'épidémie de 2014-2015 a été la plus meurtrière puisqu'elle est responsable de plus de 11300 morts. Elle s'est déroulée en Afrique de l'Ouest, en Guinée, Libéria et Sierra Leone. Durant ces deux années, l'OMS a coordonné des actions avec les ONG et autorités locales pour endiguer l'épidémie, mettant en place des Centres de traitement Ebola ainsi que des laboratoires mobiles. Actuellement, il n'existe aucun traitement spécifique pour traiter la maladie. De nombreuses recherches sont en cours et plusieurs molécules ont été testées dans des essais précliniques et cliniques. L'objectif est de mettre au point rapidement des traitements et des vaccins efficaces afin d'être mieux préparé en cas d'une nouvelle épidémie.

---

## TITLE

EBOLA : ORIGINS AND CIRCUMSTANCES OF OUTBREAKS, PHYSIOPATHOLOGY OF THE DISEASE AND NEW TREATMENTS UNDER DEVELOPMENT

---

## Summary

Discovered in 1976, the Ebola virus has been responsible for about 20 outbreaks in Central and West Africa. This virus is a zoonosis whose reservoir consists in fruit bats. Humans can contract the disease by contact with infected animals. The Ebola virus belongs to the filovirus family and includes 5 species, among which the most virulent is the Zaire strain. Ebola virus disease is responsible for hemorrhagic fevers with lethality up to 90%. The incubation period lasts between 2 to 21 days during which the patient is asymptomatic and non-contagious. In severe forms, the disease can cause severe dehydration, rash and multi-organ hemorrhages. The virus preferentially targets cells from the immune system, resulting in the rapid weakening of the patient in the absence of proper care.

The 2014-2015 epidemic has been the deadliest since it resulted in more than 11300 deaths. It took place in West Africa, Guinea, Liberia and Sierra Leone. During these two years, WHO

coordinated actions with NGOs and local authorities to stem the epidemic, setting up Ebola Treatment Centers as well as mobile laboratories.

Currently, there is no specific treatment to cure the disease. Many researches are in progress and several molecules have been tested in preclinical and clinical trials. The goal is to develop effective treatments and vaccines to better prepare for a new outbreak.

---

**Mots-clés**

Ebola, filovirus, fièvre hémorragique, vaccin anti-ebola, traitement anti-ebola, épidémie

Ebola, zoonose