

# Emergence du virus Ebola Zaïre en Afrique de l'Ouest: de nouveaux territoires pour de nouveaux risques \*

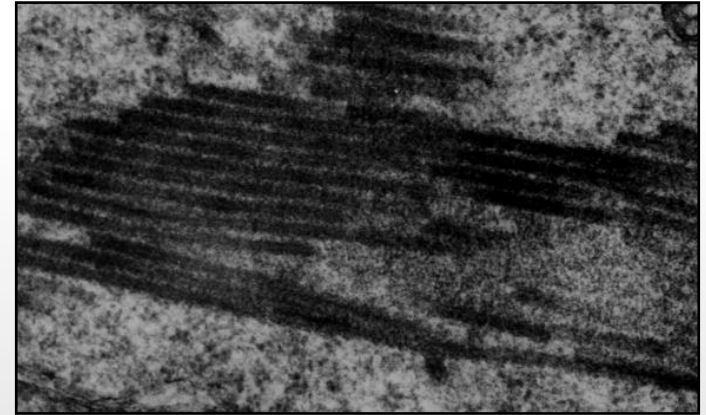
\* Or how I learned to stop worrying and love vaccination

Sylvain Baize

Unité de Biologie des Infections Virales Emergentes  
Centre National de Référence des Fièvres Hémorragiques Virales  
*Institut Pasteur – Centre International de Recherche en Infectiologie*

# Le virus Ebola

- **Famille :** *Filoviridae*
- **Genre :** *Filovirus*
- **Génome :** ARN simple brin, polarité négative, enveloppé



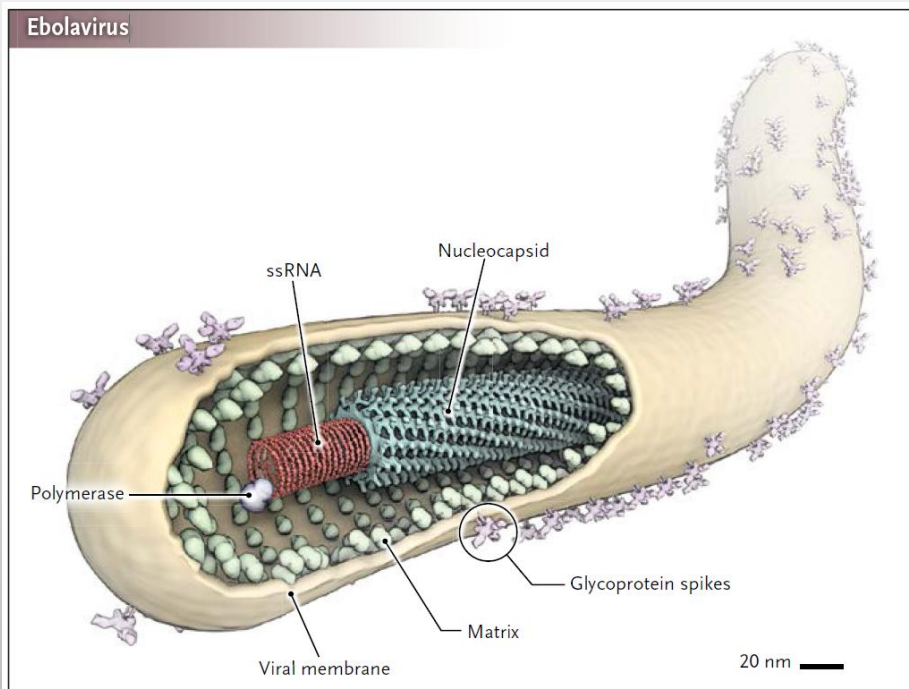
Morphologie filamenteuse et pléiomorphe

## Nucléocapside :

NP, VP30, VP35, L (ARN polymérase)

## Envelope virale :

VP24, VP40, GP



From DOI: 10.1056/NEJMp1405314, Heinz Feldmann



# Tableau clinique au cours de la fièvre hémorragique à virus Ebola

**Incubation:** 3 - 21 jours

Moyenne :  $9 \pm 7$  jours

## Une évolution biphasique



L'épidémie actuelle est caractérisée par une plus faible fréquence de signes hémorragiques que d'habitude. **Mortalité:** environ 70% (cas bien documentés)

# Le début ...

**Mars 2014** : l'OMS est informée qu'une épidémie de FHV est en cours en Afrique de l'Ouest (Sud-Est Guinée)

- Maladie transmissible
- Fièvre
- Diarrhée sévère
- Vomissements
- Mortalité très élevée



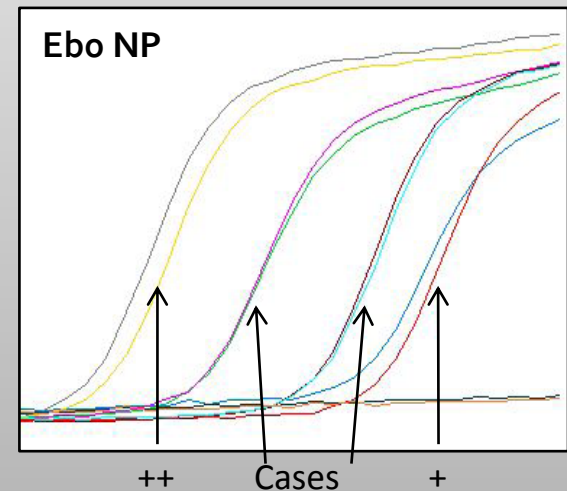
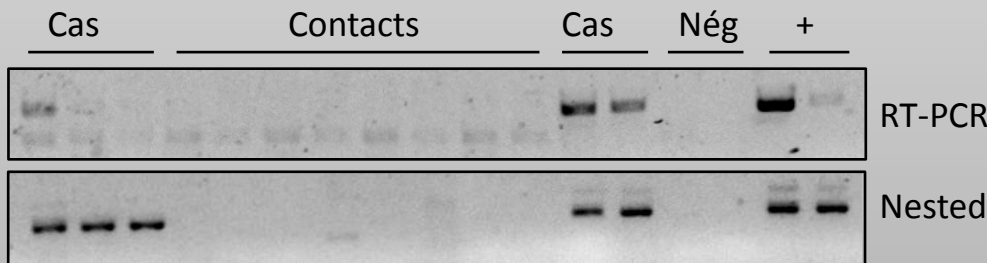
Equipe envoyée à Guéckédou (MSF et Min. Santé Guinéen)



1<sup>ère</sup> série d'échantillons pour le CNR FHV (Lyon, 21 mars)



Gène L (polymérase)



# Caractérisation du virus

**Sequençage des fragments de RT-PCR** : 97-98% d'homologies avec le virus Ebola Zaire (*Luebo RDC 2007*)

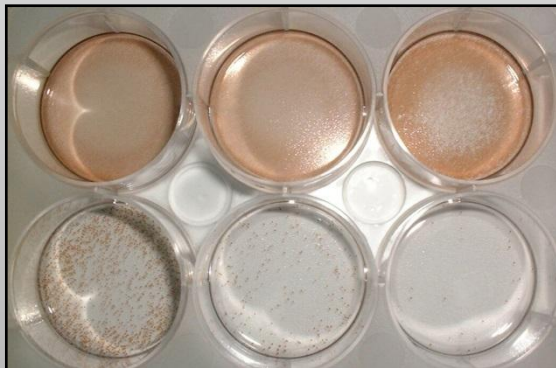


L'épidémie est causée par le virus Ebola Zaire

- **Observation du virus dans le sang d'un patient par microscopie électronique**

- ~ 1 particule complète
- ~ 2 particules dégradées

- **Isolement du virus dans le sang de 3 patients**



- ~ Inoculation du sérum /sang sur cellules VeroE6
- ~ Amplification virale après plusieurs passages
- ~ Titrages (immunomarquage spécifique)
- ~ RT-PCR pour suivre l'amplification du virus

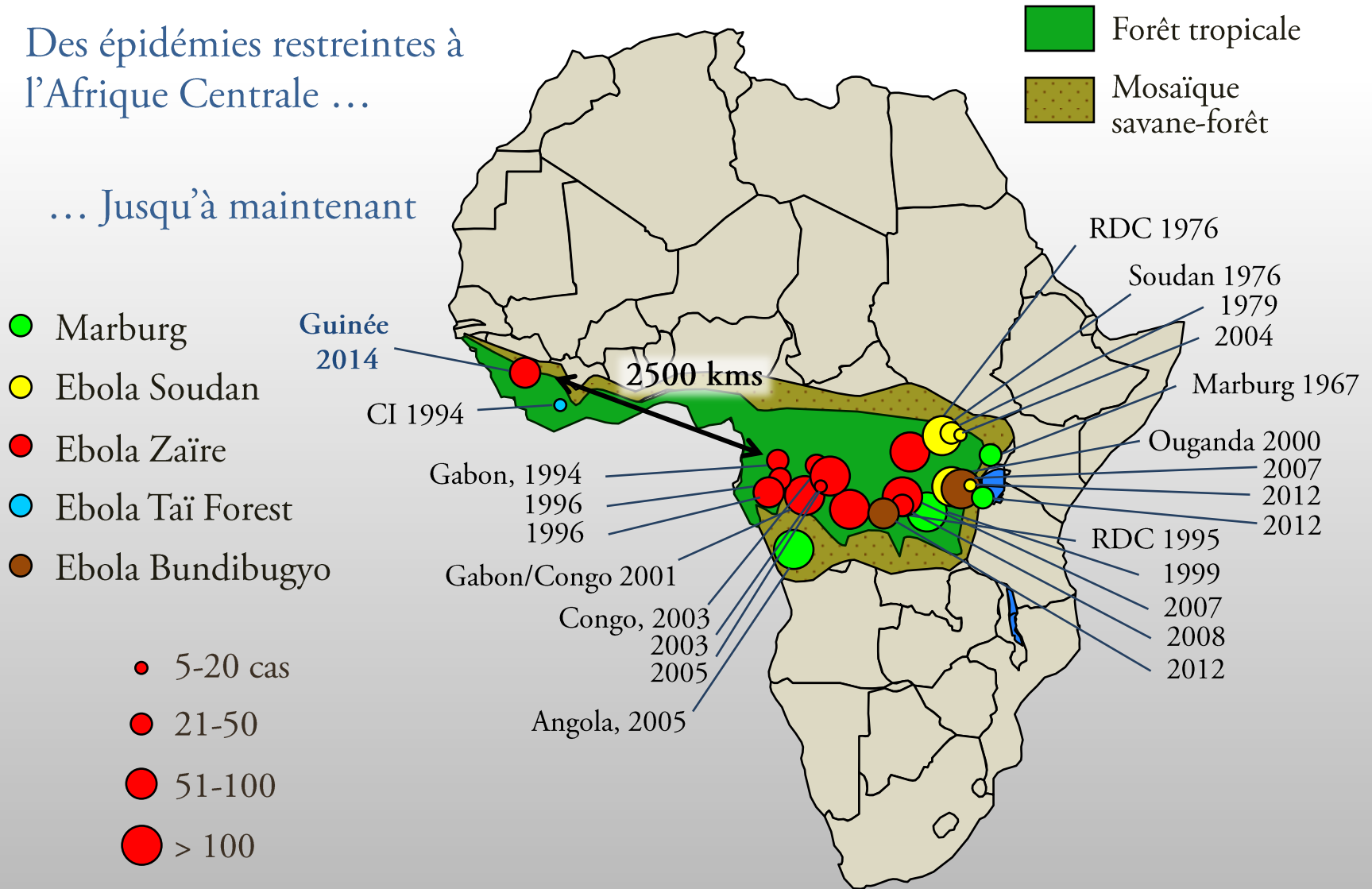


Réalisé par le BNI, Hambourg

# Les Filovirus, des virus d'émergence récente

Des épidémies restreintes à l'Afrique Centrale ...

... Jusqu'à maintenant



# Les chauves-souris frugivores, le réservoir du virus Ebola

Certaines chauves-souris frugivores semblent servir de réservoir pour le virus Ebola (et Marburg)

~ Hébergent le virus de manière permanente: pas de maladie, transmission verticale et horizontale



*Hypsignathus monstrosus*



*Myonycteris torquata*

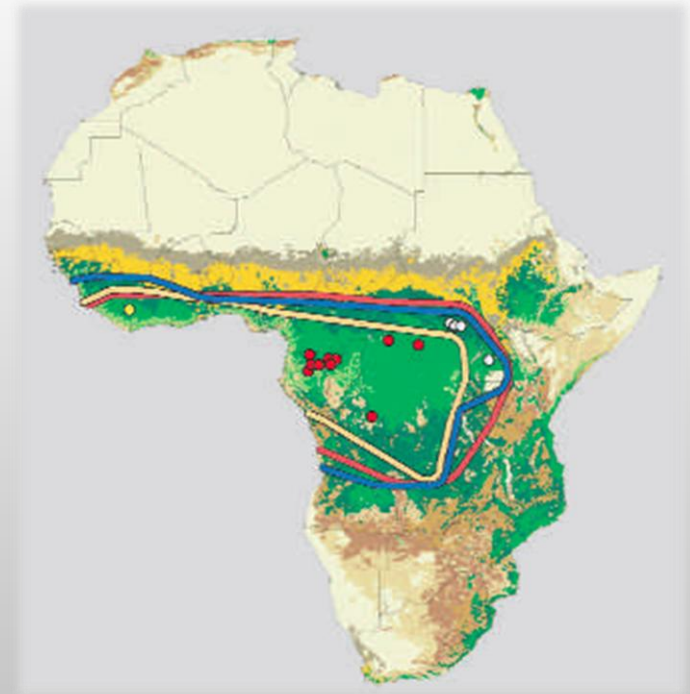


*Epomops franqueti*

D'après Leroy et al, Nature, 2005, 438:575



Permet au virus de se maintenir dans la nature depuis des milliers d'années



Contamination de l'homme possible par contact avec le réservoir



**Pourrait être à l'origine de l'importation d'Ebola Zaïre en Guinée**

# Grands singes et transmission du virus Ebola

Les grands singes jouent souvent un rôle d'intermédiaire, surtout dans le cas du virus Ebola Zaïre

*Trop sensibles pour représenter un réservoir naturel*

De fréquentes épizooties de FH à virus Ebola ont été observées

Côte d'Ivoire, 1994 (*Ebo-TF, chimpanzés*)

Gabon, 1996 (*Ebo-Z, chimpanzés*)

Gabon, 2001/02 (*Ebo-Z, gorilles, chimpanzés*)

Congo, 2003

Des épidémies liées à un contact avec un PNH infecté

Marburg, 1967 (*Marburg*)

Reston, 1989 (*Ebo-R*)

Côte d'Ivoire, 1994 (*Ebo-CI*)

Gabon, 1996 (*Ebo-Z*)

Gabon, 2001/02 (*Ebo-Z*)

Congo, 2003 (*Ebo-Z*)



Le virus Ebola, un rôle majeur dans le déclin des populations de grands singes

## Ebola Outbreak Killed 5000 Gorillas

Magdalena Bermejo,<sup>1,2\*</sup> José Domingo Rodríguez-Teijeiro,<sup>2</sup> Germán Illera,<sup>1</sup> Alex Barroso,<sup>2</sup> Carles Vilà,<sup>3</sup> Peter D. Walsh<sup>4</sup>

8 DECEMBER 2006 VOL 314 SCIENCE

### Catastrophic ape decline in western equatorial Africa

Peter D. Walsh\*, Kate A. Abernethy†‡, Magdalena Bermejo\$, Rene Beyers||, Pauwel De Wachter¶, Marc Ella Akou¶, Bas Huijbregts¶, Daniel Idiata Mambounga#, Andre Kamdem Toham¶, Annelisa M. Kilbourn||, Sally A. Lahm☆, Stefanie Latour||, Fiona Maisels||\*\*, Christian Mbina||, Yves Mihindou||, Sosthène Ndong Obiang#, Ernestine Ntsame Effa#, Malcolm P. Starkey||††, Paul Telfer†‡‡, Marc Thibault¶, Caroline E. G. Tutin†‡, Lee J. T. White|| & David S. Wilkie||

**letters to nature**

NATURE | VOL 422 | 10 APRIL 2003



# Transmission inter-humaine

La transmission inter-humaine survient lors de contacts avec les fluides biologiques d'un patient

~ Sang, vomissures, selles, salive, larmes, sueur...



Survient souvent lors d'activités de soins, de funérailles...

Contamination par voie aérienne très peu probable (*jamais documentée lors d'épidémies*)



Nécessité d'un contact physique proche pour la transmission inter-humaine

# Virus Ebola et risque de dissémination

La capacité du virus à se disséminer au sein de la population est heureusement limitée pour plusieurs raisons:

- ~ Contamination de proche en proche en raison de la nécessité de contacts étroits
- ~ Contagion uniquement pendant la phase symptomatique
- ~ Survenue brutale des signes cliniques, patients rapidement alités (*asthénie extrême*)
- ~ ~~Epidémies survenant dans des zones reculées et peu accessibles~~  
*mais parfois foyers secondaires dans des zones urbaines*



Le virus Ebola n'a pas de potentiel pandémique

La présence d'un réservoir animal conduit à un risque permanent d'introduction chez l'homme, mais restreint sa présence à l'aire de distribution de ce réservoir

# Le contrôle des épidémies

Pas de traitement ni de vaccin validés disponible à ce jour



Prévenir l'introduction à l'homme

~ Informer les populations des risques liés à la manipulation d'animaux pouvant héberger le virus Ebola (*singe, chauve-souris*)



Détecter le plus rapidement possible les épidémies

~ Former les personnels de santé et mettre en place un système de surveillance



Bloquer la transmission inter-humaine

~ Isoler les patients le plus tôt possible après la survenue des symptômes (*nécessité de réaliser très rapidement un diagnostic de laboratoire*)

~ Protéger les personnels soignants (*gants, masques, combinaisons, lunettes...*)

~ Recenser et suivre tous les contacts des malades et les isoler dès la survenue de symptômes

# De nouveaux territoires pour de nouveaux risques...



En Afrique Centrale, ces moyens de lutte sont efficaces

~ Les épidémies sont de faible ampleur, avec une dispersion limitée et rapidement circonscrites

*Entre 50 et 300 cas par épidémie et une seule zone touchée, pendant quelques semaines ou mois*

Zones très enclavées, réseau routier défaillant/inexistant

Déplacement de population limité

Système de santé habitué à ces épisodes



En Afrique de l'Ouest, ces moyens sont complètement insuffisants

~ L'épidémie s'est répandue de façon fulgurante, avec une hausse exponentielle du nombre de cas

*Au pic de l'épidémie, plus de nouveaux cas en 2 semaines qu'en 35 ans de circulation virale...*

*Les systèmes de santé occidentaux ont été très sollicités, débuts d'épidémie et cas importés/rapatriés*

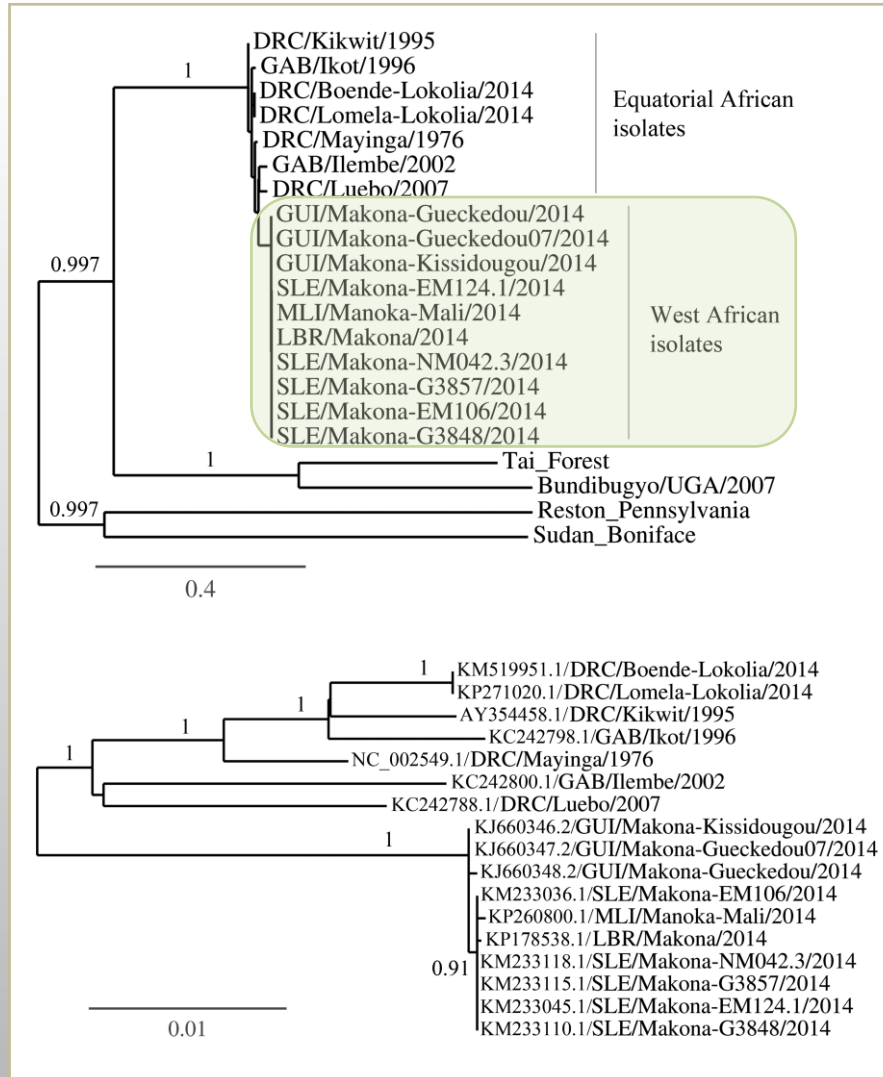
Maillage routier très dense, épicode proche de deux frontières

Intenses déplacements de population

Systèmes de santé défaillants (*guerres civiles, pauvreté*)

# Analyse phylogénétique de la souche « Guinée »

La souche Guinée appartient à un groupe différent mais très proche des autres virus Ebola



La souche a probablement évolué en parallèle avec les souche d'Afrique Centrale à partir d'un ancêtre commun (**divergent depuis au moins 10 ans**)

**Homologies des séquences codantes avec d'autres souches**

(Luebo RDC 2007, Mayinga 1976)

	Nucl	AA
NP	97.7	98.3
GP	97.0	97.5
L	97.7	98.9
VP24	98.0	99.6
VP30	98.7	100
VP35	98.2	98.8
VP40	98.4	99.3

Baize et al, NEJM, April 16, 2014

# Surveillance génomique en Sierra Leone

99 génomes de virus Ebola obtenus chez 78 patients Sierra Leonais ont été séquencés (technologie NGS)

C'est la première fois que l'évolution du virus Ebola peut être étudiée au sein de la population humaine

~ Une accumulation rapide de variation génétique inter- et intra-hôte a été observée

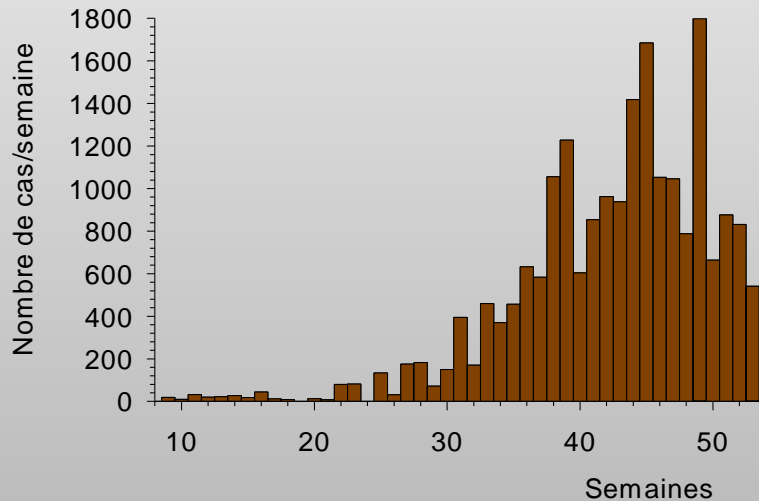
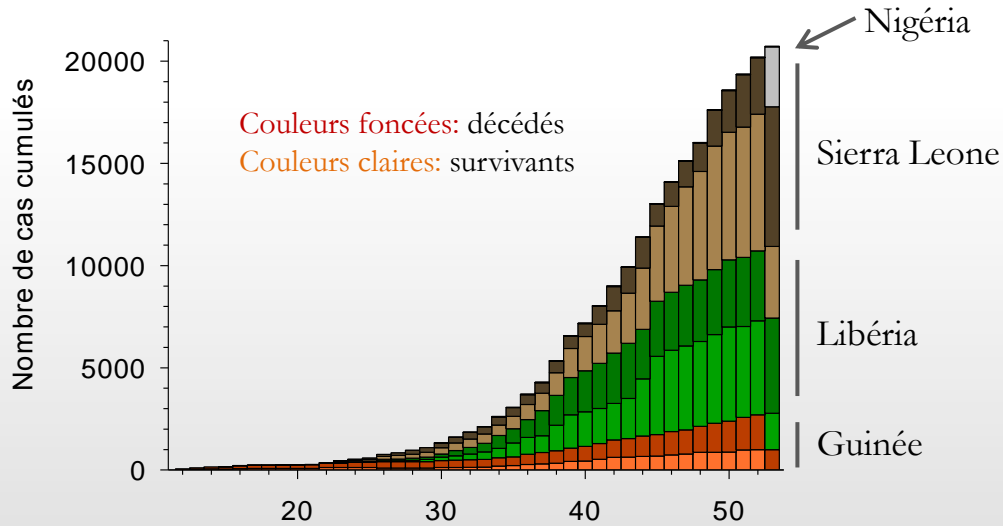
~ L'épidémie dans son ensemble résulte d'une seule introduction depuis l'animal

~ La souche actuelle a divergé des souches d'Afrique Centrale en 2004

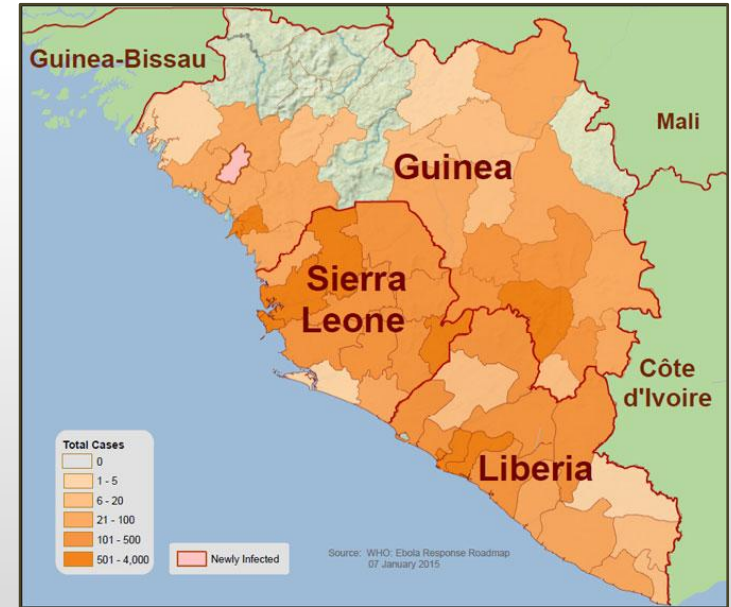
~ L'évolution du génome du virus Ebola doit être suivie au cours de l'épidémie pour anticiper un impact sur le diagnostic, les thérapies et la vaccination

*Gire et al, Science, 28 août 2014*

# Situation épidémique au 07/01/2015

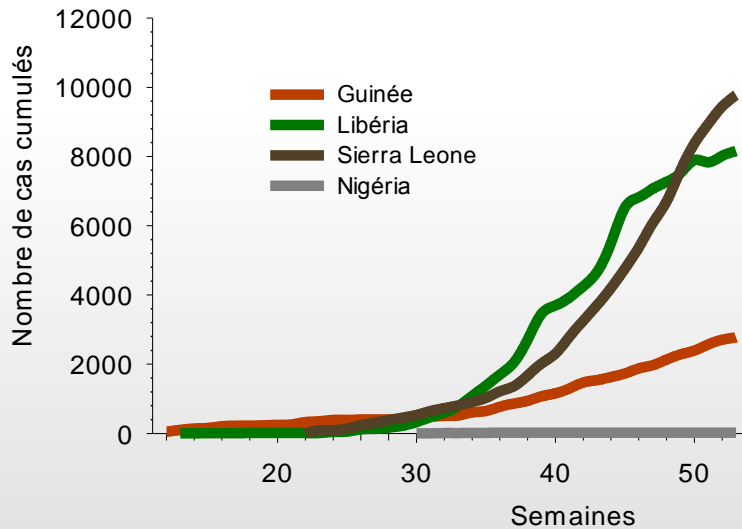


Situation au 7 janvier



- ~ Le nombre de cas dépasse déjà **10 X** le nombre total de cas cumulés depuis 1976 !
- ~ Le contrôle de l'épidémie sera particulièrement difficile et demandera de nombreux mois (années ?)
- ~ Les pays limitrophes sont à haut risque pour l'importation (*Sénégal: 1 cas importé, Mali: 8 cas*)

# Situation épidémique par pays au 7 janvier 2015



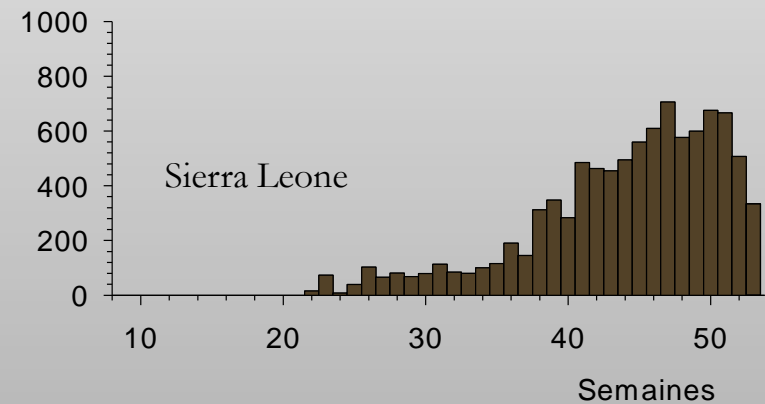
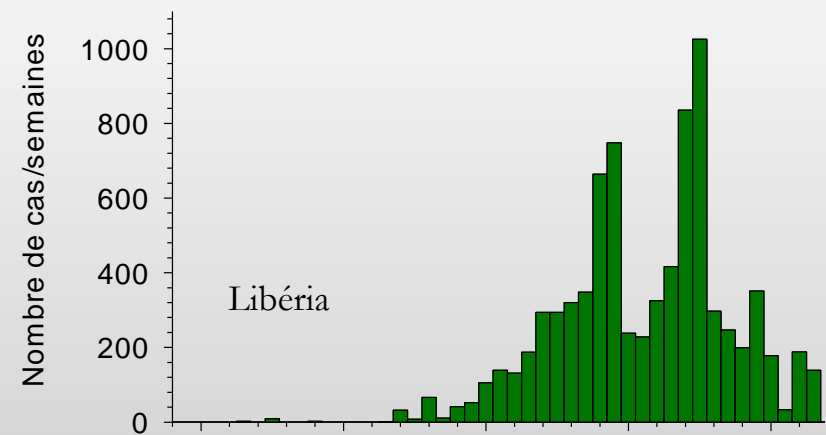
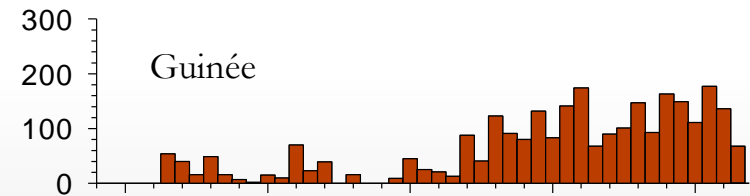
~ 3 vagues successives en Guinée, épidémie “contenue” mais pas contrôlée

~ Situation très préoccupante au Sierra Leone, mais diminution observée depuis une à deux semaines

*Manque de moyens humains, diagnostiques, de capacité d'accueil*

~ Situation en amélioration au Libéria

**Une diminution globale de la progression de l'épidémie est notée, mais il faut redoubler d'effort pour éviter un rebond**





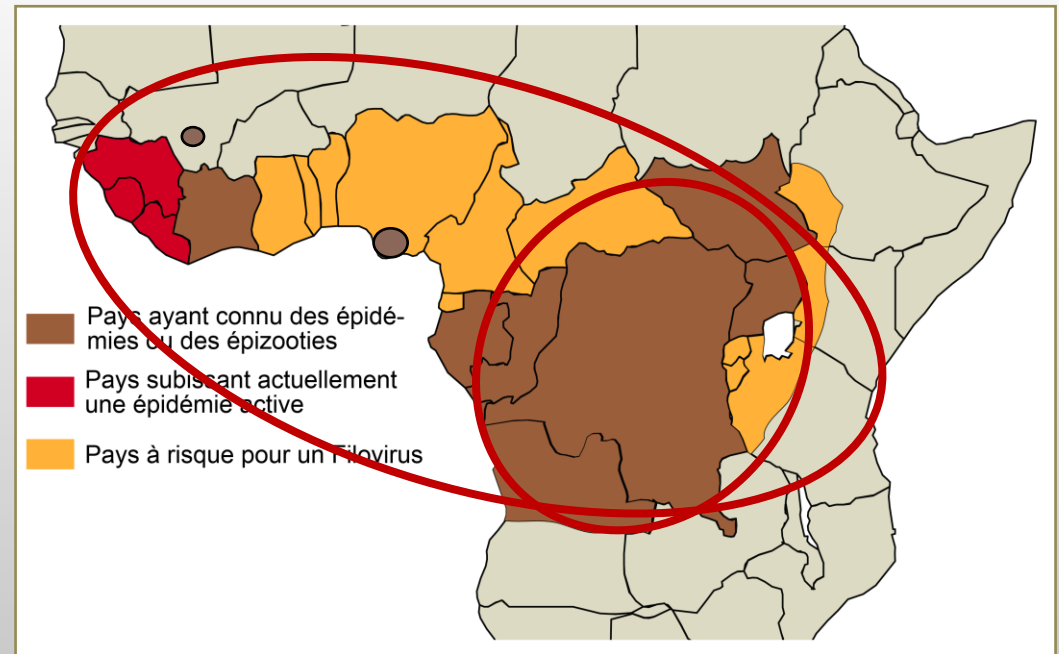
# De nouveaux territoires pour de nouveaux risques ...

~ Le nombre de pays à risque a considérablement augmenté: **ensemble de l'Afrique tropicale**

Au moins 22 millions de personnes à risque pour une infection à filovirus (*elife*, sept 2014)

~ La surveillance épidémiologique doit être renforcée dans ces pays pour permettre une détection précoce des épidémies

~ Le virus Ebola doit être maintenant considéré comme une menace majeure de santé publique



**Risque d'endémicité du virus Ebola en Afrique de l'Ouest ?** (OMS, sept 2014)

# ... Ou comment j'ai appris à ne plus m'inquiéter et à aimer la vaccination

L'isolement des patients, le suivi des contacts et les traitements antiviraux spécifiques peuvent diminuer l'intensité de la circulation virale et la mortalité



N'empêche pas l'émergence de nouvelles épidémies et sont peu efficaces pour circonscrire l'épidémie actuelle

~ Un vaccin serait le seul moyen d'empêcher la transmission de l'animal vers l'homme

Des recherches vaccinales menées depuis plus de 30 ans, mais jusqu'à présent pas considéré comme une solution réaliste

- Environ 2 000 cas en près de 40 ans, donc pas une urgence de santé publique et pas rentable pour les industries
- Pas de modèle rongeur, les primates non-humains sont les seuls modèles
- Les premiers essais réalisés avec des virus/antigènes inactivés ont été des échecs

# Un rôle primordial de la réponse cellulaire dans la protection acquise



Explique l'échec des stratégies « vaccin inactivé »

- ~ Le virus n'est pas un inducteur d'anticorps neutralisant
- ~ Le transfert passif d'anticorps d'un primate vacciné à un autre ne protège pas contre une épreuve par le virus Ebola
- ~ Les candidats vaccins qui protègent les PNH contre le virus Ebola induisent des anticorps, mais aussi une réponse T spécifique
- ~ Chez l'homme, la présence d'anticorps est corrélée à la survie, mais l'induction d'une réponse T également

Nécessité d'induire une réponse lymphocytaire T spécifique pour immuniser contre le virus Ebola

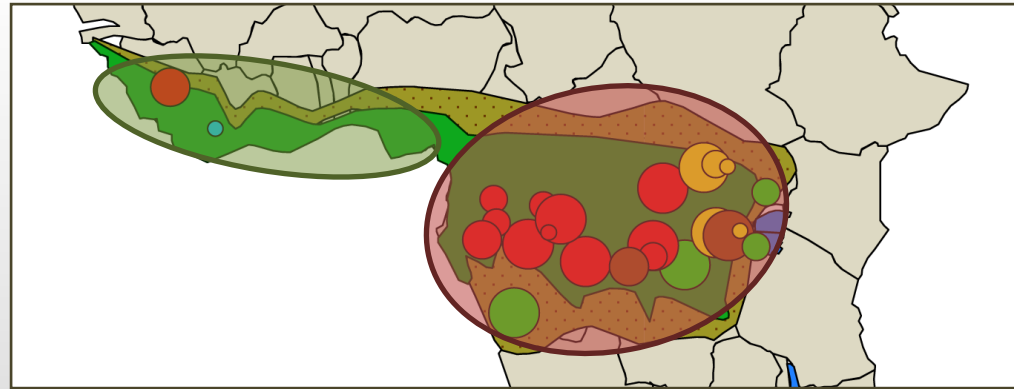
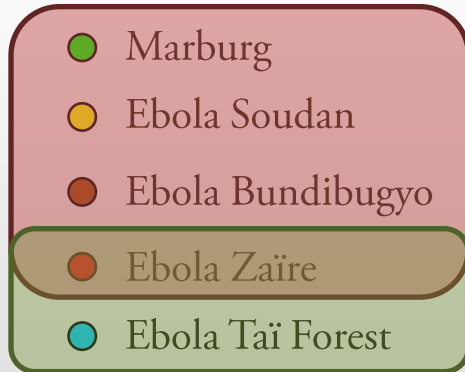


Stratégie vecteur viral vivant atténué exprimant un/des antigène(s) du virus Ebola

# Protection multivalente et répartition géographique des espèces



5 espèces différentes réparties sur la ceinture tropicale Africaine



- ~ Pour une couverture optimale, il faut 5 valences et plusieurs combinaisons
- ~ L'utilisation de la glycoprotéine (GP1 et 2) comme antigène est suffisant
- A ce jour, deux candidats vaccins sont à un stade avancé de développement et sont en cours d'expérimentation sur le terrain (Phases I et II)

# Le vaccin basé sur l'adénovirus

**letters to nature**

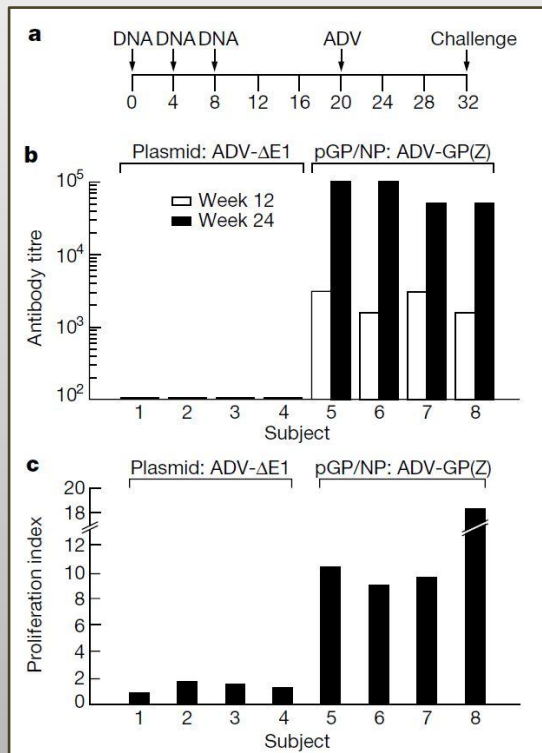
~ Initialement décrit en 2000 (*Sullivan et al, Nature 2000, 408: 605*)

- Basé sur un vecteur Adénovirus sérotype 5 défectif pour la réplication et exprimant la GP w/wo NP du virus Ebola Zaïre

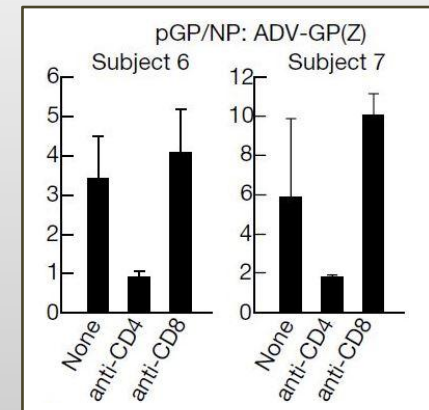
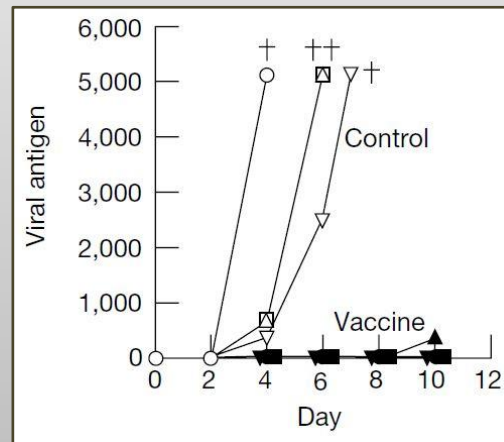
## Development of a preventive vaccine for Ebola virus infection in primates

Nancy J. Sullivan\*, Anthony Sanchez†, Pierre E. Rollin†, Zhi-yong Yang\* & Gary J. Nabel\*

Stratégie prime – boost utilisant une vaccination ADN suivi d'un dernier boost ADV



Induit une forte réponse humorale, mais aussi une réponse lymphocytaire, principalement CD4+



Induit une immunité protectrice contre un challenge par le virus Ebola

Premier candidat vaccin efficace chez le PNH

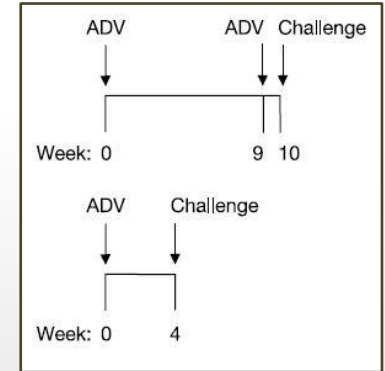
# Optimisation du candidat Adénovirus

## Accelerated vaccination for Ebola virus haemorrhagic fever in non-human primates

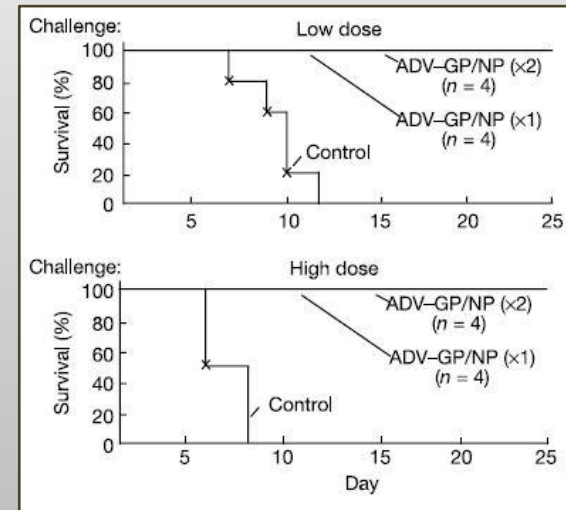
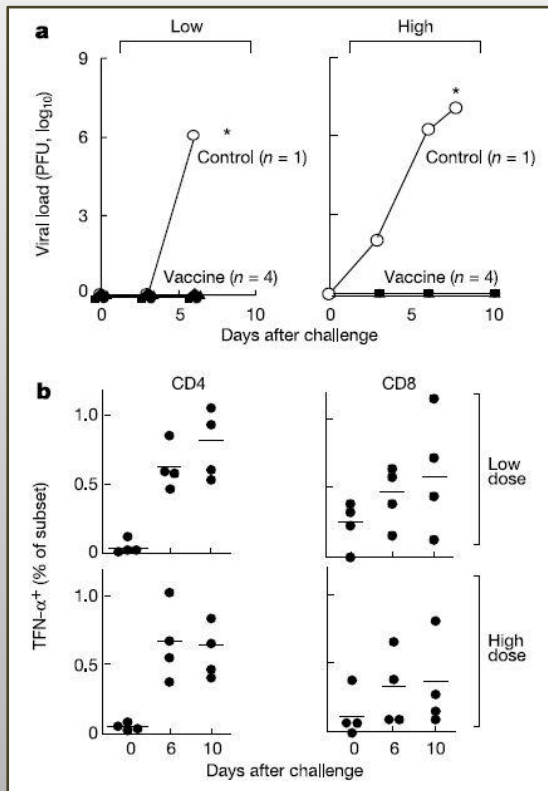
Nancy J. Sullivan<sup>1</sup>, Thomas W. Geisbert<sup>2</sup>, Joan B. Geisbert<sup>2</sup>, Ling Xu<sup>1</sup>, Zhi-yong Yang<sup>1</sup>, Mario Roederer<sup>1</sup>, Richard A. Koup<sup>1</sup>, Peter B. Jahrling<sup>2</sup> & Gary J. Nabel<sup>1</sup>

NATURE | VOL 424 | 7 AUGUST 2003

~ Validation de l'efficacité en prime – boost ADV, puis en prime seul ADV (GP/NP)



Induction d'une réponse humorale et cellulaire CD4+ et CD8+ même avec une seule injection d'ADV



Immunité stérilisante et protectrice après challenge avec une dose faible (20 PFU) ou forte (2 000 PFU) de virus Ebola

# Le problème de l'immunité pré-existante

~ Plus de la moitié des Américains sont immuns contre l'ADV sérotype 5, et la plupart des Africains

## Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge

Daphne A Stanley<sup>1</sup>, Anna N Honko<sup>2,7</sup>, Clement Asiedu<sup>1,8</sup>, John C Trefry<sup>2</sup>, Annie W Lau-Kilby<sup>1</sup>, Joshua C Johnson<sup>2,7</sup>, Lisa Hensley<sup>2,7</sup>, Virginia Ammendola<sup>3</sup>, Adele Abbate<sup>3</sup>, Fabiana Grazioli<sup>3</sup>, Kathryn E Foulds<sup>1</sup>, Cheng Cheng<sup>1</sup>, Lingshu Wang<sup>1</sup>, Mitzi M Donaldson<sup>1</sup>, Stefano Colloca<sup>3</sup>, Antonella Folgori<sup>3</sup>, Mario Roederer<sup>1</sup>, Gary J Nabel<sup>1,7</sup>, John Mascola<sup>1</sup>, Alfredo Nicosia<sup>3-5</sup>, Riccardo Cortese<sup>6</sup>, Richard A Koup<sup>1</sup> & Nancy J Sullivan<sup>1</sup>

nature  
medicine

La protection est efficace avec des doses élevées de vaccin, mais sans doute moins bonne qu'avec l'Ad5

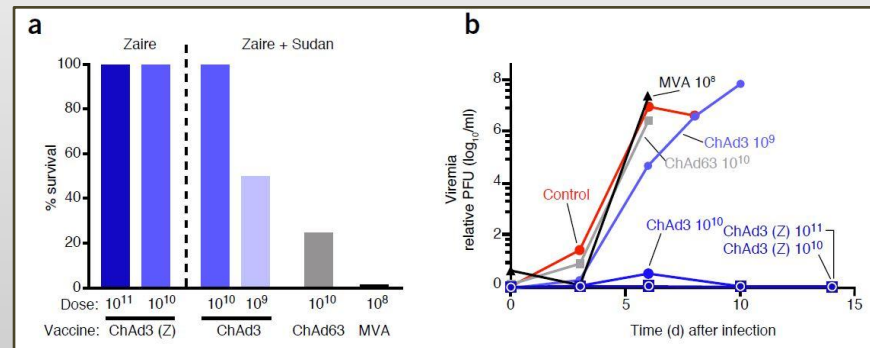
**Table 1 Durable vaccine protection against EBOV**

Vector	Dose (PU)	Protection <sup>a</sup>
<b>Single shot</b>		
ChAd3	$1 \times 10^{11}$	2/4 50%
ChAd3	$1 \times 10^{10}$	0/4 0%
<b>Prime-boost</b>		
ChAd3/ChAd3	$1 \times 10^{10}/1 \times 10^{10}$	1/3 33%
ChAd3/ChAd63	$1 \times 10^{10}/1 \times 10^{10}$	1/4 25%
ChAd3/MVA	$1 \times 10^{10}/1 \times 10^8$	4/4 100%

Animals in single-shot groups were vaccinated with ChAd3 at the doses indicated and exposed to a lethal dose of EBOV 10 months after the prime vaccination. Animals in prime-boost groups were primed with ChAd3, boosted 8 weeks later and exposed to a lethal dose of EBOV as in the single-shot groups.

Les essais de phase I ont montré que chez l'homme, l'immunité pré-existante empêchait l'induction d'une immunité contre le virus Ebola

- Remplacement du sérotype 5 (humain) par un sérotype affectant les chimpanzés (ChAd3 et 63)
- Ajout d'une valence Soudan (GP Zaire, GP Soudan)



La protection est beaucoup moins durable qu'avec l'Ad5

10 mois après l'immunisation unique ou le prime – boost ChAd3/63, la protection n'est plus présente

Seule le prime ChAd3 – boost MVA induit une immunité durable

# Le candidat vaccin basé sur le virus de la stomatite vésiculeuse

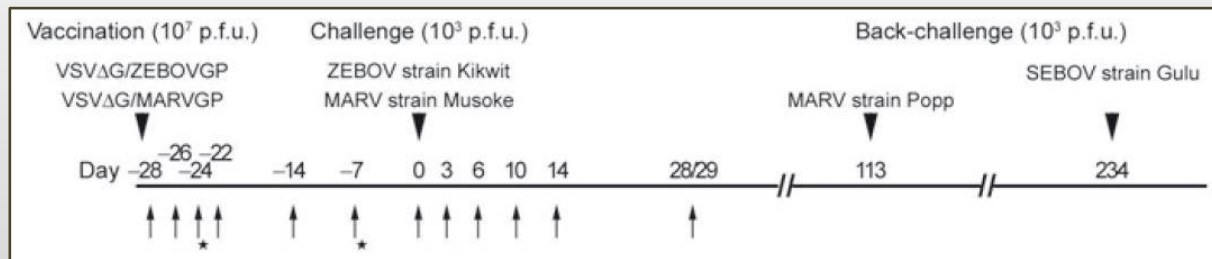
## Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses

Steven M Jones<sup>1,2,9</sup>, Heinz Feldmann<sup>1,3,9</sup>, Ute Ströher<sup>1,3</sup>, Joan B Geisbert<sup>4</sup>, Lisa Fernando<sup>1</sup>, Allen Grolla<sup>1</sup>, Hans-Dieter Klenk<sup>5</sup>, Nancy J Sullivan<sup>6</sup>, Viktor E Volchkov<sup>7</sup>, Elizabeth A Fritz<sup>4</sup>, Kathleen M Daddario<sup>8</sup>, Lisa E Hensley<sup>4</sup>, Peter B Jahrling<sup>4</sup> & Thomas W Geisbert<sup>4</sup>

nature  
medicine

VOLUME 11 | NUMBER 7 | JULY 2005

~ Vaccin utilisant le **VSV Δ GP** pour exprimer la GP du virus Ebola, vecteur atténué MAIS répliquatif



Une seule injection, un candidat Ebo-Z, un candidat Marburg

- Induction d'une réponse humorale robuste et d'une réponse cellulaire T
- Protection complète contre une épreuve avec le virus homologue
- Immunité stérilisante (en charge virale infectieuse)
- Pas de problème d'immunité pré-existante

-Vecteur vivant

-Virus chimérique, plus de GP d'origine

-Pas de contact préalable des populations humaines avec le vecteur



# Le VSV-Ebo, partiellement efficace en post-exposition

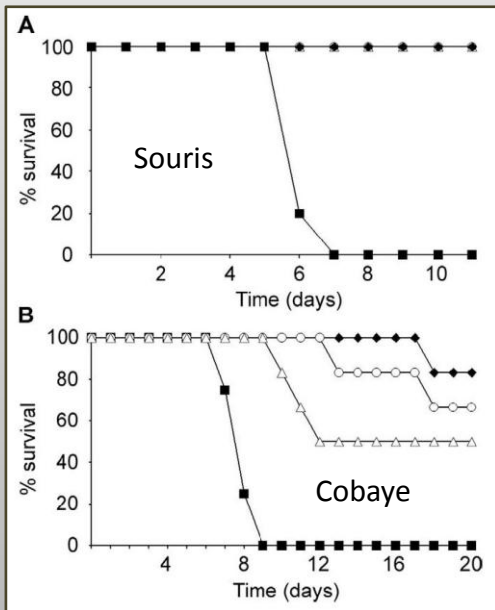
OPEN ACCESS Freely available online

PLOS PATHOGENS

## Effective Post-Exposure Treatment of Ebola Infection

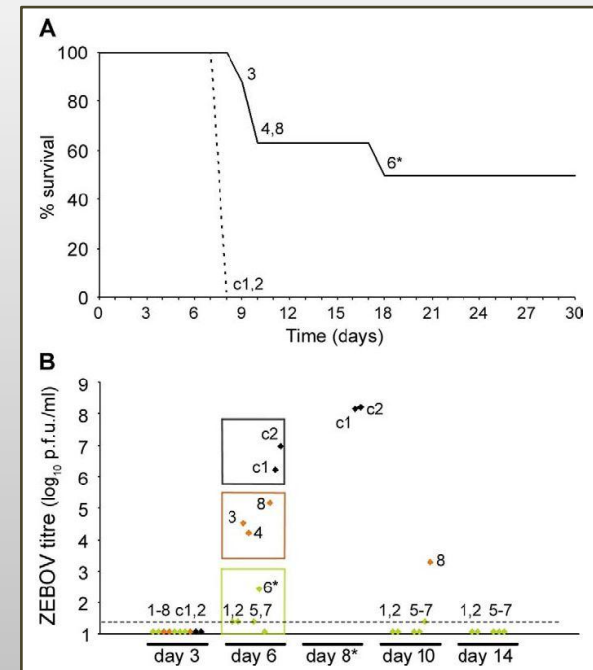
Heinz Feldmann<sup>1,2</sup>\*, Steven M. Jones<sup>1,2,3</sup>\*, Kathleen M. Daddario-DiCaprio<sup>4,5</sup>, Joan B. Geisbert<sup>4</sup>, Ute Ströher<sup>1,2</sup>, Allen Grolla<sup>1</sup>, Mike Bray<sup>6</sup>, Elizabeth A. Fritz<sup>4</sup>, Lisa Fernando<sup>1</sup>, Friederike Feldmann<sup>1</sup>, Lisa E. Hensley<sup>4</sup>, Thomas W. Geisbert<sup>4,5</sup>

Dans des modèles rongeurs adaptés, très bonne efficacité jusqu'à 24h post-épreuve, surtout dans le modèle souris



Chez le PNH, efficacité partielle lorsque le vaccin est administré 20-30' après l'infection

~ Utilisation en post-exposition du candidat VSV-GP EboZ



Témoigne de l'efficacité du candidat VSV-GP Ebo-Z

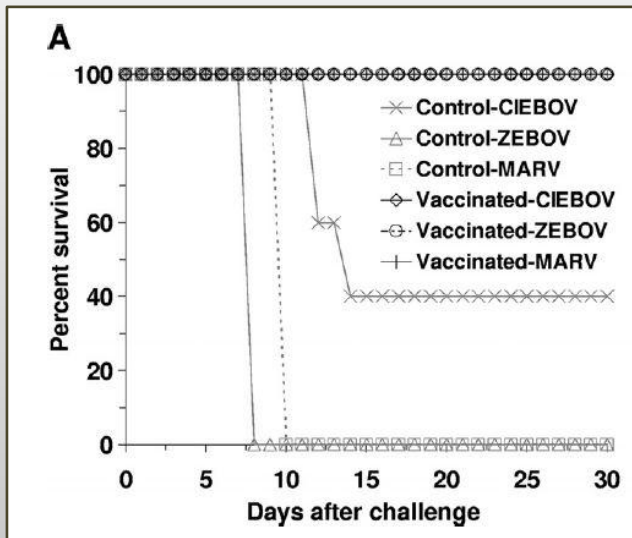
# Approche multivalente avec le candidat VSV-GP

## Single-Injection Vaccine Protects Nonhuman Primates against Infection with Marburg Virus and Three Species of Ebola Virus<sup>∇</sup>

Thomas W. Geisbert,<sup>1,2,3,4,5\*</sup> Joan B. Geisbert,<sup>1,5</sup> Anders Leung,<sup>6</sup> Kathleen M. Daddario-DiCaprio,<sup>1,4,5</sup> Lisa E. Hensley,<sup>5</sup> Allen Grolla,<sup>6</sup> and Heinz Feldmann<sup>6,7,8</sup>

Mix de VSV-GP **EboZ**, VSV-GP **EboS**, VSV-GP **Mbg**

~ Validation de l'efficacité en prime seul contre une épreuve par Ebo-Z, Ebo-S, Ebo-TF et Mbg



Protection acquise contre les différentes épreuves avec le vaccin trivalent

Charge virale indétectable

Répond à la problématique régionale, mais ...



Questionnement sur l'innocuité du vecteur VSV

~ Essai de phase I arrêté chez l'homme en raison d'effets secondaires

# Résultats phase I pour le vecteur ChAd

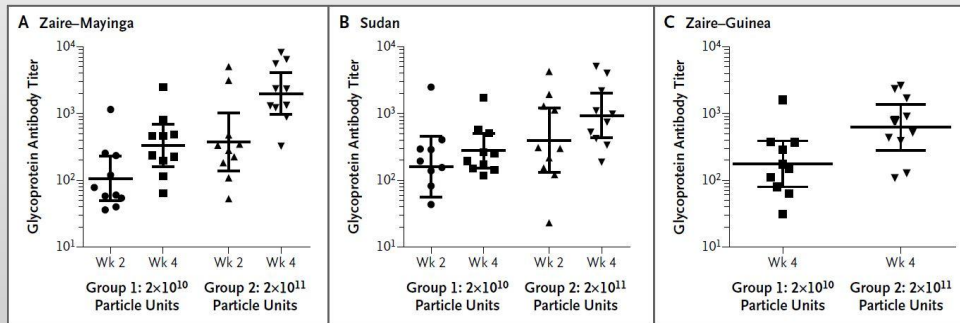
## Chimpanzee Adenovirus Vector Ebola Vaccine — Preliminary Report

Julie E. Ledgerwood, D.O., Adam D. DeZure, M.D., Daphne A. Stanley, M.S., Laura Novik, M.A., Mary E. Enama, M.A., Nina M. Berkowitz, M.P.H., Zonghui Hu, Ph.D., Gyan Joshi, M.S., Aurélie Ploquin, Ph.D., Sandra Sitar, M.S., Ingelise J. Gordon, R.N., Sarah A. Plummer, C.R.N.P., LaSonji A. Holman, F.N.P., Cynthia S. Hendel, C.R.N.P., Galina Yamshchikov, M.S., Francois Roman, M.D., Alfredo Nicosia, Ph.D., Stefano Colloca, Ph.D., Riccardo Cortese, M.D., Robert T. Bailer, Ph.D., Richard M. Schwartz, Ph.D., Mario Roederer, Ph.D., John R. Mascola, M.D., Richard A. Koup, M.D., Nancy J. Sullivan, Ph.D., Barney S. Graham, M.D., and the VRC 207 Study Team

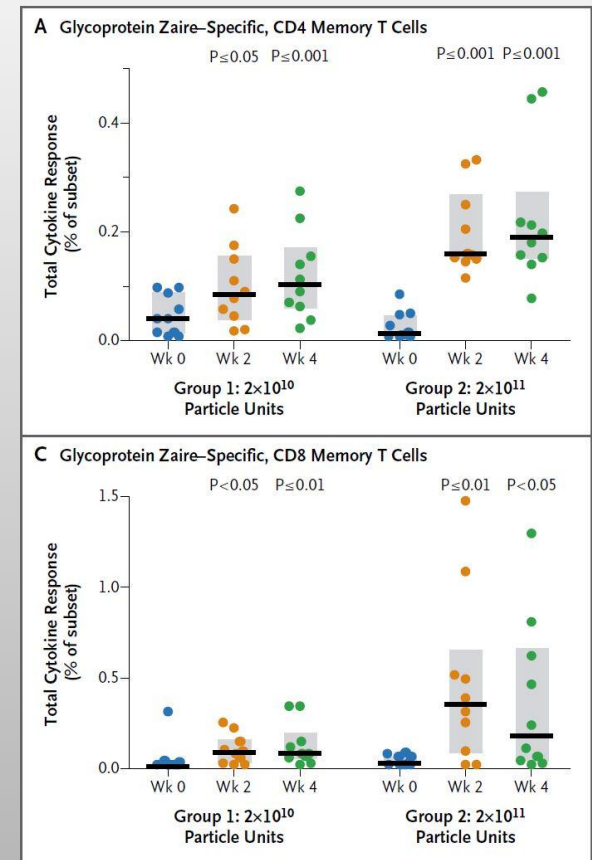
~ Phase I réalisée chez 20 sujets, injection d'une dose de  $10^{10}$  ou  $10^{11}$  PFU de **ChAd3-GP EboZ/S**

Effets indésirables peu nombreux et très légers

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE



- Induction d'une réponse humorale robuste et d'une réponse cellulaire T CD4+ et CD8+ contre les virus Zaïre et Soudan
- Etude sur 60 patients donnent des résultats équivalents
- Phase II/III doivent être démarrées incessamment



# Un autre candidat, basé sur le vaccin rougeole

- ~ Un vaccin utilisé chez des millions de personnes depuis un grand nombre d'années
- ~ Très immunogène (**bivalence rougeole – autre**), pas de problème d'immunité pré-existante

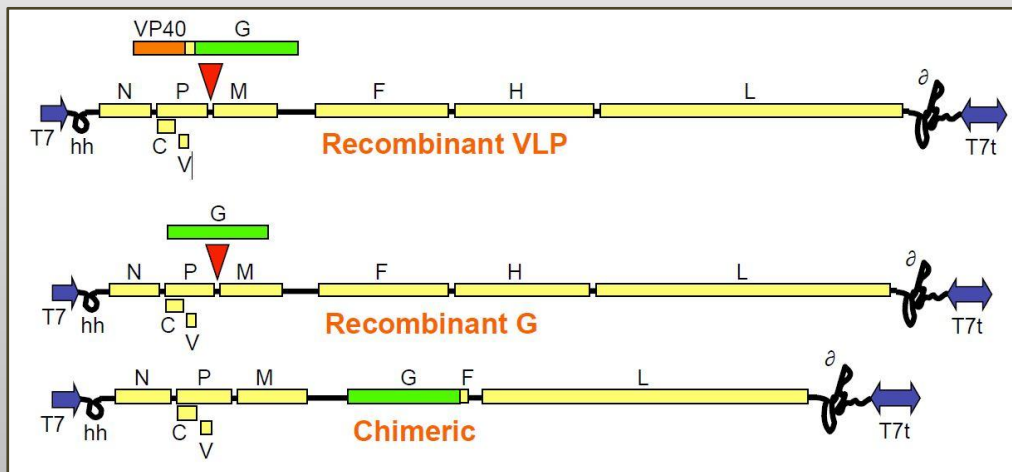
Intérêt économique pour les maladies négligées

- ~ Déjà appliqué à de nombreux pathogènes: HIV, Chik, dengue, WN, SARS, Flu, RSV, palu, TB

## Phase I MV-Chik et MV-HIV réalisées:

immunisation en dépit d'une immunité pré-existante  
excellente tolérance, pas d'effet indésirable

Collaboration avec F. Tangy,  
Unité de Génomique Virale  
et Vaccination, IP Paris



- Trois candidats différents
- Evaluation possible chez la souris IFNAR KO – hCD46
- Dans le contexte actuel, essai directement chez le PNH

Un candidat prometteur, approche également utilisée pour le virus Lassa