

**UNIVERSITE MONTPELLIER 2
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

T H E S E

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER 2

Discipline : Biologie-Santé

Ecole Doctorale : CBS2

présentée et soutenue publiquement

par

Cécile Néel

Le 6 décembre 2010

EPIDEMIOLOGIE DU VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE SIMIENNE CHEZ LES GORILLES:

**Prévalence et transmission du SIVgor chez les gorilles
en milieu naturel au Cameroun**

JURY

M. Thierry Dupressoir	Directeur d'étude - EPHE, Université de Montpellier II	Président
M. Hervé Fleury,	Professeur à l'Université de Bordeaux II	Rapporteur
M. Eric Leroy	Directeur de Recherche, IRD, Gabon	Rapporteur
M. Eric Nerrienet	Directeur de Recherche Institut Pasteur, Cambodge	Examineur
M. Michel Segondy	Maître de Conférence, Université de Montpellier I	Examineur
M. Eric Delaporte	Professeur à l'Université de Montpellier I	Directeur de thèse

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier les personnes avec qui, depuis 2005, j'ai arpenté les coins et recoins du Cameroun pour ce projet; celles avec qui j'ai partagé des milliers d'heures dans la forêt, les galères comme les moments exceptionnels, les négociations interminables au village, les nuits sous l'eau, les charges de gorilles, de buffles et d'éléphants, les invasions de fourmis, les marécages, les orages tropicaux, les ponts cassés, les discussions autour du feu, les bonnes soirées le jour de la sortie de forêt... et des tonnes de souvenirs : Innocent Ndong Bass, Joseph Moudindo, Aimé Mebenga et Alfred Ngui Essono. Bien sûr, avec nous, il y avait les guides, Kitoko, Francis, Mohamed, Jean-pierre, Messila, David et Lazare et tous ceux qui nous ont accompagnés de manière ponctuelle dans nos missions, sans ces personnes, il n'y aurait pas eu autant d'échantillons pour mener à bien ce projet et les autres. Merci également aux autres personnes du projet PRESICA.

A Montpellier, j'ai eu la chance de travailler avec Lucie Etienne. Je pense que sans notre amitié et notre complémentarité, nos deux projets auraient eu beaucoup plus de mal à aboutir. Nos discussions, notre enthousiasme et même nos désillusions ont été pour moi toujours enrichissants. Tout cela m'a donné beaucoup d'énergie !

Evidemment toutes les « filles » ont été d'une aide et d'un réconfort précieux et je les remercie pour leur amitié : Christelle qui, entre autres, m'a appris l'art subtil de manier la pipette ; Coralie et Audrey, qui ont toujours su gérer la logistique, même à 6000 km de distance ; Amandine et ses exceptionnelles capacités d'extraction d'acides nucléiques, quels qu'ils soient ; Marjorie pour ses notions inégalables de diplomatie ; Anne-Sophie, dont les problèmes logistiques de rédaction de rapport m'ont permis d'anticiper les miens ; Céline, et ses déboires parfois étrangement ressemblant aux miens ; Sabrina, à qui je souhaite le meilleur pour la suite, ainsi que Nicole, Fatima, Sabrina et Suzanne. Et puis les rares hommes de l'équipe, Steve, pour avoir élargi le concept du point Godwin ; Ahidjo, pour ses connaissances hors du commun ; Florian, pour les moments de forêt partagés, et Avelin, pour le soutien logistique en mon absence du Cameroun.

Je remercie également M. Delaporte et Mme Peeters pour leur encadrement et pour m'avoir donné la chance de découvrir un autre sujet que le mien.

Je tiens à remercier les rapporteurs, M. Leroy et M. Fleury pour le temps qu'ils ont consacré à relire mon travail et leurs remarques pertinentes, ainsi que tous les membres du jury qui ont accepté de juger cette thèse, M. Segondy, M. Dupressoir et M. Nerrienet.

Merci à Marie-Laure pour sa précieuse relecture, et enfin, ceux qui, de près ou de loin, m'ont soutenu pendant ces années, Yves & Nicole ; Fanny & Laurent, Anna & Jeanne, Lynn, Charlotte, Ofir, Eric & Cecilia, Victor & Hugo....

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	3
ABREVIATIONS	15
<u>CHAP 1 : INTRODUCTION</u>.....	19
1- Le virus de l'immunodéficience humaine.....	19
1.1 <i>La découverte du VIH</i>	19
1.2 <i>Classification, Structure et Diversité génétique des VIH</i>	20
1.2.1 Classification.....	20
1.2.2 Structure et organisation génomique des VIH	21
1.2.3 Diversité génétique	22
1.2.3.1 Facteurs de diversité génétique	22
1.2.3.2 Classification.....	23
1.3 <i>Cycle de réplication virale</i>	25
1.4 <i>Modes de transmission du VIH chez l'homme</i>	27
1.4.1 Transmission horizontale	27
1.4.1 Transmission verticale	27
1.5 <i>Diagnostic de l'infection VIH</i>	28
1.5.1 Diagnostic sérologique.....	28
1.5.2 Diagnostic moléculaire	29
1.5 <i>Situation épidémiologique</i>	30
1.5.1 Pandémie en terme de nombre de personnes infectées par le VIH.....	30
1.5.2 Pandémie et groupes de transmission	30
1.5.3 Pandémie en terme de variants génétiques du VIH	31
1.5.4 Le cas du Cameroun.....	32
2- Origine des virus VIH et histoire naturelle des SIV.....	33
2.1 <i>La découverte de l'origine zoonotique des VIH</i>	33
2.2 <i>Les SIV chez les petits primates Africains</i>	34
2.2.1 Diversité des SIV et hôtes naturels	34

2.2.2 Histoire complexe des SIV : co-évolution, transmissions inter-espèces et recombinaisons	39
2.2.4 Modes de transmission du SIV	44
2.2.3 Epidémiologie et pathogénicité chez les petits primates africains	45
2.2.3.1 Prévalence en milieu naturel	45
2.2.3.2 Pathogénicité des SIV	48
3 - origine et histoire naturelle du VIH-1	48
3.1 <i>Les virus des chimpanzés, le SIVcpz</i>	48
3.1.1 Origine des virus SIVcpz.....	48
3.1.2 Localisation géographique des virus SIVcpz et mise en place de méthodes non invasives.....	51
3.1.3 La découverte des réservoirs des groupes M et N	52
3.1.4 La diversité génétique du SIVcpz.....	54
3.1.5 Pathogénicité du SIVcpz	55
3.2 <i>Les virus des gorilles, le SIVgor</i>	57
3.2.1 Répartition géographique des gorilles.....	57
3.2.2 La découverte du SIVgor et les VIH-1 groupe O et P	58
3.3 <i>Les transmissions inter-espèces entre chimpanzés, gorilles et Homme</i>	61
3.4 <i>Origine des virus et origine de la pandémie</i>	61
4 - elements de socio écologie des grands singes et transmission des pathogènes ...	63
4.1 <i>Relations hôte virus</i>	63
4.2 <i>Sympatrie des sous-espèces infectées</i>	64
4.3 <i>Organisations sociales</i>	65
4.3.1 Domaines vitaux et comportements à risque.....	65
4.3.2 Système de reproduction	66
4.4 <i>pathogènes communs et transmissibles entre les hominidés</i>	66
5 – Publications	67

<u>CHAP 2 : CONTEXTE et OBJECTIFS</u>	73
1- Contexte	73
2- Objectifs	75
2.1 Définir la prévalence globale de l'infection chez les gorilles sauvages.....	75
2.2 Etudier la relation entre la structure sociale de l'hôte et la transmission du virus SIVgor	76
2.2.1 La prévalence du SIVgor dans différents groupes sociaux de gorilles.....	77
2.2.2 La transmission du SIVgor dans différents groupes sociaux de gorilles	77
<u>CHAP 3 : PREVALENCE ET DISTRIBUTION DU SIV CHEZ LES GORILLES EN MILIEU NATUREL - COMPARAISON AVEC LES CHIMPANZES</u>	81
1 - Introduction	81
2 - Matériel et méthodes	82
2.1 Le terrain	82
2.1.1 Méthodologie de terrain	82
2.1.1.1 Logistique	82
2.1.1.2 Le suivi des traces de grands singes non habitués	84
2.1.1.3 Les données récoltées	88
2.1.2.4 Difficultés d'échantillonnage.....	89
2.1.2 Les sites de collecte : situation et caractéristiques.....	91
2.2 Etude des virus.....	96
2.2.1 Sérologie	96
2.2.2 Extraction des acides nucléiques.....	97
2.2.3 Amplification de l'ARN viral	98
2.2.4 Etude phylogénétique des fragments amplifiés	99
2.3 Etude des hôtes.....	100
2.3.1 Détermination de l'espèce	100
2.3.2 Microsatellites	101
3- Résultats	103
3.1 Echantillons collectés	103

3.2 Prévalence et distribution du SIV chez les grands singes	105
3.2.1 Prévalence chez les gorilles.....	105
3.2.1.1 Sérologie.....	105
3.2.1.2 Nombre d'individus collectés.....	106
3.2.1.3 Prévalence de l'infection chez les gorilles	108
3.2.2 Prévalence chez les chimpanzés.....	109
3.2.2.1 Sérologie.....	109
3.2.2.2 Nombre d'individus collectés.....	109
3.2.2.3 Prévalence de l'infection chez les chimpanzés.....	110
3.2.3 Prévalences et distributions comparées du SIV chez les deux sous-espèces <i>Ptt</i> et <i>Ggg</i>	110
3.3 Diversité génétique des SIV chez les grands singes.....	112
3.3.1 Amplification de l'ARN viral	112
3.3.2 Phylogénie des nouveaux virus SIVgor.....	114
4- Discussion.....	115
4.1 Prévalence des infections SIV chez les chimpanzés <i>Ptt</i> et les Gorilles <i>Ggg</i> au Cameroun	115
4.2 Diversité génétique et phylogéographie des SIVcpz et SIVgor au Cameroun	117
4.3 Les transmissions inter-espèces	118
4.3.1 Transmission entre les grands singes.....	118
4.3.2 Transmission des grands singes à l'homme	119
5 - Publications :	120
<u>CHAP 4: LA RELATION ENTRE LA STRUCTURE SOCIALE DE L'HÔTE ET LA TRANSMISSION DES SIVgor EN MILIEU NATUREL.....</u>	125
<u>Partie 1: La prévalence de l'infection dans différents groupes sociaux de gorilles...</u>	129
1- Introduction	129
2- Sites et méthodes spécifiques	130
2.1 Le site de Campo Ma'an.....	130
2.2 Le site de Djoum.....	132

2.3 Les méthodes spécifiques	132
2.3.1 Les différentes missions	132
2.3.1.1 Campo Ma'an.....	132
2.3.1.2 Djoum	134
2.3.2 Analyse des microsatellites et définition des groupes	135
2- Résultats.....	136
2.1 Campo Ma'an	136
2.1.1 Localisation des échantillons positifs	136
2.1.2 Prévalence de l'infection dans les groupes	137
2.1.2.1 Identification des individus	137
2.1.2.2 Identification des différents groupes infectés.....	142
2.1.2.3 Prévalence à l'échelle des groupes	144
2.2 Djoum.....	145
2.2.1 Localisation des échantillons	145
2.2.2 Prévalence de l'infection dans les groupes à Djoum	146
2.2.2.1 Identification des individus infectés et de leur groupe d'appartenance.	146
2.2.2.2. Prévalence de l'infection dans les groupes	149
2.3 Phylogénie des virus caractérisés.....	150
3- Discussion.....	151
<u>Partie 2: La transmission du SIVgor dans différents groupes sociaux de gorilles :</u>	
<u>étude de suivi sur le site de Campo Ma'an.....</u>	157
1- Introduction	157
2- Résultats.....	158
2.1 Campo Ma'an : les nouveaux échantillons de CP-GR collectés en 2008 et 2009	158
2.1.1 Les nouveaux échantillons positifs.....	158
2.1.2 Les groupes contenant des gorilles positifs.....	164
2.1.2.1 Prévalence de l'infection SIVgor dans les groupes.....	164
2.1.2.2 Les déplacements des groupes	165
2.1.3 Phylogénie des virus caractérisés.....	166
2.2 Evolution de l'infection SIVgor à CP-GR de 2004 à 2009	168
2.2.1 Les cas de séroconversions.....	168

2.2.2 Evolution de la prévalence à CP-GR de 2004 à 2009	170
2.2.3 L'infection comparée chez les mâles et les femelles	172
2.3 <i>Relations entre les hôtes et transmission du SIV</i>	173
2.3.1 Les possibilités de transmissions verticales mère-enfant	174
2.3.2 Les possibilités de transmissions horizontales	176
3- Discussion	177
3.1 <i>La prévalence de l'infection SIVgor de 2004 à 2009 à CP-GR</i>	177
3.2 <i>La transmission du virus SIVgor chez les gorilles</i>	179
3.2.1 Les transmissions intra-groupe	179
3.2.2 Les transmissions inter-groupes	180
4- Conclusion	180
<u>CHAP 5 : DISCUSSION GENERALE</u>	185
1– Epidémiologie SIV chez les grands singes	185
1.1 <i>Epidémiologie des infections SIV des gorilles et des chimpanzés</i>	185
1.1.1 Fitness des SIVgor et SIVcpz : le potentiel de contamination	186
1.1.2 Différences socio-écologiques et comportementales : potentiel de transmission du virus chez les grands singes	186
1.2 <i>Potentiel de transmission chez les gorilles</i>	188
1.2.1 Intra-groupe	188
1.2.2 Inter-groupes	189
1.2.3 Potentiel pour une dissémination du virus sur de grandes distances à l'échelle d'une population	189
1.3 <i>Potentiel de transmission chez les chimpanzés</i>	190
1.3.1 Intra-communautaire	190
1.3.2 Inter-communautaires	191
1.4 <i>Potentialité comparée pour la dissémination du SIV chez les gorilles et les chimpanzés</i>	191
2– SIVgor : un risque pour les hommes ? Une menace pour les gorilles ?	192
2.1 <i>La transmission inter-espèces du SIVgor</i>	192

2.2 Une nouvelle menace pour les gorilles infectés ?	193
<u>CHAP 6 : CONCLUSION ET PERSPECTIVES</u>	197
1- L'importance de la prospection dans toute l'aire de répartition des gorilles et de la détection du SIVgor	197
2- La dynamique de l'infection chez son hôte naturel : amélioration des méthodes pour confirmer les résultats.....	198
3- La pathogénicité du SIVgor chez son hôte naturel.....	200
<u>ANNEXE</u>	201
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	201

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Relations phylogénétiques entres les sept différents genres de rétrovirus.	20
Figure 2 : Représentation schématique simplifiée d'une particule rétrovirale du VIH	21
Figure 3 : Représentation schématique de l'organisation génomique des VIH-1 et VIH-2....	22
Figure 4 : Relations phylogénétiques entre les différents groupes de VIH-1 et VIH-2.	24
Figure 5 : Représentation schématique du cycle de réplication du VIH.....	26
Figure 6 : Nombre de personnes touchées par le VIH dans différentes régions du monde en 2009.....	30
Figure 7 : Distribution des différents variants génétiques du VIH dans le monde.	32
Figure 8 : Taxonomie des primates et répartition géographique dans le monde.	35
Figure 9 : Arbre phylogénétique d'un alignement de séquence partielle du gène <i>pol</i> de SIV chez différentes espèces de primates..	38
Figure 10 : Aire de répartition des différentes espèces de <i>Chlorocebus</i> porteurs de SIV	40
Figure 11 : Aire de répartition des <i>Colobinae</i> infectés par des SIV.	41
Figure 12 : Aires de répartition de deux espèces de <i>Chlorocebus</i> , d'une espèce de <i>Erythrocebus</i> et de deux espèces de <i>Papio</i> porteurs de SIV.....	42
Figure 13 : Comportement inter-spécifiques à risque.....	42
Figure 14 : Aires de répartition des quatre sous-espèces de chimpanzés.....	49
Figure 15 : Représentation phylogénétique des souches de SIV de différents primates sur les gènes partiels <i>pol</i> et <i>env</i>	50
Figure 16 : Etude phylogéographique des SIVcpz identifiés dans différentes communautés de chimpanzés au Cameroun.	54
Figure 17 : Aires de répartition des différentes espèces de gorilles en Afrique Centrale	58
Figure 18 : Arbre phylogénétique représentant les séquences partielles du gène <i>pol</i> des virus HIV-1, SIVcpz, et SIVgor.	59
Figure 19 : Un pont cassé sur la route d'une mission	83
Figure 20 : Illustration de la différence entre une empreinte de gorille et de chimpanzé	85
Figure 21 : Tiges de marantacées consommées par des gorilles et fruit de parasolier consommé par de chimpanzés	86
Figure 22 : Illustration de la collecte de fèces dans un nid de gorille.....	89
Figure 23 : Localisation et statut légal des différents sites de prospection.	91
Figure 24 : Sites de collecte de fèces de grands singes..	96
Figure 25 : Réactions aux test de sérologie des échantillons de gorilles positifs de Campo Ma'an	105
Figure 26 : Réactions aux tests de sérologie Inno Lia des échantillons de gorilles positifs de Djoum	106

Figure 27 : Réactions aux tests de sérologie Inno Lia des échantillons de chimpanzés positifs de Campo (CP), Djoum (DJ), Mambélé (MB) et Mboy (BY).....	109
Figure 28 : Distribution du SIVgor et SIVcpz au Cameroun et dans des sites frontaliers....	112
Figure 29 : Arbres phylogénétiques représentant des fragments du gène <i>pol</i> et <i>gp41</i> pour les quatre groupes de VIH-1, les SIVcpz et les nouveaux SIVgor découverts	115
Figure 30 : Carte du Parc National de Campo Ma'an.....	130
Figure 31 : Localisation de la zone de prospection de Djoum	132
Figure 32 : Les différentes zones de prospection dans le site de Campo Ma'an	133
Figure 33 : Localisation des échantillons positifs et des différents groupes de nids de gorilles collectés dans le site de Campo Ma'an.	143
Figure 34 : Localisation des gorilles positifs et des groupes de nids contenant des individus positifs dans le site de Djoum.....	148
Figure 35 : Analyse phylogénétique des séquences nucléotides partielles sur le gène env des nouvelles souches de SIVgor.	150
Figure 36 : Cartographie des échantillons positifs collectés à Campo de 2004 à 2009	158
Figure 37 : Position géographique de toutes les fèces de gorilles, positives et négatives en sérologie SIV, collectées entre 2004 et 2009 à Campo	159
Figure 38 : Position des groupes de nids contenant des échantillons positifs et estimation de la prévalence à Campo	164
Figure 40 : Arbre phylogénétique représentant les virus SIVgor découverts chez les gorilles de CP, DJ et BQ.....	167
Figure 41 : Estimation de la prévalence du SIVgor à CP-GR de 2006 à 2009	171
Figure 42 : Compatibilités de génotype pour des relations de filiation mère/enfant et Arbre phylogénétique des virus identifiés chez les gorilles de CP-GR	175

TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des espèces infectées avec un SIV.	37
Tableau 2 : Prévalence de l'infection SIV pour plusieurs espèces de primates.	47
Tableau 3 : Liste des oligonucléotides utilisés pour amplifier les segments <i>pol</i> et <i>env</i> SIVcpz et SIVgor	99
Tableau 4 : Oligonucléotides utilisés pour la confirmation de l'espèce	101
Tableau 5 : Liste des oligonucléotides utilisés pour l'amplification de microsatellites	102
Tableau 6 : Sites de collecte et nombre d'échantillon par site (gorilles, chimpanzés et autres espèces de primates)	104
Tableau 7 : Identification des différents gorilles collectés.....	107
Tableau 8 : Identification des différents chimpanzés collectés.	110
Tableau 9 : Calcul des prévalences de l'infection SIVcpz et SIVgor dans les différents sites de collecte.....	111
Tableau 10 : Résultats de sérologie et d'amplification de fragments de l'ARN viral pour les échantillons positifs collectés	114

Tableau 11 : Quelques exemples d'estimations de densité de grands singes dans différents sites d'Afrique Centrale	131
Tableau 12 : Description des six zones de prospection dans le site de Campo Ma'an	134
Tableau 13 : Nombre d'échantillons de gorilles et de chimpanzés collectés à Campo Ma'an, par année et par zone de collecte	137
Tableau 14 : Identification de différents gorilles échantillonnés.....	141
Tableau 15 : Calcul de la prévalence à l'échelle des groupes	144
Tableau 16 : Nombre d'échantillons et d'individus identifiés à Djoum.....	146
Tableau 17 : Identification des différents gorilles positifs échantillonnés..	147
Tableau 18 : Calcul de la prévalence à l'échelle des groupes	149
Tableau 19 : Nombre d'échantillons de gorilles collectés et nombre de gorilles positifs en 2008 et 2009.	160
Tableau 20 : Identification par analyse des microsatellites.....	163
Tableau 21 : Identification des groupes contenant des gorilles positifs et évaluation de la prévalence.	165
Tableau 22 : Identification des individus négatifs de 2004 et 2006.....	169
Tableau 23 : Prévalence de l'infection SIVgor à CP-GR de 2004 à 2009	171
Tableau 24 : Nombre de femelles et de mâles gorilles positifs collectés de 2004 à 2009 et calcul du ratio pour chaque genre à CP-GR.....	172
Tableau 25 : Nombre de femelles et de mâles chimpanzés positifs collectés de 2004 à 2009, et calcul du ratio pour chaque genre pour 6 sites de collectes.....	173
Tableau 26 : Facteurs socio-écologiques et comportementaux pouvant avoir un impact sur la transmission des SIV chez les 2 espèces.....	187

ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique	PCR : <i>Polymerase Chain Reaction</i>
AGM: African Green Monkeys (singes verts)	PNH : Primates non humains
ANRS: Agence Nationale de Recherche sur le SIDA	PRESICA : Prévention SIDA Cameroun
ARN: Acide ribonucléique	<i>pol</i> : gène codant les protéines Pol (<i>polymerase</i>) Je remercie également les
ARNm : ARN messenger	<i>rev</i> : Regulation of expression of viral proteins
ARV: Antirétroviraux	RT : Reverse Transcriptase
CD4: <i>Cluster of Differentiation-4</i>	RDC : République Démocratique du Congo
CRF: Circulating recombinant forms	RCA : République Centrafricaine
<i>env</i> : gène codant les protéines de l'enveloppe virale	SIDA : Syndrome de l'Immunodéficience Acquise
FIV: Feline Immunodeficiency Virus	SIV: Simian Immunodeficiency Virus
<i>gag</i> : gène codant les protéines Gag (<i>group-specific antigen</i>)	SSR: Simple Sequence Repeats
GPS: Global Positioning System	<i>tat</i> : Transactivator of transcription
HTLV: Human T-Lymphotropic Virus	<i>tax</i> : transactivator of pX
IKA: Indice Kilométrique d'Abondance	URF: Unique Recombinant Form
IgG: Immunoglobuline de type G	UFA: Unité Forestière d'Aménagement
LAV: Lymphadenopathy Associated Virus	<i>vif</i> : Virion infectivity factor
LTR: Long Terminal Repeat	VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
MRCA: Most Recent Common Ancestor	<i>vpr</i> : Viral protein r
<i>nef</i> : Negative regulatory factor	<i>vpu</i> : Viral protein u
ONU: Organisation des Nations Unies	<i>vpx</i> : Viral protein x
ONG: Organisation Non Gouvernementale	WCS: Wildlife Conservation Society
OPV: Oral Polio Vaccine	WWF: World Wildlife Fund
PBMC: Peripheral Blood Mononuclear Cell	WB: Western Blot
Pb : Paire de bases	

CHAPITRE 1

INTRODUCTION : Le VIH et ses origines

CHAP 1 : INTRODUCTION

1- LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE

1.1 La découverte du VIH

C'est en 1981 que les premières descriptions des symptômes cliniques du SIDA (syndrome de l'immunodéficience acquise) ont été faites alors qu'une épidémie découverte rétrospectivement, sévit dans les milieux homosexuels aux Etats-Unis depuis plusieurs années. L'hypothèse d'un agent infectieux transmissible par voie sexuelle et sanguine commence à faire son apparition lorsque des symptômes similaires sont décrits chez des patients transfusés et des toxicomanes [1-2].

En 1983, le virus responsable du SIDA est isolé et décrit par une équipe de l'Institut Pasteur qui le nomme le LAV (Lymphadenopathy Associated Virus) [3]. Un an plus tard, une équipe américaine isole le virus supposé être l'agent causal du SIDA et le considère comme le HTLV III (Human T-Lymphotropic Virus type III) [4-5]. La même année, une nouvelle équipe américaine travaillant sur le même sujet découvre ce qu'elle appelle le ARV pour « AIDS Related Virus » [6].

Finalement, le virus LAV de l'institut pasteur est séquencé pour la première fois en 1985 [7-8] et l'identité commune entre ces trois virus, LAV, HTLV-III et ARV est confirmée [9]. La nomenclature de ce virus changea alors officiellement en VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine). La même année, un second virus, le LAV-2, provenant d'un malade du SIDA originaire d'Afrique de l'Ouest est isolé [10]. La séquence est publiée en 1986 [11].

Deux types distincts de VIH sont alors reconnus : le VIH-1 et le VIH-2.

Depuis 1987, le VIH/SIDA est considéré comme une pandémie mondiale, avec plus de 33 millions de malades recensés par l'ONU SIDA en 2008 (31,1 – 35,8 millions). Selon ces mêmes estimations, 2,7 millions de personnes ont été nouvellement contaminées en 2008 et environ 2 millions sont décédées des conséquences de cette maladie la même année [12]. Ces données permettent de supposer que plus de 25 millions de personnes sont mortes depuis le début de la découverte du SIDA en 1981, ce qui fait de cette maladie l'une des plus graves et des plus fréquente, ainsi que la plus importante maladie infectieuse ayant émergé au vingtième siècle.

1.2 Classification, Structure et Diversité génétique des VIH

1.2.1 Classification

Les VIH sont des lentivirus de la famille des *retroviridae* qui comprend un grand nombre de virus infectant différentes espèces animales. Sur la base des études phylogénétiques, les rétrovirus sont classés en sept genres que sont les lentivirus, les alpharétrovirus, les betarétrovirus, les deltarétrovirus, les gammarétrovirus, les epsilon-rétrovirus et les spumarétrovirus.

Les lentivirus ont été décrits et découverts chez plusieurs mammifères depuis les années cinquante. Il a été suggéré dès 1985, un lien de parenté entre le virus du *Maedi visna* du mouton et le VIH chez l'homme, appelé à l'époque HTLV-III [13]. D'autres virus, responsables de l'anémie infectieuse du cheval, de l'encéphalite de la chèvre et de l'immunodéficience chez les bovins, les félins et les primates (BIV, FIV, SIV) ont été isolés. Ils ont en commun d'avoir une évolution lente avant le développement de la maladie.

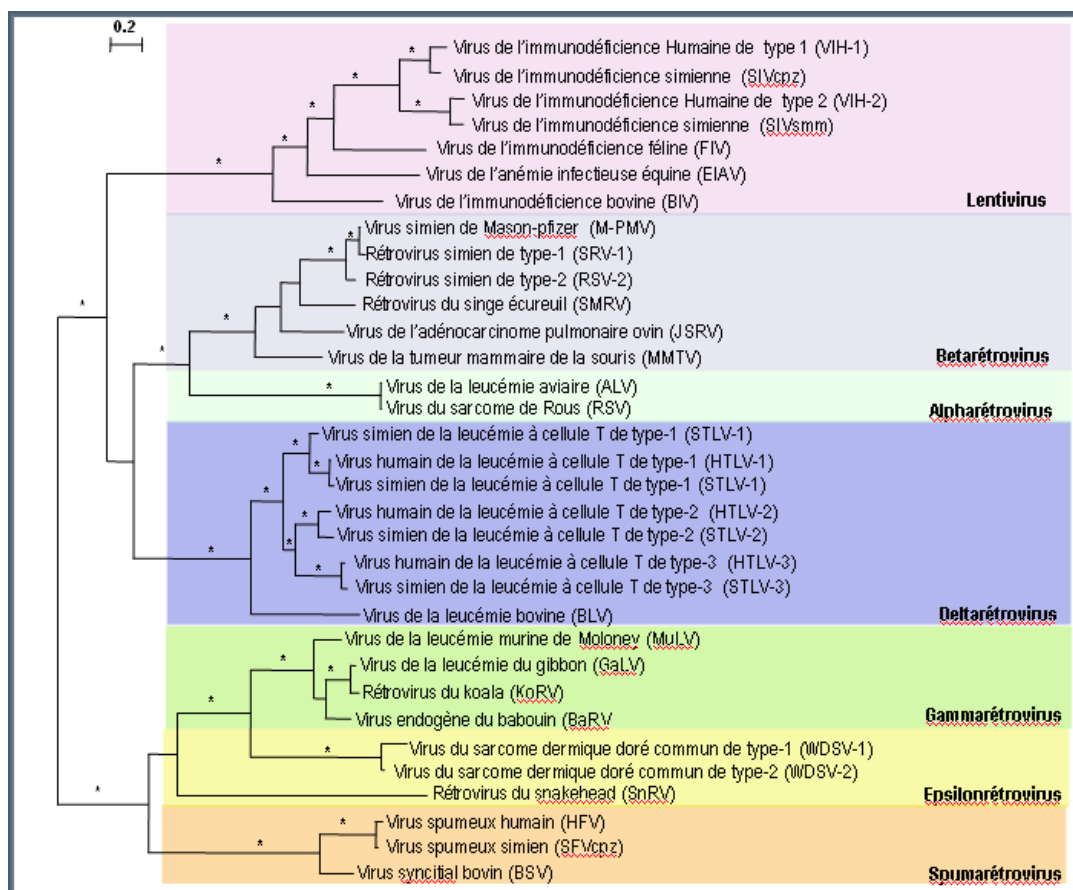


Figure 1 : Relations phylogénétiques entre les sept différents genres de rétrovirus. L'arbre phylogénétique a été construit par la méthode du maximum de vraisemblance sur les séquences protéiques partielles du gène *pol* (d'après F. Liégeois).

1.2.2 Structure et organisation génomique des VIH

Les rétrovirus sont des virus à ARN (acide ribonucléique), dont le génome est transcrit en ADN (acide désoxyribonucléique) dans la cellule de son hôte par l'action de l'enzyme transcriptase inverse (RT), puis intègre l'ADN cellulaire de l'hôte sous forme d'un provirus par ses deux extrémités appelées LTR (pour *long terminal repeat* = séquences terminales redondantes). Les lentivirus de primates possèdent environ 9000 paires de bases et, comme tous les rétrovirus, ont trois gènes de structure : *gag* (pour *group antigen*), *pol* (pour polymérase virale = transcriptase inverse) et *env* (les glycoprotéines de l'enveloppe).

Le VIH est composé, à l'extérieur, d'une enveloppe membranaire (bicouche lipidique) hérissée de spicules glycoprotéines. Celles-ci sont formées de deux parties, interne (gp41) et externe (gp120) et sont codées par le gène *env*.

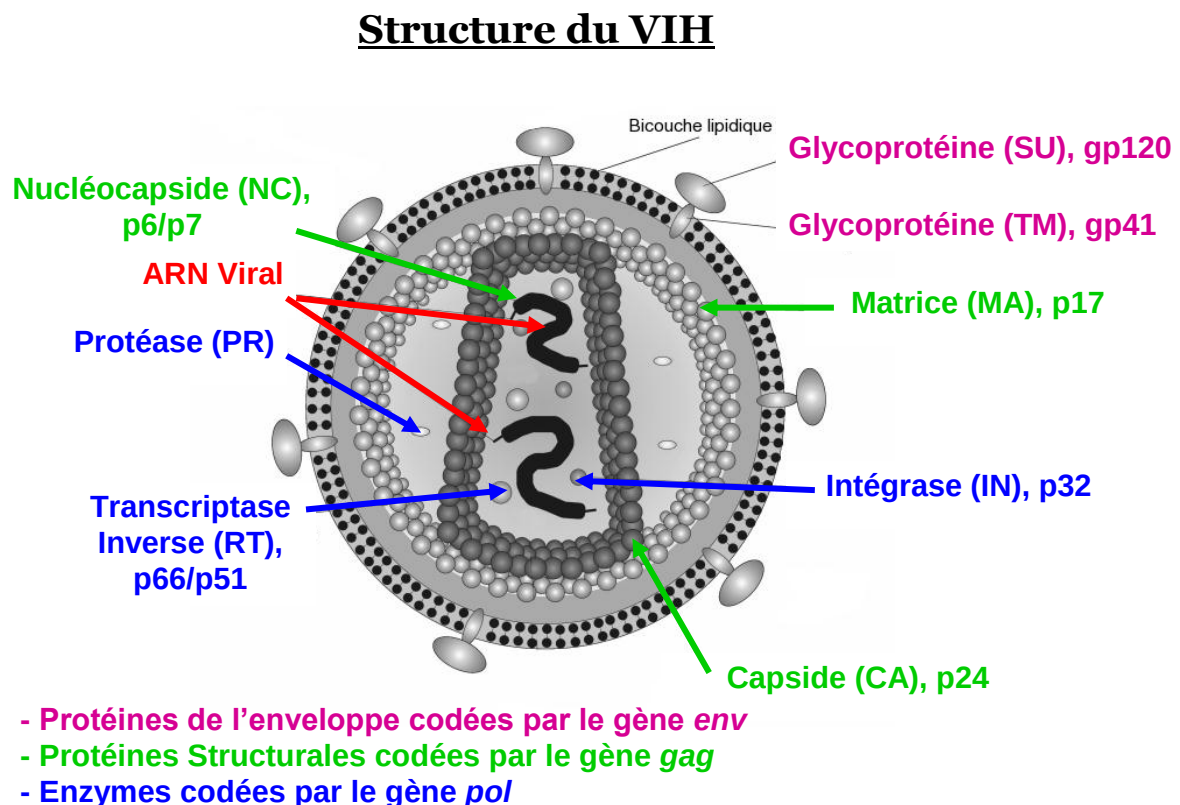


Figure 2 : Représentation schématique simplifiée d'une particule rétrovirale du VIH

Le gène *gag* code les protéines de la matrice (p17) qui est la face interne de l'enveloppe, de la capsid virale (p24) et de la nucléocapside (p7 à p11) entourant l'ARN viral. Quant au gène *pol*, il code les enzymes nécessaires à la réplication : la transcriptase inverse, située à l'intérieur de la capsid, associée à une intégrase et à une protéase.

En plus de ces gènes de structure, le virus du VIH possède également des gènes supplémentaires qui jouent un rôle dans son pouvoir pathogène et codent des protéines régulatrices. Il s'agit de *Tat* (Activation de la transcription), *Rev* (Régulation de l'expression des protéines virales), *Vif* (Virion infectivity factor, qui augmente le pouvoir d'infection des nouveaux virions), *Nef* (Negative regulatory factor, qui favorise la réplication) et *Vpr* (Viral protein r). Il existe également, chez les VIH et certains SIV un gène codant une protéine supplémentaire qui peut être *Vpu* (Viral protein u) ou *Vpx* (Viral protein x).

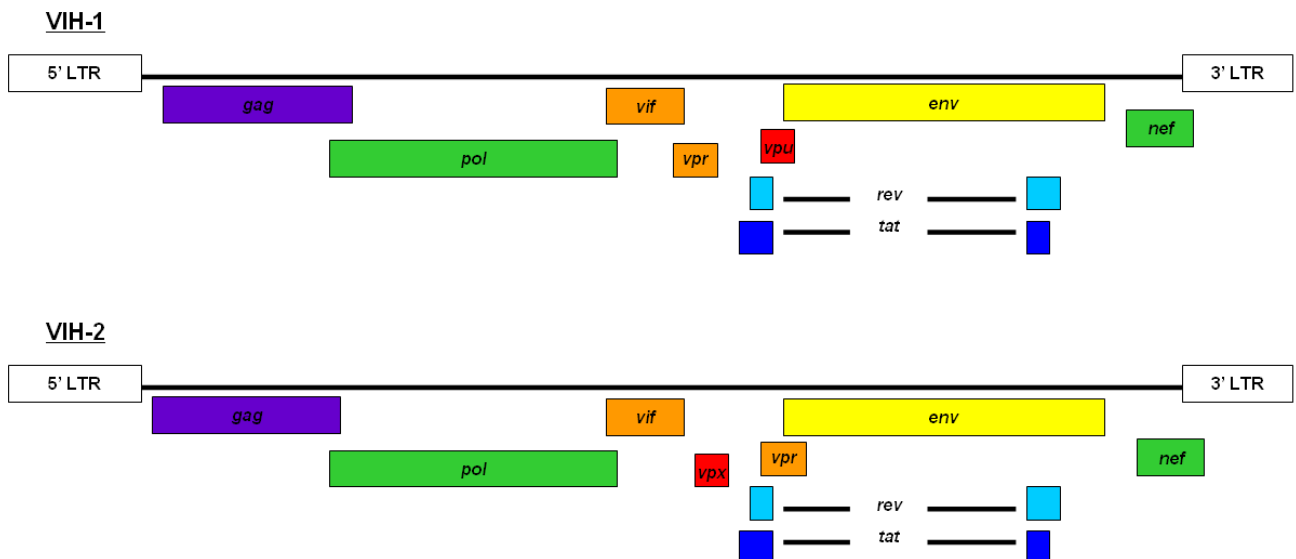


Figure 3 : Représentation schématique de l'organisation génomique des VIH-1 et VIH-2

1.2.3 Diversité génétique

1.2.3.1 Facteurs de diversité génétique

Les VIH présentent une grande variabilité génétique, due à leur taux élevé de répliquations, mutations et recombinaisons. L'importance de ces mutations est principalement due à l'action de la transcriptase inverse qui a une spécificité et une fidélité faibles, induisant des erreurs de transcription. Le génome des VIH possède moins de 10 000 paires de bases et

les erreurs de transcription ayant pour conséquence la substitution d'un nucléotide peuvent avoir un taux de 1/2000 à 1/4000. [14] Etant donné le nombre important de répliquions de virions, un organisme infecté porte des virus génétiquement différents (de 1% à 5% en moyenne). C'est une population de virus appelée quasi-espèce [15].

La variabilité du génome viral n'est cependant pas la même pour tous les gènes : le gène *env* est plus variable que le gène *pol* qui est plus conservé. En effet, les virions produits ne seront multipliés que dans le cas où ils ont gardé leur capacité de répliquion et donc les propriétés fonctionnelles de leurs protéines. Les mutations qui seront alors sélectionnées sont celles n'altérant pas ces fonctions. C'est une pression sélective, observée plus particulièrement au niveau du gène *pol* [16]. Il existe également une sélection qualifiée de positive, c'est-à-dire qui favorise certaines mutations changeant la structure des protéines. En effet, la réponse immunitaire de l'hôte infecté peut engendrer la sélection de mutations permettant une meilleure adaptation du virus contre ces mécanismes. C'est plus particulièrement le cas dans les gènes *gag* et *env*.

1.2.3.2 Classification

La classification des différents virus VIH est basée sur les études phylogénétiques de leurs génomes. Ces études permettent de comparer les génomes des différents virus afin de déterminer leur évolution respective, reconstruire leurs liens de parenté et d'estimer la date de leur ancêtre commun le plus récent. Ce type de classification est représenté par un arbre phylogénétique illustrant la distance génétique des organismes étudiés. Les nœuds représentent l'ancêtre commun et la taille des branches, le temps de séparation. Par cette approche, les VIH sont classés en deux grands types, type 1 et type 2, eux-mêmes divisés en différents groupes, subdivisés en sous-types, en fonction de leur distance phylogénétique.

• Le VIH de type 1

On distingue quatre groupes de VIH type 1 : les groupes M, N, O et P

- Le groupe M (Major ou Main): Le VIH-1 groupe M est le virus responsable de la pandémie actuelle et représente plus de 99 % des infections mondiales. Il est lui-même subdivisé en neuf sous-types (A à D, F à H, J, et K) et il existe plus de 45 formes recombinantes circulantes (CRF01 à CRF45), ainsi que des formes uniques recombinantes (URF). Le

sous-type A comprend 4 sous-sous-types (A1, A2 et, de découverte plus récente, A3 et A4) et le sous-type F est subdivisé en deux sous-sous-types F1 et F2.

- Le groupe O (Outlier) : ce groupe, non pandémique, représente 1% des infections au Cameroun et on le retrouve aussi en nombre limité au Gabon et en Guinée Equatoriale [17].
- Le groupe N (non M et non O) : ce groupe, non pandémique, représente seulement une dizaine d'infections identifiées [18].
- Le groupe P, récemment découvert, a été identifié chez deux patients seulement [19-20].

• Le VIH de type 2 :

Le type 2 est composé de huit groupes, nommés de A à H. Les groupes A et B prédominent sur les six autres dont la prévalence est rare. Il est moins commun que le VIH-1 et est présent principalement en Afrique de l'Ouest. Le VIH-2 est moins virulent que le VIH-1 et possède un taux de transmissibilité moindre. D'ailleurs la prévalence de ce type de VIH, qui était majoritaire au début de l'épidémie en Afrique de l'Ouest au milieu des années 80, a largement diminué [21].

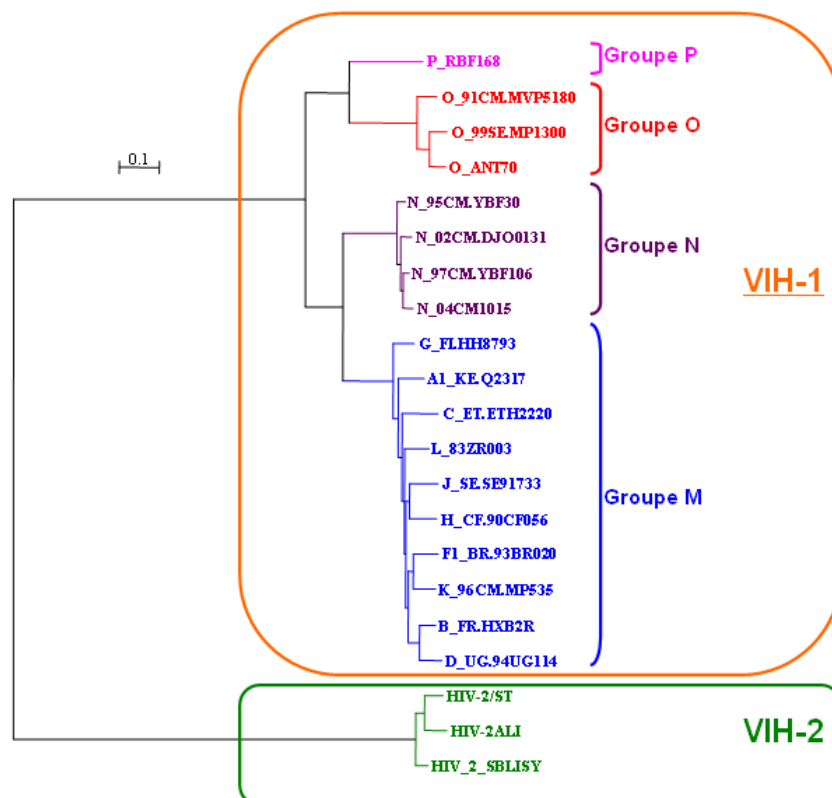


Figure 4 : Relations phylogénétiques entre les différents groupes de VIH-1 et le VIH-2. Arbre phylogénétique construit à partir de la méthode du « Neighbor-Joining » sur environ 3000 paires de bases dans le gène *Pol*

1.3 Cycle de réplication virale

Le VIH a pour cellules cibles celles possédant des récepteurs CD4 à leur surface, c'est-à-dire des cellules participant au système immunitaire : les cellules dendritiques, les macrophages et les lymphocytes T CD4+, ainsi que plus rarement les cellules microgliales cérébrales. Les protéines CD4 jouent le rôle de récepteurs et permettent la fixation du virus à la surface de la cellule cible grâce à la protéine gp120. La présence de corécepteur est également nécessaire. La gp41 est alors libérée et permet la fusion des deux membranes. La capside pénètre ensuite dans la cellule hôte et se désagrège, libérant les deux brins d'ARN et les enzymes présentes à l'intérieur. L'ARN est converti en double brin d'ADN par l'action de la transcriptase inverse. La transcription inverse permet la synthèse d'un ADN monocaténaire dans un premier temps, puis l'action de la RT induit la destruction de l'ARN sur une grande partie. L'ARN restant servira d'amorce à la synthèse du second brin d'ADN.

Cet ADN bicaténaire va pénétrer dans le noyau de la cellule puis, par l'action combinée de l'intégrase et d'autres protéines va s'intégrer dans le génome de la cellule hôte. Une fois intégré, le génome viral va être traduit en ARN messager (ARNm), de la même manière que l'ADN génomique de la cellule hôte. L'épissage, la traduction de l'ARNm, et la maturation des protéines virales ont lieu de la même manière que pour les protéines cellulaires. Par la suite les protéines, les enzymes et l'ARN s'assemblent puis sortent de la cellule en utilisant une partie de sa membrane, c'est le bourgeonnement.

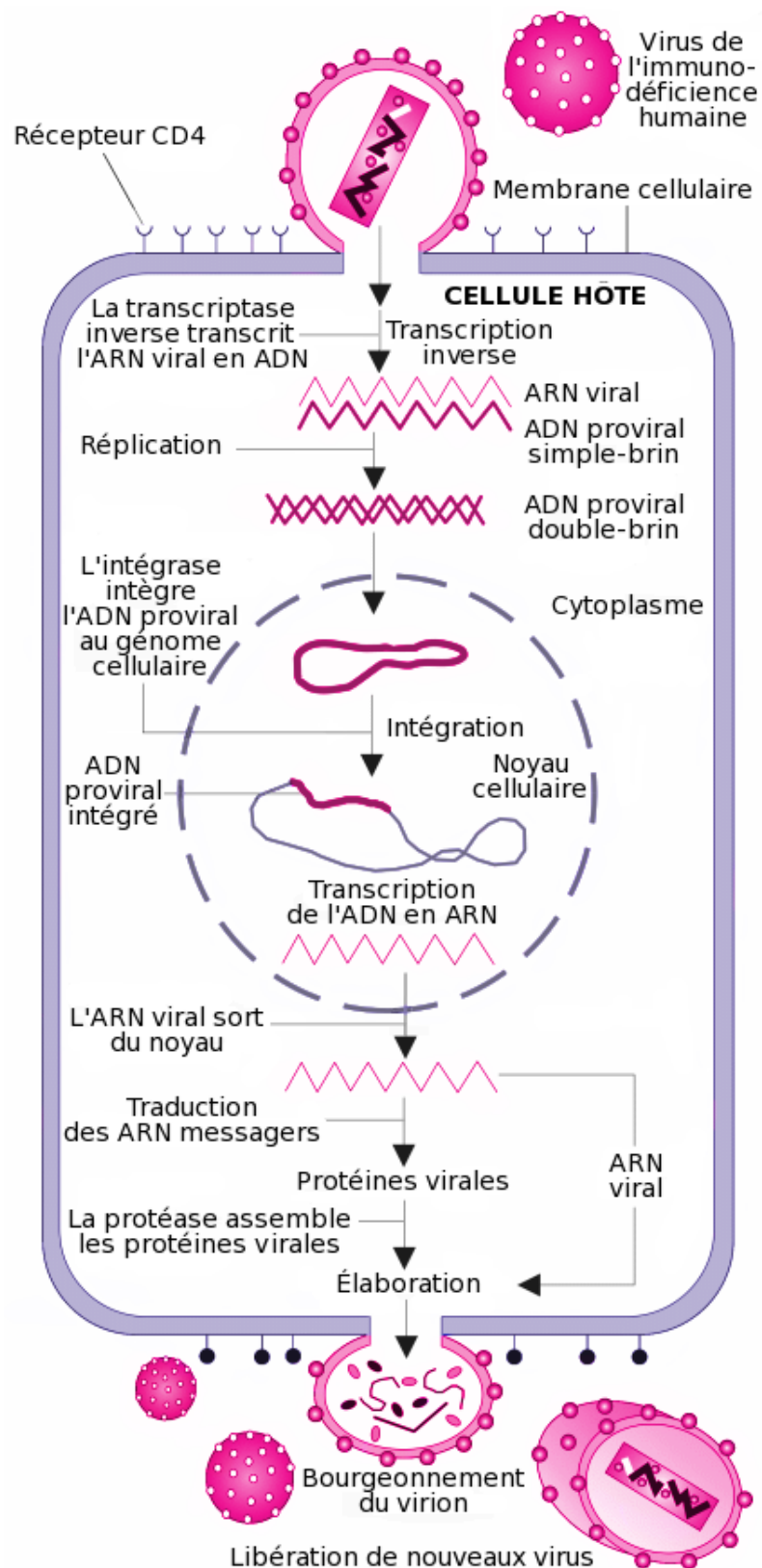


Figure 5 : Représentation schématique du cycle de réplication du VIH. Les différentes étapes de l'entrée, la réplication et le bourgeonnement du virus dans une cellule hôte. (Daniel Beyer, 2005, adapté par Idarvol, disponible sur *wikipédia*)

1.4 Modes de transmission du VIH chez l'homme

Il existe trois modes principaux de transmission du VIH chez l'homme.

1.4.1 Transmission horizontale

• La transmission sexuelle

La transmission sexuelle représente la majorité des cas d'infections dans le monde, lors de rapports non protégés. Cependant, le risque de transmission dépend de plusieurs facteurs, notamment la charge virale de la personne infectée, la présence de maladies/infections sexuellement transmissibles, la circoncision, la fréquence et la nature de l'exposition au virus par les différents actes sexuels.

Les différentes pratiques sexuelles ne représentent pas le même risque. Même si le pourcentage de risque varie dans la littérature, toutes les études concluent que le risque le plus élevé est une relation sexuelle réceptive anale non protégée [22].

• La transmission parentérale :

Ce mode de transmission regroupe les contacts avec les seringues contaminées, comme dans le cas du personnel médical ou des utilisateurs de drogue injectable, ainsi que les transfusions sanguines avec du sang contaminé. Les cas de transfert par le partage de seringue semble varier de 0 à 6,9%, alors que la transfusion sanguine représente le plus grand risque de contamination et varie entre 88,3 à 100% [23].

• Morsures :

Les cas de morsures conduisant à une transmission du virus sont extrêmement rares, mais il existe un risque et des cas avérés [24].

1.4.1 Transmission verticale

La transmission verticale du VIH est la transmission de la mère à l'enfant, pendant la grossesse, l'accouchement ou l'allaitement, le risque le plus important étant pendant l'accouchement, qui peut atteindre des taux de 50% de transmission. Cependant, avec l'utilisation de traitements anti-rétroviraux et un suivi médical, le risque devient inférieur à 5% et peut passer sous la barre des 1% [25].

1.5 Diagnostic de l'infection VIH

1.5.1 Diagnostic sérologique

Les tests sérologiques de détection de l'infection VIH sont basés sur la mise en évidence de la présence ou non d'anticorps dans l'organisme. Ils sont effectués à partir de prélèvements sanguins le plus souvent, mais également sur la salive.

Trois mois après l'exposition au virus, 99% des personnes ont des anticorps détectables s'ils sont infectés, c'est donc à partir de ce moment que les résultats seront les plus fiables [26]. Cependant cette fenêtre de détection dépend de la méthode utilisée pour tester l'infection VIH.

1.5.1.1 Les tests de dépistages :

- **Les tests ELISA** (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay):

Cette technique est la plus communément employée. Elle est basée sur la détection des anticorps anti-VIH et sur le principe des réactions immunologiques (liaison entre anticorps et antigènes). Les antigènes utilisés doivent être représentatifs de la diversité du VIH. Ils sont disposés sur une plaque formée de plusieurs puits dans lesquels les antigènes VIH sont fixés. On ajoute ensuite le sérum à tester. Si des anticorps sont présents, une liaison va se former avec les antigènes. Puis un second anticorps, couplé à une enzyme, est ajouté afin de détecter les complexes anticorps/antigènes précédemment formés. Ils sont ensuite visualisés par une technique de colorimétrie qui permet également de quantifier le nombre de complexes présents.

- **Les tests rapides :**

Ils sont basés sur le même principe que les tests ELISA mais le complexe anticorps/antigène est adsorbé par une membrane qui va ensuite se colorer en cas de réaction positive. Ce sont des tests unitaires, qui ne demandent généralement pas d'équipement sophistiqué pour la lecture.

- **Les tests de dépistage combinés :**

Les tests de dépistage combinés de l'antigène p24 et des anticorps anti-VIH permettent de réduire la fenêtre de détection de l'infection. Ils détectent à la fois, les anticorps produits par l'organisme en réaction au virus ainsi que la présence d'un antigène viral (antigène P24 du virus du VIH). Les tests combinés permettent de raccourcir le délai à 6 semaines entre la date d'exposition supposée au VIH et la date du dépistage.

1.5.1.2 Les tests de confirmation :

• Le Western Blot :

Pour ce test, les protéines des VIH sont isolées par électrophorèse après lyse des cellules. Elles sont ensuite transférées sur une membrane de nitrocellulose ou de nylon. Si des anticorps contre ces protéines sont présents, une réaction immunoenzymatique apparaît sous forme de bande colorée. Cependant, on observe parfois des réactions non spécifiques puisque la dénaturation des cellules peut entraîner la fixation d'autres protéines cellulaires sur la membrane. Le Western Blot est utilisé pour confirmer les résultats des tests de dépistage puisque ceux-ci peuvent également donner des résultats positifs sur des réactions non spécifiques (faux positifs).

Ces tests peuvent être fabriqués pour détecter des variants particuliers en fonction des virions produits en culture.

• Le LIA (Line Immuno Assay) :

Le test LIA est basé sur le même principe que le Western Blot mais les protéines utilisées sont des protéines de synthèse recombinantes ou des peptides synthétiques, ce qui n'exige pas la lyse de cellules et leur quantité est plus facile à standardiser. Les problèmes de réactions non spécifiques sont alors minimisés.

1.5.2 Diagnostic moléculaire

Les outils moléculaires permettent la confirmation de la présence du virus, ainsi que la caractérisation des différents variants du VIH. Cette méthode est basée sur l'extraction, l'amplification, la purification et le séquençage du génome du virus. Ce test peut être pratiqué sur l'ARN viral présent dans le plasma ou le sérum sanguin ou sur l'ADN proviral dans les PBMC (peripheral blood mononuclear cell ou cellule mononucléaire de sang périphérique). L'ARN viral est dans un premier temps isolé. Une première réaction (RT) permet de transcrire l'ARN viral ainsi isolé en ADN complémentaire, puis, par PCR (Polymerase Chain Reaction), cet ADN est multiplié (amplification). Après une étape de purification de l'ADN, il est ensuite caractérisé (séquençage) et peut alors être comparé aux virus existants déjà identifiés.

Cet outil de diagnostic est indispensable dans les cas de transmission verticale, puisqu'un enfant né de mère séropositive possède des anticorps transmis passivement et qui peuvent parfois persister au-delà de 15 mois. La présence du virus doit donc être confirmée par les outils moléculaires.

1.5 Situation épidémiologique

Actuellement, la pandémie diffère selon les continents, aussi bien en terme de nombre de personnes infectées, que de variants circulants ou de modes de contamination.

1.5.1 Pandémie en terme de nombre de personnes infectées par le VIH

C'est en Afrique subsaharienne que l'on trouve le plus grand nombre de personnes vivant avec le VIH/SIDA : 67% des infections; Cela représente les 2/3 des personnes infectées dans le monde. La mortalité dans cette région a atteint, en 2008, la proportion de $\frac{3}{4}$ des décès liés au VIH/SIDA. On estime à plus de 22 millions le nombre total de personnes vivant avec le virus sur le continent africain.

2,7 millions de nouvelles infections ont été enregistrées en 2008 [12].

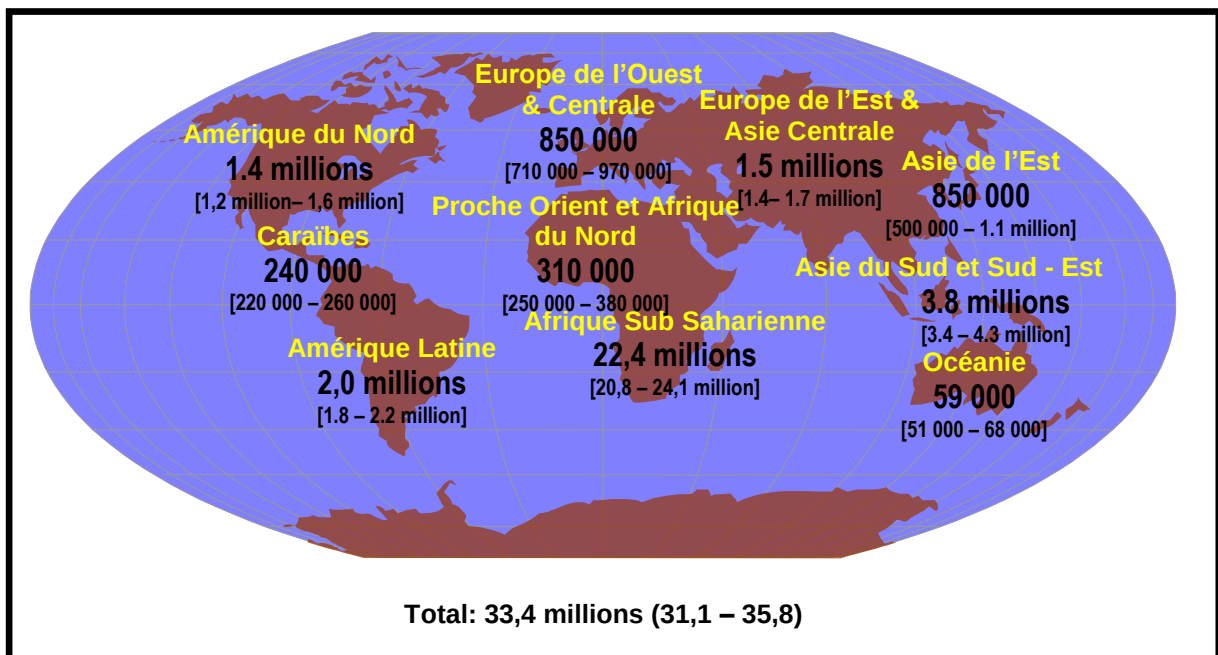


Figure 6 : Nombre de personnes touchées par le VIH dans différentes régions du monde en 2008. D'après les chiffres de l'ONUSIDA [12].

1.5.2 Pandémie et groupes de transmission

Les modes de contamination dépendent largement du contexte socioculturel, économique, démographique et politique. En effet, les modes de contamination les plus courants, comme les relations hétérosexuelles non protégées avec de multiples partenaires, les relations homosexuelles masculines (MSM, Man having Sex with Man), le partage de seringues chez

les utilisateurs de drogue injectable (IDU, Injectable Drug Users), les relations avec des travailleurs du sexe ou encore la transmission mère/enfant n'ont pas la même proportion dans les différentes régions du monde. Par exemple, en Afrique, les modes de contamination privilégiés sont les relations hétérosexuelles avec plusieurs partenaires, amplifiés par une incidence importante d'autres maladies/infections sexuellement transmissibles favorisant la propagation du VIH. De plus, seulement 40% des personnes nécessitant des traitements anti-rétroviraux sont sous ARV, or, ces traitements participent efficacement à limiter la transmission. A cela s'ajoute les transmissions mère/enfant puisque les programmes de prévention de la transmission verticale du VIH ne touchent pas la majorité des femmes.

Au contraire, dans les pays occidentaux, la population la plus exposée reste les hommes homosexuels et l'accès aux traitements ARV est beaucoup plus facile que sur le continent africain. En Asie, l'injection de drogue et le commerce du sexe représentent un facteur majeur dans la propagation de l'épidémie.

1.5.3 Pandémie en terme de variants génétiques du VIH

Des virus circulaient déjà dans les années 1960 et ont été retrouvés chez des individus décédés et rétrospectivement diagnostiqués positifs au VIH. La séquence virale la plus ancienne (ZR59) date de 1959 et a été identifiée chez un Congolais de Kinshasa, (anciennement dénommée Léopoldville) [27]-[28]. Récemment, une autre séquence isolée d'un échantillon de 1960, provenant à nouveau de Kinshasa, permet de supposer que la diversité génétique du virus était déjà importante à cette époque dans la capitale de la République Démocratique du Congo [29]. Un marin Norvégien, puis sa famille ont également été contaminés dans les années soixante et l'infection par le VIH a été confirmée par l'amplification des séquences en 1997. Il s'agissait du VIH-1 groupe O [30]. C'est donc bien avant la découverte du virus et le début de la pandémie que différents variants du VIH circulaient déjà en Afrique Centrale.

Aujourd'hui, de manière générale, le VIH-1 est très largement majoritaire par rapport au VIH-2, et seul le groupe M est pandémique. Le VIH-1 sous-type C représente la moitié des infections (50%), suivi par le sous-type A (>12%), puis B (10%). Les autres variants ne représentent pas plus de 5% à 6% chacun dans la pandémie mondiale [31].

Les différents variants identifiés sont répartis de manière hétérogène dans toutes les régions du monde en terme de nombre et de proportion et c'est en Afrique que l'on retrouve la plus importante diversité génétique de virus.

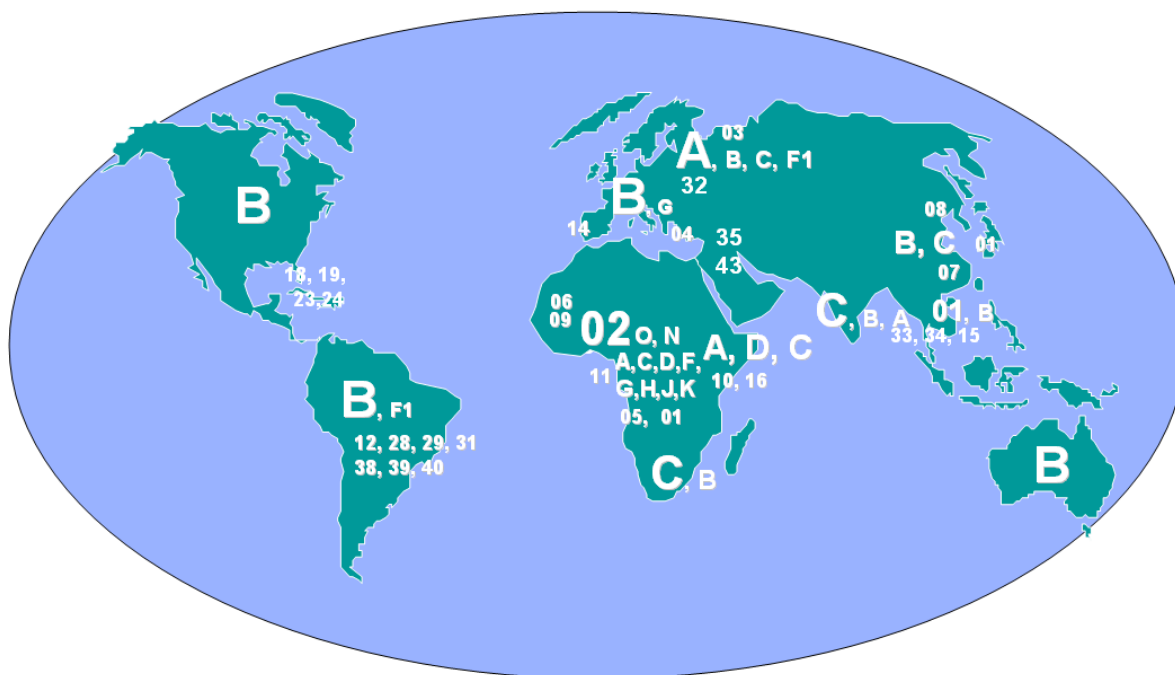


Figure 7 : Distribution des différents variants génétiques du VIH dans le monde. (D'après N. Vidal, 2010)

1.5.4 Le cas du Cameroun

L'Afrique Sub-Saharienne présente la plus grande diversité génétique de VIH-1. Pratiquement tous les types, groupes et sous-groupes sont représentés dans le bassin du Congo. A ceux-ci s'ajoutent également de nombreuses formes recombinantes circulantes (CRF) ainsi que des formes uniques (URF) [32].

Le Cameroun est le seul pays où tous les groupes de VIH-1 sont présents, M, N, O et P. En effet, dans ce pays, 1% des infections sont représentées par le groupe O, groupe retrouvé dans quelques cas en Guinée Equatoriale et au Gabon. Quant au groupe N, il n'a été détecté que chez quelques individus Camerounais. Le groupe P, récemment découvert, ne représente pour l'instant que deux infections identifiées également chez des personnes d'origine Camerounaise.

2- ORIGINE DES VIRUS VIH ET HISTOIRE NATURELLE DES SIV

2.1 La découverte de l'origine zoonotique des VIH

En 1983, l'identification d'une infection virale responsable du SIDA chez des singes macaques rhésus (*Macaca mulatta*) en captivité aux Etats-Unis mais issus d'Asie suggère l'hypothèse d'une origine zoonotique du VIH [33-34]. Ce virus est alors appelé SIVmac (Simian Immunodeficiency Virus ; mac pour macaque). Par la suite, des virus SIV furent aussi découverts chez des singes verts africains (*Chlorocebus aethiops*) provenant de leur milieu naturel (SIVagm) [35-36].

C'est le SIVsmm des mangabeys enfumés d'Afrique de l'Ouest (*Cercocebus atys*) qui va confirmer la suspicion d'une anthroponose [37]. Il est isolé et identifié chez des primates du Yerkes Primate Center qui ne présentent pourtant aucun signe d'immunodéficience. La caractérisation génétique de ces virus montre l'appartenance des SIVmac et SIVsmm à la même lignée de virus et la transmission inter-espèces en captivité des virus provenant des mangabeys aux macaques sera confirmée [38-39]. En effet, en remontant à l'origine de l'infection, il est apparu que le virus avait été introduit dans un centre de recherche de primatologie (New England Regional Primate Research Center, NERPCR) par un groupe de macaques provenant d'un autre centre de recherche [38]. Le groupe initial avait en fait été infecté par un mangabey capturé dans la nature. Le changement d'hôte semble avoir provoqué un syndrome d'immunodéficience chez les macaques et renforce l'hypothèse que les mangabeys sont les hôtes naturels des SIVsmm. De plus, des études en milieu naturel n'ont apporté aucune preuve d'une infection naturelle à SIVmac chez les macaques sauvages.

Ces mêmes SIVsmm sont également phylogénétiquement très proches des VIH-2 [40-41]. L'aire de répartition des *Cercocebus atys* (Liberia, Sierra Leone et une partie de la Côte d'Ivoire) correspond de plus à la zone géographique dans laquelle les infections à VIH-2 sont endémiques [42]. Un autre argument en faveur d'une transmission anthroponotique du SIVsmm du mangabey à l'homme est la prévalence en milieu naturel qui peut atteindre de 22% à 50% [43]. Enfin, l'absence de SIDA chez cette espèce renforce l'hypothèse d'une adaptation entre l'hôte et le virus. Toutes ces observations confirment donc le mangabey enfumé comme étant le réservoir des VIH-2. Le passage à l'homme s'est probablement produit lors de contacts avec le sang d'individus infectés, à l'occasion de la chasse ou du dépeçage de viande.

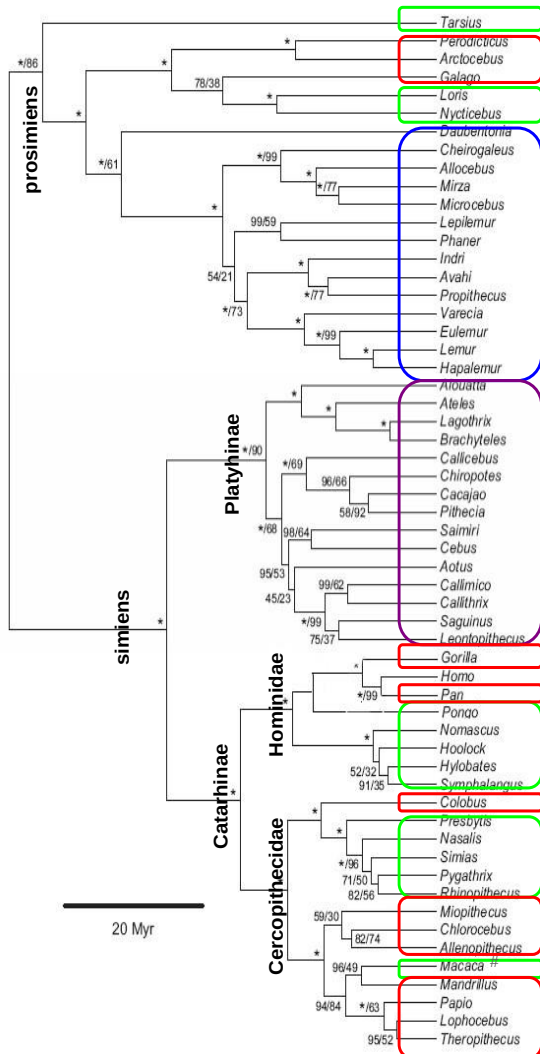
Quant à l'origine du VIH-1, les premières souches de SIV proches de ce virus ont été découvertes chez des chimpanzés sauvages, mais gardés en captivité au Gabon (SIVcpz-GAB1 ; SIVcpz-GAB2) [44-45], ainsi que chez un chimpanzé illégalement importé en Belgique en provenance de la République Démocratique du Congo (SIVcpz-ANT) [46-47]. Les chimpanzés provenant du Gabon appartiennent à la sous-espèce *Pan troglodytes troglodytes* (*Ptt*), alors que celui de RDC appartient à la sous-espèce *Pan troglodytes schweinfurthii* (*Pts*). Les SIV retrouvés chez les chimpanzés se rapprochent du VIH-1 de par leur organisation génomique, notamment la présence du gène *vpu*. D'autres chimpanzés infectés sont découverts au Cameroun, dans un centre de sauvegarde de la faune sauvage, (SIVcpz-CAM) et un chimpanzé en captivité aux Etats-Unis (SIVcpz-US), mais provenant d'Afrique Centrale [48-49]. Le SIV*Pts* diffère phylogénétiquement du SIV*Ptt*, ce qui suggère la présence de deux lignées distinctes dans les deux sous-espèces.

Cependant, les différences génétiques entre ces SIV et les différents groupes de VIH-1 restent trop importantes pour que ces virus simiens représentent le précurseur direct des virus retrouvés chez l'homme [49]. De plus, les tests effectués chez les chimpanzés captifs mais venant de leur milieu naturel ne montrent pas une prévalence élevée. La question de l'existence du réservoir chez cette espèce nécessite alors un travail en profondeur sur les populations sauvages.

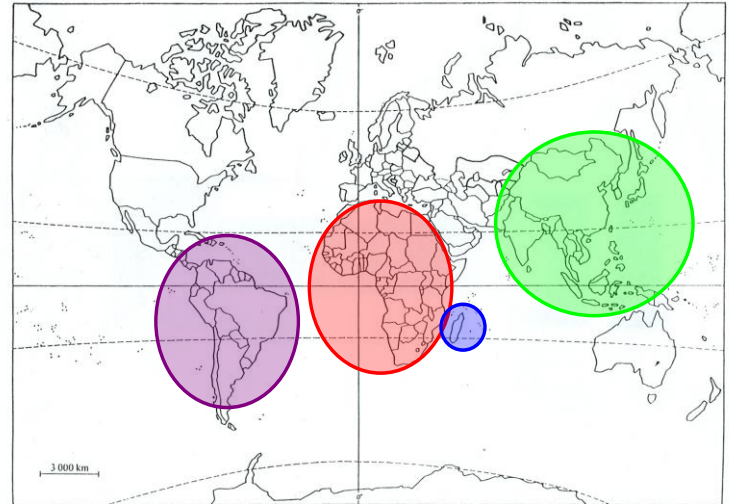
2.2 Les SIV chez les petits primates Africains

2.2.1 Diversité des SIV et hôtes naturels

La classification des primates est toujours en évolution et parfois sujette à controverse pour certaines espèces ou sous-espèces. La taxonomie décrite par le « primate specialist group » de l'IUCN/SSN a été choisie car elle est la plus détaillée, la plus récente, et a été élaborée en collaboration avec plusieurs spécialistes de la taxonomie des primates [50]. Elle est également consultable en ligne (<http://www.primate-sg.org/africa.spp.htm>)



Classification et répartition des primates par genre, basé sur l'ADN mitochondrial



: une seule espèce de macaque est présente en Afrique du nord (et à Gibraltar de manière artificielle) *Macaca sylvanus*

Figure 8 : Taxonomie des primates et répartition géographique dans le monde, basé sur l'analyse phylogénétique des séquences d'ADN mitochondrial [45]. En bleu sont représentés les primates de Madagascar, en rouge ceux du continent Africain, en vert, ceux d'Asie et en violet, les primates vivant en Amérique du Sud.

De nombreuses espèces de petits primates non humains en Afrique subsaharienne ont été découvertes comme étant porteuses de SIV, nous en comptons environ quarante aujourd'hui sur soixante-dix-neuf espèces africaines connues (Madagascar étant exclue), mais toutes n'ont pas été testées. Pour certaines espèces, le nombre d'individus testés reste relativement faible, ce qui laisse supposer que d'autres types de SIV vont être découverts au fur et à mesure de l'avancée des recherches.

Tous les SIV ont été découverts chez les *Catarrhinae* ou singes de l'ancien monde regroupant les petits singes africains *Cercopithecoidea*, et les *hominidae*. Aucune espèce

vivant sur le continent américain ou asiatique n'est, jusqu'à présent, connue comme porteuse de SIV en milieu naturel.

Ces virus chez les petits singes sont désignés par le sigle SIV, suivi de trois lettres codant pour le nom de l'espèce, en anglais, chez laquelle il a été identifié. Par exemple SIVrcm a été isolé chez le « red capped mangabey », c'est-à-dire, le cercocèbe à collier ou *Cercocebus torquatus*.

Certains de ces SIV n'ont pas encore été caractérisés au niveau moléculaire, et n'ont été mis en évidence que par des tests sérologiques positifs. D'autres ont été isolés et partiellement séquencés, mais pour plus de la moitié, le génome complet est disponible.

On distingue trois organisations génomiques différentes en fonction de la présence du gène *vpx* ou *vpu* ou de l'absence des deux. Le gène *vpu*, retrouvé dans le VIH-1 l'est également chez le SIVcpz, SIVgor, SIVgsn, SIVmus, SIVmon, SIVden. Le gène *vpx* se retrouve dans le VIH-2, SIVsmm, SIVmnd-2, SIVrcm et SIVdrl. Dans les autres SIV, ces gènes n'ont pas été identifiés [51].

<u>GENRE</u>	<u>ESPECE</u>	<u>SOUS-ESPECE</u>	<u>NOM COMMUN</u>	<u>SIV</u>
<u>HOMINIDAE</u>				
<i>Pan</i>				
	<i>troglodytes</i>	<i>troglodytes</i>	chimpanzé d'Afrique Centrale	SIVcpzPtt
	<i>troglodytes</i>	<i>schweinfurthii</i>	chimpanzé d'Afrique de l'Est	SIVcpzPts
<i>Gorilla</i>				
	<i>gorilla</i>	<i>gorilla</i>	gorille de l'ouest	SIVgor
<u>CERCOPITHECIDAE</u>				
<u>COLOBINAE</u>				
<i>Colobus</i>				
	<i>guereza</i>		colobe guéréza	SIVcol
<i>Piliocolobus</i>				
	<i>badius</i>	<i>badius</i>	colobe bai d'Afrique occidentale	SIVwrcPbb
	<i>badius</i>	<i>temminckii</i>	colobe bai de Temminck	SIVwrcPbt
	<i>tholloni</i>		colobe bai de Thollon	SIVtrc
	<i>rufomitratus</i>	<i>tephrosceles</i>	colobe rouge d'Ouganda	SIVkrc
<i>Procolobus</i>				
	<i>verus</i>		colobe vert	SIVolc
<u>CERCOPITHECINAE</u>				
<u>Cercopithecini</u>				
<i>Miopithecus</i>				
	<i>talapoin</i>		talapoin du sud	N/C
	<i>ogouensis</i>		talapoin du nord	SIVtal
<i>Allenopithecus</i>				
	<i>nigroviridis</i>		cercopithèque noir et vert	N/C
<i>Chlorocebus</i>				
	<i>sabaeus</i>		singe sabeus	SIVagm-Sab
	<i>aethiops</i>		grivet d'Ethiopie	SIVagm-Gri

<i>tantalus</i>	cercopithèque tantale	SIVagm-Tan
<i>pygerythrus</i>	vervet	SIVagm-Ver
<i>Erythrocebus</i>		
<i>patas</i>	singe rouge/patas	SIVagm-sab
<i>Cercopithecus</i>		
<i>mona</i>	cercopithèque mona	SIVmon
<i>solatus solatus</i>	cercopithèque à queue de soleil	SIVsun
<i>hamlyni</i>	cercopithèque de Hamlyn	N/C
<i>diana</i>	cercopithèque diane	N/C
<i>mitis mitis</i>	singe bleu	SIVblu
<i>nictitans</i>	singe hocheur	SIVgsn
<i>albugularis</i>	cercopithèque à diadème	SIVsyk
<i>campbelli campbelli</i>	singe des palétuviers	N/C
<i>pogonias</i>	cercopithèque pogonias	N/C
<i>denti</i>	singe mona de Dent	SIVden
<i>wolfi</i>	cercopithèque de Wolf	SIVwol
<i>cephus cephus</i>	moustac	SIVmus
<i>ascanius</i>	cercopithèque ascagne	SIVasc
<i>erythrotis</i>	moustac à oreilles rousses	SIVery
<i>lhoest</i>	cercopithèque de l'Hoest	SIVlho
<i>preussi</i>	cercopithèque de Preuss	SIVpre
<i>neglectus</i>	cercopithèque de Brazza	SIVdeb
<u>Papionini</u>		
<i>Lophocebus</i>		
<i>albigena</i>	mangabé à joues grises/blanches	N/C
<i>aterrimus</i>	mangabé huppé, cercocèbe noir	SIVbkm
<i>Papio</i>		
<i>anubis</i>	babouin de Guinée/anubis	N/C
<i>cynocephalus</i>	babouin cynocéphale	SIVagm-Ver
<i>ursinus</i>	babouin chacma	SIVagm-Ver
<i>Cercocebus</i>		
<i>atys</i>	mangabé enfumé	SIVsmm
<i>torquatus</i>	mangabé à collier blanc/couronné	SIVrcm
<i>agilis</i>	mangabé agile	SIVagi
<i>Mandrillus</i>		
<i>sphinx</i>	mandrill	SIVmnd-1,-2
<i>leucophaeus</i>	drill	SIVdrl

Tableau 1 : Liste des espèces infectées avec un SIV, en fonction de leur classification génétique. Pour certaines espèces, seule une réaction sérologique a été détectée, mais le virus n'a pas pu être isolé (N/C). Les différentes couleurs représentent les classifications génétiques des hôtes : rouge pour les Hominidae, bleu pour les Colobinae, vert pour les Cercopithecini et violet pour les Papioni. Elles correspondent aux couleurs de l'arbre phylogénétique présenté ci-dessous [52-58].

La classification phylogénétique des différentes lignées de SIV identifiées faisait au départ ressortir six lignées, SIVcpz/VIH-1, SIVsmm/VIH-2, SIVagm, SIVsyk, SIVlho, SIVcol. Cependant, au fur et à mesure de la découverte de nouveaux virus, et suite aux analyses phylogénétiques effectuées sur différentes régions du génome, il est apparu que certaines de ces lignées pourraient en fait être des lignées recombinantes, comme, par exemple, le groupe des SIVcpz/VIH-1. La découverte de nouveaux virus rend cette classification

obsolète et, de manière générale, on constate que chaque espèce est infectée avec son propre SIV.

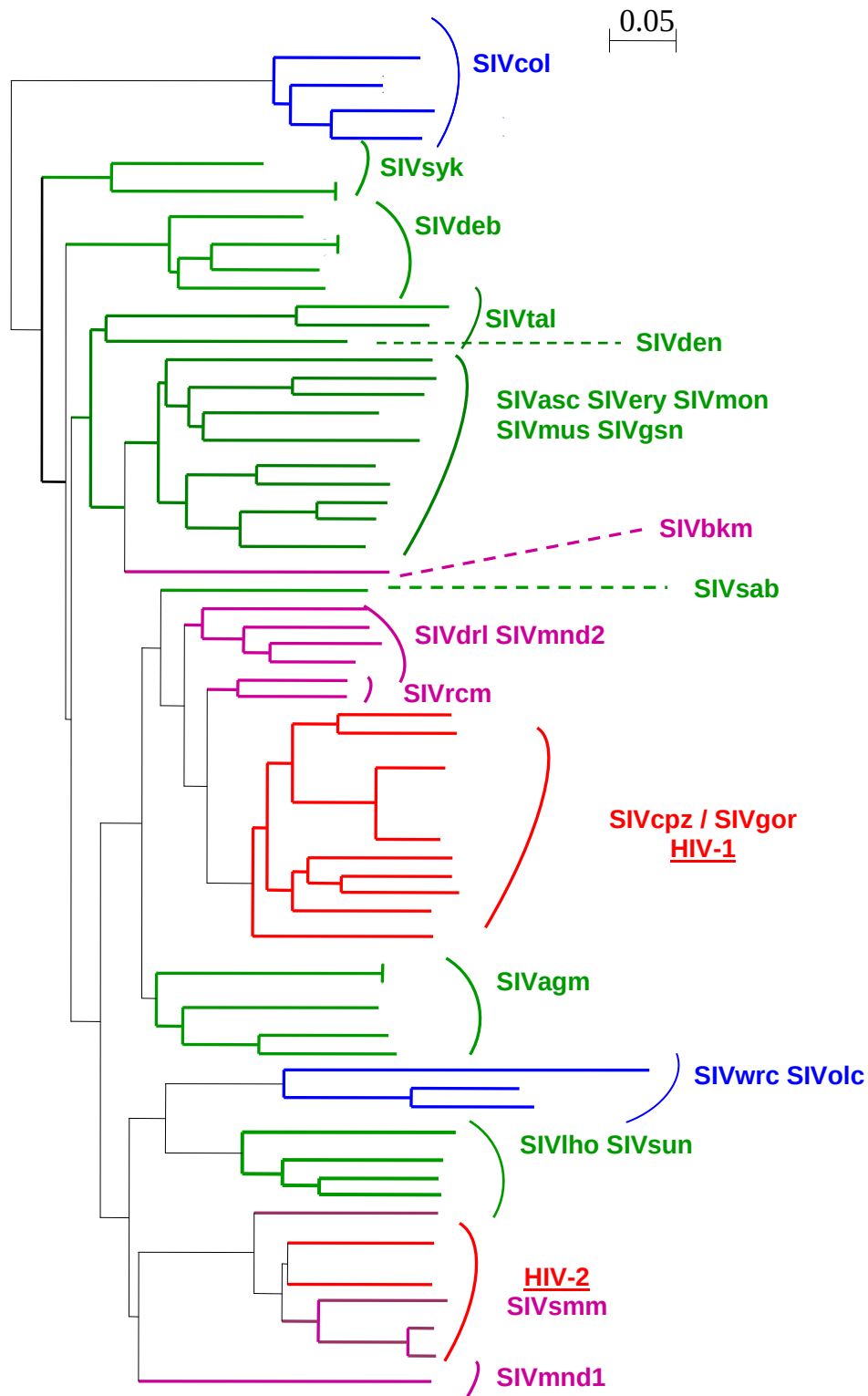


Figure 9 : Arbre phylogénétique réalisé par la méthode de neighbor-joining d'un alignement de séquence partielle du gène *pol* de SIV chez différentes espèces de primates. Les couleurs sont représentatives de la classification génétique de l'hôte. En vert sont représentés les *Cercopithecini*, en violet les *Papionini*, en bleu les *Colobinae* et en rouge les *Hominidae*.

2.2.2 Histoire complexe des SIV : co-évolution, transmissions inter-espèces et recombinaisons

Dans son ensemble, la classification phylogénétique des SIV se superpose grossièrement et à quelques exceptions près, à la classification phylogénétique de primates infectés ce qui tend à montrer une possible co-évolution entre les deux organismes. Cependant, cette co-évolution reste sujette à discussion : d'une part, les tentatives pour essayer de dater les différentes lignées de SIV ne correspondent pas toujours à l'histoire évolutive des primates infectés et d'autre part, cette histoire évolutive des hôtes est encore débattue actuellement [59].

Les estimations sur l'apparition des SIV chez les primates remontaient récemment à plusieurs milliers d'années au maximum, alors que la phylogénie de l'ordre des primates, bien qu'incomplète, estime l'existence d'un ancêtre commun à plusieurs millions d'années. Les petits primates porteurs de SIV (*Cercopithecidae*) se seraient séparés des autres depuis trente millions d'années [59]. Cependant, bien qu'imparfaite et à des échelles de temps différentes, la superposition entre l'évolution des hôtes et des virus reste globalement comparable.

Plusieurs explications ont été proposées pour expliquer ce phénomène. La première fait état d'un taux de substitution dans les virus qui pourrait être bien moins important sur le long terme que celui estimé actuellement sur un temps plus court et qui engendrerait une sous-estimation importante du moment de divergence entre les lignées. De plus, les taux de substitutions diffèrent selon les parties du génome et pourraient induire des erreurs sur les calculs du plus ancien ancêtre commun. Une autre explication serait qu'un phénomène de perte constante des lignées les plus anciennes, remplacées par des plus récentes, pourrait avoir lieu, ce qui créerait un artefact lors de la datation des SIV. Les anciennes lignées disparaîtraient et il ne resterait que les lignées des dernières centaines d'années, comparables entre elles lors des études phylogénétiques [60]. Néanmoins, Il est possible que tous ces phénomènes interviennent de manière concomitante et la réponse à ces questions reste en suspens à l'heure actuelle.

Cependant, récemment, une nouvelle étude [61-62] a pris en compte les SIV découverts chez les primates de l'île de Bioko, située au large du Cameroun et de la Guinée Equatoriale afin de dater plus précisément l'ancêtre commun des virus SIV chez des espèces identiques sur l'île et le continent, notamment le Drill. La séparation de l'île a eu lieu il y a douze mille ans, ce qui permet remonter à l'ancêtre commun des SIV chez les drills de Bioko et ceux du continent. Cette étude permet de dater l'origine des SIV au minimum à 100 000 ans, et

probablement beaucoup plus, plusieurs millions d'années. Ceci suggère que les singes des autres continents pourraient également être infectés.

On peut, en parallèle, noter qu'un lentivirus endogène a aussi été identifié chez un lémur de Madagascar (*Microcebus murinus*) [63], suggérant la présence de lentivirus chez les primates depuis des millions d'années.

● Co-évolution :

Des cas de co-évolution ont été mis en évidence en comparant les virus appartenant aux espèces phylogénétiquement proches. C'est le cas des virus trouvés chez les cercopithèques arboricoles, qui forment un cluster différencié, en vert sur l'arbre phylogénétique, représentant les SIVasc, SIVery, SIVmon, SIVmus, SIVgsn, etc... (Fig.9) [52].

Les SIV découverts chez plusieurs espèces de singes verts (*Chlorocebus*) forment également un clade distinct, supposant un ancêtre commun et une co-évolution hôte/virus, chez les quatre espèces *C. aethiops*, *C. tantalus*, *C. pygerythrus*, et *C. sabaeus*, qui ne partagent pas aujourd'hui la même aire de répartition géographique. Cependant, un autre scénario a été proposé, basé sur la transmission inter-espèces, avec une infection ayant débuté géographiquement en Afrique de l'Ouest chez les *C. sabaeus* (SIV le plus divergent) pour ensuite progresser vers l'Est, jusqu'au *C. pygerythrus* [64].

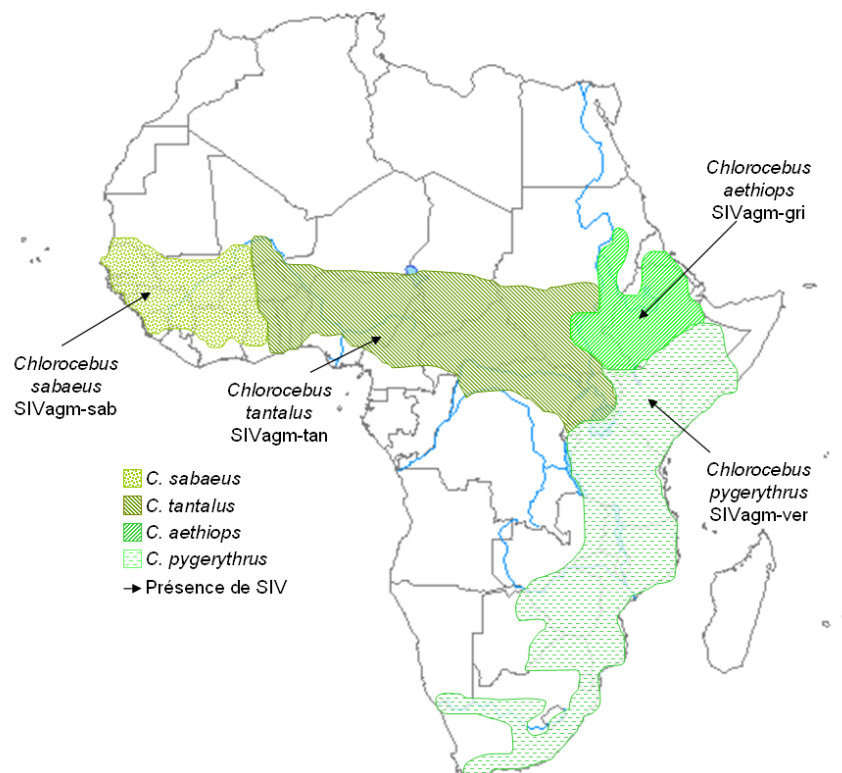


Figure 10 : Aires de répartition des différentes espèces de *Chlorocebus* porteurs de SIV. Les aires de répartition de ces espèces ne se superposent pas.

Les virus trouvés chez les colobes (en bleu sur l'arbre phylogénétique des SIV) représentent deux lignées bien distinctes : d'une part les SIV des *C. guereza* et d'autre part, les SIV identifiés chez les *Piliocolobus badius badius*, les *Piliocolobus badius temminckii* et les *Procolobus verus* (colobes verts). Les *Pbb*, *Pbt* et les colobes verts se trouvent en Afrique de l'Ouest, contrairement au *guereza* que l'on retrouve en Afrique Centrale et de l'Est [54, 65]. Récemment, un SIV a été découvert chez les colobes rouges d'Ouganda ou *Piliocolobus rufomitratatus tephrosceles* (SIVkrc). Il se regroupe avec les SIVwrc et SIVolc, suggérant une co-évolution entre les virus présents chez les *Piliocolobus* et les *Procolobus*. Ce SIV serait apparu chez ces espèces après la séparation du colobe *guereza* [66]

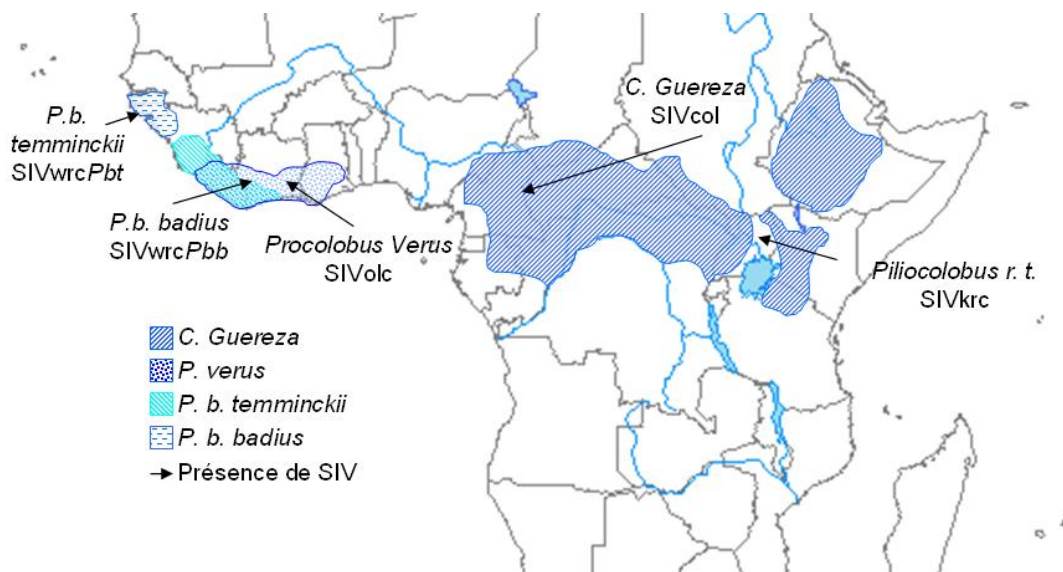


Figure 11 Aires de répartition des *Colobinae* infectés par des SIV. Les aires de répartition du *Piliocolobus b. badius* et du *Procolobus verus* se chevauchent en partie. L'aire de répartition du *Prt* n'est pas représentée.

• Transmission inter-espèces :

La complexité de l'histoire naturelle des SIV s'accroît avec les exemples de transmissions inter-espèces des virus. En effet, mis à part les transmissions de SIV des primates non humains (PNH) à l'homme, les SIV peuvent se transmettre également entre les différentes espèces de PNH.

Les exemples les plus évidents sont les cas de primates sympatriques et infectés par un virus très proche de celui infectant naturellement une autre espèce. C'est, par exemple, le cas pour les singes patas (*Erythrocebus patas*) dont un virus caractérisé est identique à 80% à celui des *Chlorocebus sabaeus*, ces deux espèces étant sympatriques [67]. De la même manière, des virus identifiés chez deux différentes espèces de babouin, *Papio cynocephalus*

et *P. ursinus*, respectivement en Tanzanie et en Afrique du sud forment un cluster avec les SIV caractérisés chez les *Chlorocebus pygerythrus* [68-69]. Dans ces trois cas, les aires de répartition des espèces se superposent et elles partagent un même habitat.

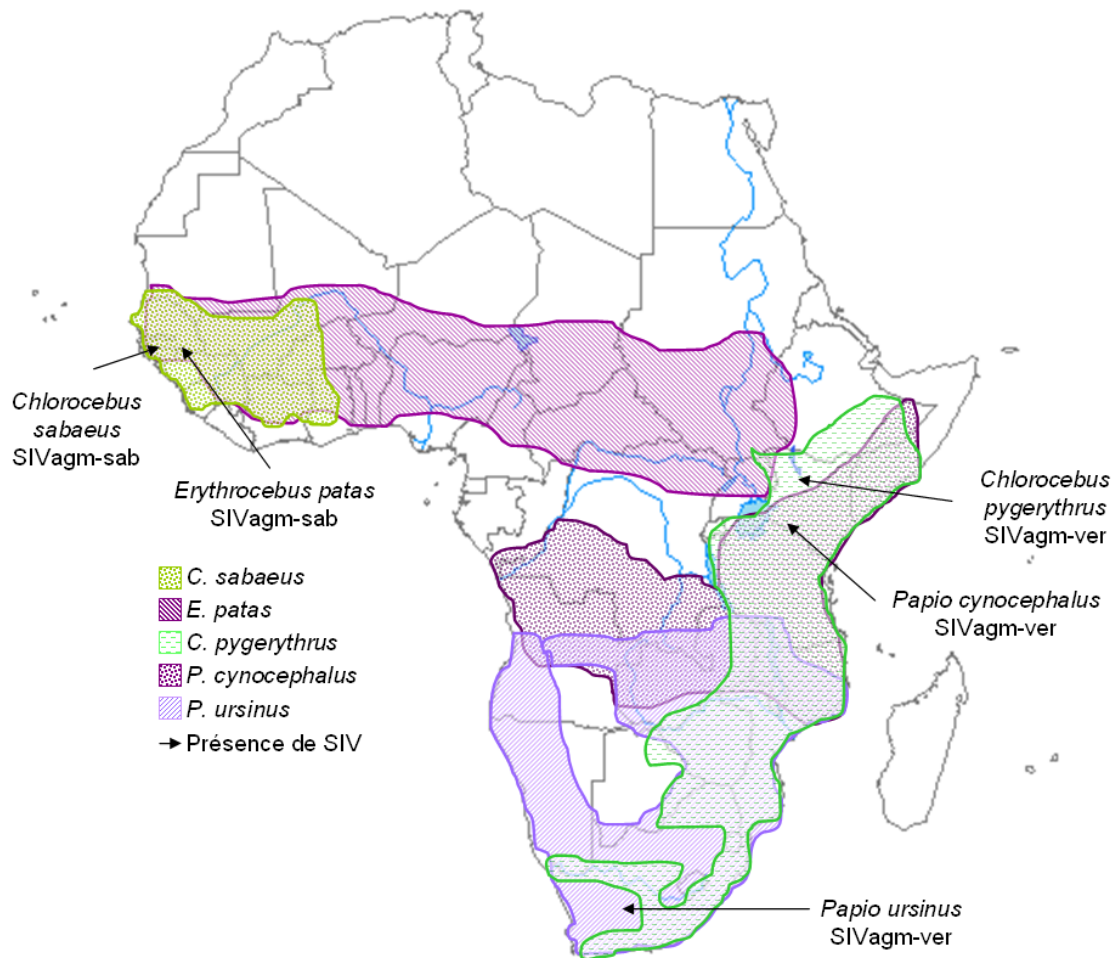


Figure 12: Aires de répartition de deux espèces de *Chlorocebus*, d'une espèce de *Erythrocebus* et de deux espèces de *Papio*. Illustration des transmissions de SIV inter-espèces lorsque les aires de répartition se chevauchent partiellement.



Figure 13 : Comportement inter-spécifiques à risque, une femelle *Erythrocebus patas* prélève et ingère de la substance génitale d'une femelle *Cercopithecus aethiops sabaenus* (photo : Galat-Luong [70])

Les facteurs pouvant expliquer les recombinaisons et co-infections dues aux transmissions inter-espèces sont principalement les interactions directes entre les primates non humains. En effet, de nombreuses espèces sont sympatriques et ont des aires de répartition géographique qui se superposent ou se sont superposées durant l'histoire évolutive. De plus, les

associations poly-spécifiques sont très courantes, notamment chez les cercopithèques, elles permettent une meilleure résistance aux prédateurs et augmentent souvent l'efficacité dans la recherche de nourriture [71-75]. Dans la plupart des cas, les individus des différentes espèces évitent les interactions physiques mais parfois ces associations entraînent des contacts directs et augmentent les possibilités de transmission de maladies (virus, bactéries, parasites...). Il a été observé des cas d'épouillage entre individus appartenant à des espèces différentes, quelques rares cas d'accouplements, ainsi que des jeux entre les enfants d'âge comparable. Des comportements agonistiques peuvent également être observés et jouer un rôle dans la transmission inter-espèces des SIV [70, 76].

Les associations poly-spécifiques peuvent avoir lieu entre deux et jusqu'à quatre espèces sympatriques. Le nombre d'espèces impliquées dans ces associations est alors corrélé aux risques de transmission inter-espèces de différentes infections.

● **Recombinaisons :**

Le Mandrill représente un cas complexe d'infection puisqu'il est, en outre, infecté par 2 types de virus d'origines apparemment différentes, SIVmnd-1 et SIVmnd-2, mais montrant une évolution commune sur une partie du génome. Ces deux virus sont géographiquement éloignés.

Le SIVmnd-1 est phylogénétiquement lié à la lignée des SIV trouvés chez les *cercopithecus lhoesti* et *solatus*, mais se rapproche également des SIVwrc et SIVolc [54, 65]. Ces espèces ne partagent pas le même territoire que le mandrill à l'exception du *cercopithecus solatus*. Ces constatations suggèrent une possible transmission inter-espèces entre ces espèces ou leurs ancêtres, ainsi que des phénomènes de recombinaison. L'origine et l'histoire du SIVmnd-1 reste encore à élucider.

Quant au SIVmnd-2, c'est un virus recombinant, qui se retrouve dans différents clades en fonction de la région du génome étudiée, SIVmnd-1 dans sa partie 3' ou SIVrcm dans sa partie 5'. Ce virus est un recombinant complexe, qui pourrait avoir comme origine une co-infection [77]. Il existe également une part de co-évolution entre l'hôte et le virus puisque le SIVmnd-2 et le SIVdrl identifié chez le drill sont phylogénétiquement très proches.

D'autres cas de recombinaison existent chez les petits singes africains, comme par exemple les virus retrouvés chez certains singes verts. On connaît aujourd'hui quatre espèces de *Chlorocebus* infectées par quatre virus différents et le SIV des *C. sabaues* est proche des autres SIVagm dans sa partie *env* mais se regroupe avec les virus des *C. torquatus* dans sa partie *gag* et *pol* [78].

Il en est de même pour le virus des chimpanzés, qui sera traité dans le chapitre suivant.

2.2.4 Modes de transmission du SIV

Les voies de transmission des virus SIV chez les primates non humains sont comparables à celles des humains, c'est-à-dire qu'il peut y avoir transmission horizontale, principalement par le sang et par voie sexuelle, ou verticale, par une transmission mère-enfant.

Les modalités de transmission de la mère à l'enfant n'ont pas été clairement identifiées chez les singes et plusieurs études suggèrent que la transmission verticale ne serait pas le mode de propagation du virus le plus important, ce qui est comparable à l'Homme. Des études sur la séroprévalence de mangabeys enfumés [79] ou des études longitudinales sur les singes grivets [80] ont fait état de prévalence beaucoup plus importante chez les adultes que chez les enfants, indiquant une transmission horizontale privilégiée du virus. Chez les mangabeys, les femelles sexuellement actives, et de rang social supérieur étaient les plus touchées, alors que les juvéniles ne représentaient que 2/11 individus infectés [79]. Chez les grivets, la plupart des femelles adultes étaient infectées. Par contre, lors d'une étude dans une colonie de mandrills en captivité au Gabon, les mâles étaient les plus infectés et la transmission par comportement agonistique entre les individus semblait être prédominante. Dans cette étude, les transmissions sexuelles entre mâles et femelles étaient relativement rares [81-82].

La transmission horizontale a lieu par voie sexuelle d'une part, et par le contact direct avec le sang d'un animal infecté via les comportements sociaux (agonistiques, épouillage...) d'autre part. D'autres modes de transmissions indirectes, par contact avec des fèces, le sang d'un animal blessé etc... ne sont pas à exclure également.

Les possibilités de transmissions à l'intérieur d'une même unité (communauté, groupe) sont multiples et sont influencées par les organisations sociales, les comportements, et les systèmes de reproduction chez les différentes espèces. Ces possibilités augmentent avec le nombre de partenaires sexuels ainsi qu'avec le nombre et la qualité des comportements sociaux pouvant conduire à un contact avec le sang. Il existe trois types d'organisation sociale différents chez les primates : les individus solitaires, ceux vivant en couple et les espèces vivant en groupe, la dernière catégorie étant la plus répandue. Les systèmes de reproduction sont également divers. En fonction des espèces, on distingue les primates monogames ainsi que plusieurs formes de systèmes polyandres et/ou polygynes (ex : harem, multimâles/multifemelles...) [83]. Il est à noter que les systèmes de reproduction

monogames chez les primates sont tout de même extrêmement rares et le nombre de partenaires sexuels potentiels pour chaque individu étant important, les possibilités de transmission par voie sexuelle le sont aussi.

De plus, afin d'éviter la reproduction entre individus apparentés, des transferts entre groupes ont lieu. Chez certaines espèces, les mâles quittent leur groupe natal pour se reproduire dans un groupe différent ou créer leur propre groupe ; chez d'autres, ce sont les femelles ; et parfois, les individus des deux sexes rejoignent une autre unité sociale. D'autres transferts, secondaires, peuvent aussi avoir lieu au cours de la vie d'adulte, alors que les individus sont déjà sexuellement actifs. Ces transferts d'individus peuvent entraîner une dispersion du virus d'une unité à l'autre.

En conclusion, un système social grégaire qui induit une augmentation des comportements sociaux à risque (ex : épouillage, agonistiques) et un système reproductif basé sur la polygamie sont des facteurs socio-écologiques favorisant la propagation des virus SIV au sein d'une même communauté ou d'un même groupe et entre les groupes voisins.

2.2.3 Epidémiologie et pathogénicité chez les petits primates africains

2.2.3.1 Prévalence en milieu naturel

Si la présence de ces virus a été démontrée chez de nombreuses espèces, leurs prévalences en milieu naturel sont plus difficiles à évaluer. En effet, les résultats dépendent souvent des méthodes utilisées. Les méthodes recensées sont les tests sur les animaux captifs en zoo ou sanctuaires, les tests sur la viande de brousse, les études sur les animaux domestiques et enfin, les études non invasives sur les populations sauvages, habituées ou non à l'homme. Chacune de ces méthodes possède ses propres limites. Par exemple, une étude effectuée sur des singes captifs ou braconnés (viande de brousse) ne représentera pas obligatoirement un échantillon représentatif de la population en milieu naturel et l'origine géographique des échantillons n'est pas toujours bien documentée. Les tests sur les animaux gardés comme animaux domestiques pourraient représenter un échantillonnage biaisé car la plupart de ces animaux sont capturés étant jeunes, avant d'être sexuellement actifs, et le problème de l'origine géographique de l'animal est souvent posé. L'étude des virus dans un groupe en particulier, souvent dans le cadre d'une étude longitudinale d'une certaine population de primates, pourra difficilement être extrapolée à l'ensemble de l'espèce. Par exemple, les *Cercopithecus mitis* ont été étudiés dans différentes communautés et il apparaît que les prévalences peuvent varier de 0 à 90% d'individus infectés dans un groupe. Il en est de même pour les *Cercopithecus albogularis* [84]. De plus,

les méthodes non invasives sont relativement difficiles à mettre en place, particulièrement sur les espèces arboricoles. Elles peuvent grimper à de très grandes hauteurs rendant très difficile la collecte de fèces au sol. Enfin, les tests sérologiques ne sont généralement pas spécifiques des différents SIV existants et un problème de sensibilité peut alors donner des résultats moins fiables.

Pour ces raisons, les prévalences en milieu naturel ne sont généralement pas comparables entre elles si les méthodes diffèrent.

Cependant, lorsque l'échantillonnage est suffisamment important, des estimations de prévalence ont pu être calculées. Les plus importantes prévalences trouvées semblent l'être chez les mangabeys enfumés, où il a été rapporté jusqu'à 59% d'individus infectés (11/35) dans une communauté de la forêt de Tai en Côte d'Ivoire [79]. Encore plus récemment, des résultats montrent une prévalence de 80% dans cette même forêt [85]. Ces résultats sont corroborés par d'autres études sur la viande de brousse où plus de la moitié des individus testés (7/12) étaient porteurs de SIVsmm.

Les singes verts (*Chlorocebus*) sont aussi porteurs de SIV à plus de 50% dans certaines communautés étudiées. Chez les mandrills, différentes études montrent également une prévalence assez importante [86-88].

De manière générale, et malgré les limitations décrites pour chaque méthode d'étude de prévalence des SIV, sur les quarante espèces porteuses de SIV, dix d'entre elles comportent plus de 50% d'individus positifs, cinq plus de 40% et huit plus de 10% (Tableau 2). Chez certaines espèces, il n'existe pas de données de prévalence à ce jour. Les résultats suivants semblent pourtant indiquer des prévalences relativement élevées chez certains petits primates africains porteurs de SIV ce qui en fait des réservoirs de virus importants.

Nom (anglais)	Espèce	SIV	Prévalence	Nombre d'individus testés	lieu	Individus étudiés	Réf.
Sooty mangabey	<i>Cercocebus atys</i>	SIVsmm	58%	35	Côte d'Ivoire	Groupe habitué	[79]
Red capped mangabey	<i>Cercocebus torquatus</i>	SIVrcm	63.6%	12	Sierra Leone	Viande de brousse	[89]
Agile mangabey	<i>Cercocebus agilis</i>	SIVagi	22%	18	Gabon	Sanctuaires et captifs	[90-91]
Mandrill	<i>Mandrillus sphinx</i>	SIVmnd-1	50%	12	Cameroun	Viande de brousse	[91]
		SIVmnd-2	0%	182	Cameroun	Viande de brousse	[91]
			1/1	1	Cameroun	Sanctuaire	[55]
			75%		Gabon	Captivité et Groupes en milieu naturel	[77]
			33.3%	27	Cameroun	Viande de brousse	[91-92]
			23.1%	13	Cameroun	Gardés comme animaux domestiques	
Talapoin	<i>Miopithecus ougouensis</i>	SIVtal	16.7%	60	Cameroun	Viande de brousse	[91]
Grivet	<i>Chlorocebus aethiops</i>	SIVagm.gri	>50%	-	-	-	[52, 93]
Vervet	<i>Chlorocebus pygerythrus</i>	SIVagm.ver	>50%	-	-	-	[52, 93]
Tantalus	<i>Chlorocebus tantalus</i>	SIVagm.tal	>50%	6	Cameroun	Viande de brousse	[91]
Sabaeus	<i>Chlorocebus sabaeus</i>	SIVagm.sab	>60%				[93]
Greater spot monkey	<i>Cercopithecus nictitans</i>	SIVgsn	1%	859	Cameroun	Viande de brousse	[91]
Blue Monkey	<i>Cercopithecus mitis</i>	SIVblu	>60%	14	-	-	[93-94]
Syke's monkey	<i>Cercopithecus albogularis</i>	SIVsyk	30-60 %	276	Kenya	Sauvages et captifs	[94]
Dent's Monkey	<i>Cercopithecus denti</i>	SIVden	30%	11	DRC	Gardés comme animaux domestiques	[95]
Mustached Monkey	<i>Cercopithecus cephus</i>	SIVmus	1%	864	Cameroun	Viande de brousse	[91]
De Brazza's Monkey	<i>Cercopithecus neglectus</i>	SIVdeb	40.5%	37	Cameroun	Viande de brousse	[91]
L'Hoest Monkey	<i>Cercopithecus lhoesti</i>	SIVlho	25%	4	Rwanda	Sauvages	[96]
			57%	14	USA	zoo	[97]
Mantled colobus	<i>Colobus guereza</i>	SIVcol	17.9%	78	Cameroun	Viande de brousse	[91]
Western Red colobus	<i>Piliocolobus badius</i>	SIVwrc	50%	53	Côte d'Ivoire	Groupes habitués	[65, 85]
			70%	31	Côte d'Ivoire	Groupe habitué/carcasses	
Ugandan Red Colobus	<i>Piliocolobus rufomitatus</i>	SIVkrc	22.6%	31	Ouganda	Groupes en milieu naturel	[56]
Olive colobus	<i>Procolobus verus</i>	SIVolc	40%	2	Côte d'Ivoire	Groupes en milieu naturel	[98]

Tableau 2 : Prévalence de l'infection SIV pour plusieurs espèces de primates. Le nombre d'individus testés est précisé, ainsi que la nature de l'étude (milieu naturel, viande de brousse, animaux captif...)

2.2.3.2 Pathogénicité des SIV

La plupart des primates infectés sont des porteurs sains et ne développent pas une immunodéficience. Cependant, quelques cas de pathogénicité ont été rapportés chez des primates en captivité. Il s'agit, d'une part, d'individus ayant dépassé l'espérance de vie habituelle en milieu naturel (de par leur captivité) et d'autre part, de cas de transmissions inter-espèces. Les transmissions inter-espèces sont mises en évidence en caractérisant chez un individu un virus appartenant naturellement à une autre espèce, comme par exemple dans le cas de macaques infectés lors de contacts avec des mangabeys enfumés. Deux mandrills ont développé des symptômes de SIDA après avoir été infectés pendant dix-sept ans et un mangabey enfumé après dix-huit années d'infection [99-100]. Ceci tend à montrer que le développement de la maladie liée au virus SIV n'intervient qu'après de nombreuses années d'infection.

Le cas du SIVcpzPts chez les chimpanzés *Pan troglodytes schweinfurthii* à Gombé sera discuté plus loin.

3- ORIGINE ET HISTOIRE NATURELLE DU VIH-1

3.1 Les virus des chimpanzés, le SIVcpz

3.1.1 Origine des virus SIVcpz

On distingue quatre sous-espèces de chimpanzés, géographiquement séparées. Certains fleuves, comme le fleuve Congo et la Sanaga sont des barrières naturelles pour les grands singes qui ne savent pas nager. Les chimpanzés *Pan troglodytes troglodytes* sont les plus nombreux et leur aire de répartition est la plus large. On les retrouve dans les forêts du bassin du Congo couvrant le sud du Cameroun, la Guinée Equatoriale, le Gabon, le Congo, la République Centrafricaine, ainsi que dans l'extrême sud-ouest de la République Démocratique du Congo et dans l'enclave ouest de l'Angola.

Les chimpanzés vivant plus à l'est sont appelés *Pan troglodytes schweinfurthii*. On les trouve principalement en RDC, au nord de la rivière Congo, ainsi qu'en Ouganda, Tanzanie, Burundi, Rwanda, Soudan et République Centrafricaine.

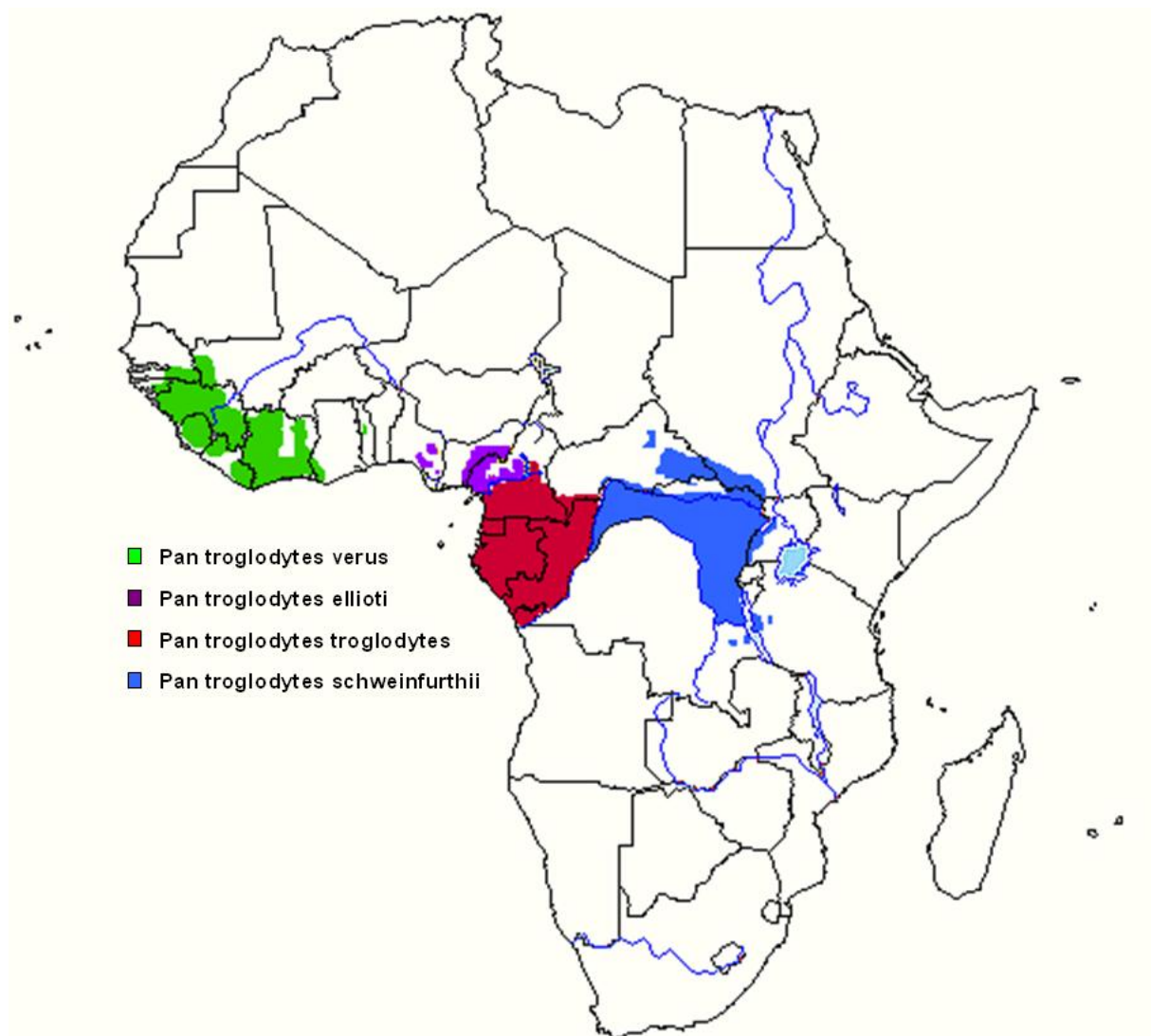


Figure 14 : Aires de répartition des quatre sous-espèces de chimpanzés

Les chimpanzés vivant au nord de la Sanaga, rivière traversant le Cameroun, sont plus rares, et appartiennent à une autre sous-espèce, les *Pan troglodytes vellerosus*, dorénavant appelés *Pan troglodytes ellioti* [101] qui ne vivent qu'au Cameroun et au Nigeria. Enfin, en Afrique de l'Ouest, la dernière sous-espèce est le *Pan troglodyte verus* (Guinée, Côte d'Ivoire, Mali, Libéria, Guinée-Bissau, Sierra Leone, Sénégal et Ghana).

Les deux sous-espèces actuellement présentes au nord-ouest du Cameroun et en Afrique de l'Ouest (*Pte* et *Ptv*, respectivement) se sont d'abord séparées des deux autres (*Ptt* et *Pts*). Ces dernières sont plus proches génétiquement l'une de l'autre et se sont séparées par la suite [102]. Les virus SIV, nommés respectivement SIVcpz*Ptt* et SIVcpz*Pts*, ont été trouvés uniquement chez les *Ptt* et *Pts*.

Les études sur les génomes SIVcpz trouvés chez les premiers chimpanzés ont tout d'abord montré une différence relativement importante entre les virus portés par ces deux sous-espèces, suggérant la présence de deux lignées distinctes chez les deux sous-espèces. Ces deux lignées auraient pu évoluer avec leurs hôtes respectifs depuis la séparation des espèces.

Les comparaisons phylogénétiques avec les SIVs retrouvés chez les petits singes ont fait ressortir que le SIVcpz est en fait une lignée recombinante. En effet, le génome des SIVcpz se regroupe avec les virus SIVrcm sur son gène *pol* mais est génétiquement proche des différents SIV retrouvés chez certains cercopithèques (SIVgsn/mus/mon) sur sa partie *env*. Ces virus reflètent une co-infection qui laisse supposer une transmission inter-espèces des petits primates aux chimpanzés en, au moins, deux occasions.

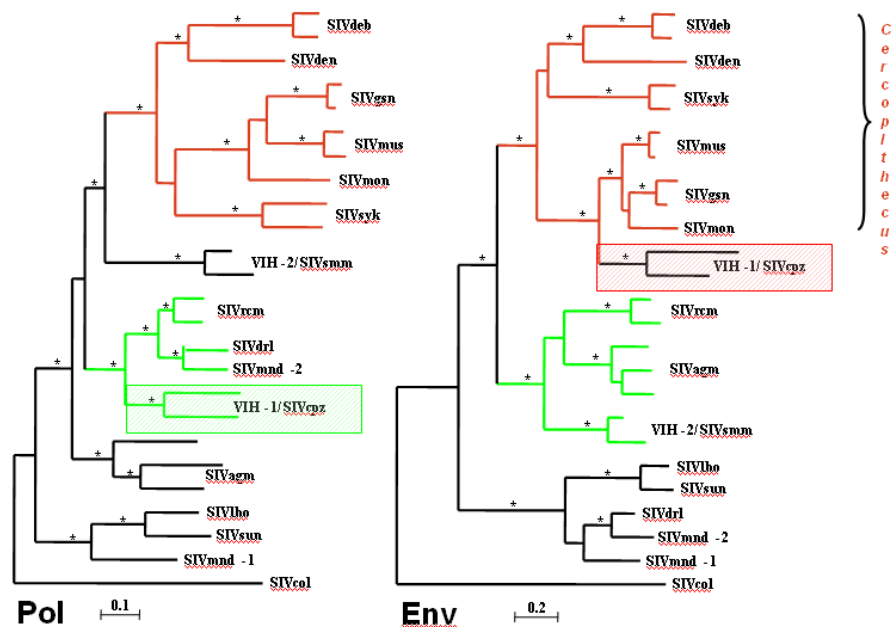


Figure 15 : Représentation phylogénétique des souches de SIV de différents primates sur les séquences protéiques partielles des gènes *pol* et *env*. Ces arbres illustrent la nature recombinante du virus SIVcpz qui est proche du SIV des *Cercopithecus* dans sa partie *env*, mais du SIVrcm dans sa partie *pol*.

Le mode de contamination supposé des chimpanzés est probablement lié à leur comportement alimentaire. En effet, les chimpanzés mangent occasionnellement de la viande et pour cela chassent, entre autres des primates. Durant la chasse, le contact direct avec le sang de la proie est inévitable et peut être un moyen vraisemblablement efficace pour la transmission inter-espèces des virus.

Cependant, la présence de deux lignées de virus phylogénétiquement proches chez deux des quatre sous-espèces de chimpanzés semble indiquer que l'infection s'est produite après la séparation entre les sous-espèces au Nord de la rivière Sanaga au Cameroun et celles du Sud, mais avant la séparation des *Ptt* et *Pts*. Il y aurait alors eut une co-évolution entre les hôtes et leurs SIV respectifs. Cependant, un problème identique à celui trouvé chez les petits primates au sujet de la datation des différents ancêtres communs du virus et de l'hôte, censés avoir évolué ensemble, se pose. En effet, les dates de séparation entre les deux sous-espèces sont évaluées à 220 000 d'années alors que la datation du plus récent ancêtre commun des virus infectant les deux sous-espèces est estimée entre 1200 et 1600 ans [102-104]. Les nouvelles évaluations pourraient apporter des informations supplémentaires et des estimations plus précises sur la datation de ces SIVcpz [61-62].

Une étude suggère également que les SIVcpz*Pts*, bien qu'ayant à priori un ancêtre commun avec les SIVcpz*Ptt*, ont probablement fait l'objet de recombinaisons supplémentaires [105]. Dans ces conditions, il ne peut être exclu qu'une transmission entre les deux sous-espèces ait eu lieu et l'histoire naturelle des SIVcpz n'est pas encore complètement dévoilée.

3.1.2 Localisation géographique des virus SIVcpz et mise en place de méthodes non invasives

Remonter l'histoire du VIH-1 et comprendre sa relation avec les SIVcpz présents chez les deux sous-espèces, a nécessité le développement et la mise en place de méthodes non invasives pour étudier les virus chez des populations de chimpanzés sauvages, en milieu naturel. Les seuls virus étudiés étaient identifiés à partir du sang d'animaux captifs. Les chimpanzés, comme tous les grands singes, sont des espèces en voie d'extinction, protégées par la convention CITES et il est donc évidemment interdit de les chasser ou de les capturer pour prélever du sang.

Les méthodes non invasives ont été développées dès 2001, et publiées en 2002, en partant du principe que l'on pouvait détecter les virus SIV, ainsi que les anticorps anti-SIV dans les selles. Les premiers essais ont eu lieu sur des animaux captifs afin de tester la sensibilité et la spécificité de ces nouvelles méthodes. En milieu naturel, des échantillons fécaux ont été collectés sur des communautés de chimpanzés habitués à l'homme, dans la forêt de Taï en Côte d'Ivoire (*Ptv*), à Kibale en Ouganda et à Gombé en Tanzanie (*Pts*). Cinquante-huit

chimpanzés ont été testés en sérologie, en utilisant un test Western Blot, et l'échantillon d'un mâle de Gombé a réagi positivement à ce test. L'ARN viral a ensuite été amplifié et caractérisé, démontrant ainsi la faisabilité de la détection des anticorps dans les fèces et de la caractérisation de l'ARN viral [106].

En 2003, cette méthode a été utilisée pour détecter une séropositivité et caractériser l'ARNv chez des mangabeys enfumés [107] et chez un *Cercopithecus lhoesti* [96]. La même année, de nombreux chimpanzés d'Afrique de l'Est ont été testés, en Ouganda (≈145) et en Tanzanie (≈100). Aucun individu d'Ouganda n'est apparu comme étant infecté par un SIV, alors qu'une estimation d'environ 13% (5% à 30%) d'infection en moyenne a été calculée dans trois communautés de Tanzanie. Avec une sensibilité de 92% et une spécificité de 100%, cette méthode non invasive a été validée [108].

Ces premières études ont eu lieu sur plusieurs groupes de chimpanzés, habitués à l'homme pour différentes études longitudinales. L'observation de leur comportement doit se faire en interférant le moins possible sur leur vie naturelle, mais ils peuvent être suivis et reconnus assez facilement. La collecte des fèces doit donc être faite en suivant les animaux, et en étant capable de les identifier. Les échantillons sont préservés dans du RNA-later qui permet de conserver l'ARN viral pendant plus d'une dizaine de jours à température ambiante.

Le problème qui se posait alors était de pouvoir échantillonner un plus grand nombre d'endroits, sur différentes communautés sauvages, en incluant des lieux où aucun projet d'habitation aux hommes n'existait. C'est dans ce contexte qu'une étude a été mise en place au Cameroun en 2003 ayant pour objectif de se former au suivi des grands singes en milieu naturel et à la recherche et collecte d'échantillons de fèces frais, suivant le protocole mis en place en 2002 en Afrique de l'Est.

3.1.3 La découverte des réservoirs des groupes M et N

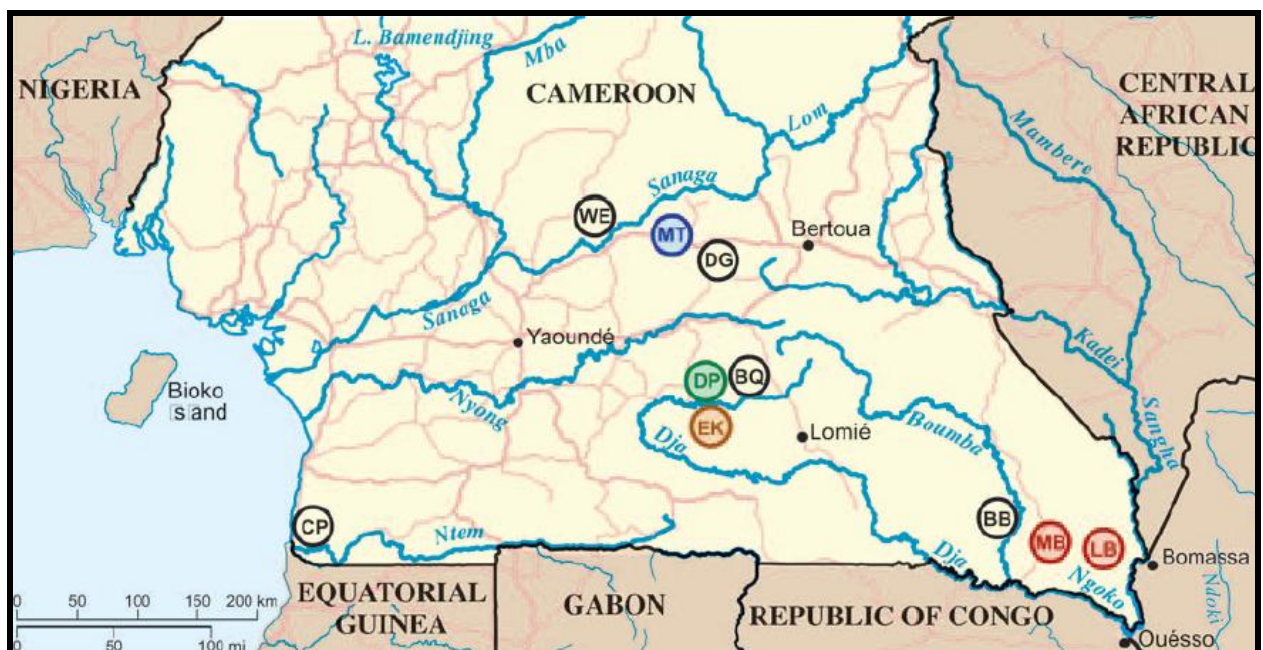
Les méthodes non invasives ont permis de tester différentes communautés de chimpanzés dans de nombreuses zones du Cameroun, chez les 2 sous-espèces vivant dans ce pays, à savoir *Pan troglodytes troglodytes* et *Pan troglodytes ellioti*. Dix sites ont tout d'abord été prospectés dans ce pays et presque six cents échantillons de grands singes collectés, la plupart d'entre eux appartenant à la sous-espèce *Pan troglodytes troglodytes* (423 *Ptt* ; 23 *Pte* ; 86 étaient dégradés et 67 appartenaient à des gorilles).

Trente quatre échantillons fécaux de *Ptt* ont eu une réaction positive aux tests de sérologie Western Blot. Les analyses génétiques de l'ADN de l'hôte ont permis de distinguer seize

individus, donc seize chimpanzés porteurs de SIVcpz_{ptt}, dans cinq sites différents. Pour chaque individu, un fragment de l'ARNv a pu être amplifié et analysé.

Les analyses phylogénétiques ont mis en évidence plusieurs variants SIVcpz, se regroupant avec les SIVcpz précédemment caractérisés. Deux de ces variants forment des clades avec le VIH-1 groupe M et le VIH-1 groupe N, mais aucun avec le groupe O. De plus, les prévalences dans les communautés de chimpanzés porteurs de ces virus sont relativement importantes (plus de 35% pour le SIVcpz_{ptt} se rapprochant du VIH-1 groupe M et plus de 28% pour le SIVcpz_{ptt} se rapprochant du VIH-1 groupe N). Ces nouvelles découvertes ont permis de localiser le réservoir des ancêtres des VIH-1 groupes M et N [109] (Figure 16). Le terme de réservoir dans ce travail, est utilisé pour désigner une (sous)-espèce porteuse du virus précurseur d'un groupe de VIH. Ce terme peut être discuté puisque les communautés de chimpanzés porteuses de SIV ne jouent plus un rôle majeur dans le développement de la pandémie humaine actuelle, bien qu'à l'origine de celle-ci; Il est employé par soucis de cohérence avec les publications précédentes [109].

Cette étude confirme donc que les chimpanzés *Pan troglodytes troglodytes* sont porteurs des précurseurs des virus humains, VIH-1 groupe M, pandémie, et VIH-1 groupe N, non pandémie. Ils sont le résultat de transmissions inter-espèces dont les modalités exactes n'ont pas été découvertes. L'explication la plus plausible semble être un contact avec le sang de ces animaux, probablement lors de la chasse ou de la préparation de la viande.



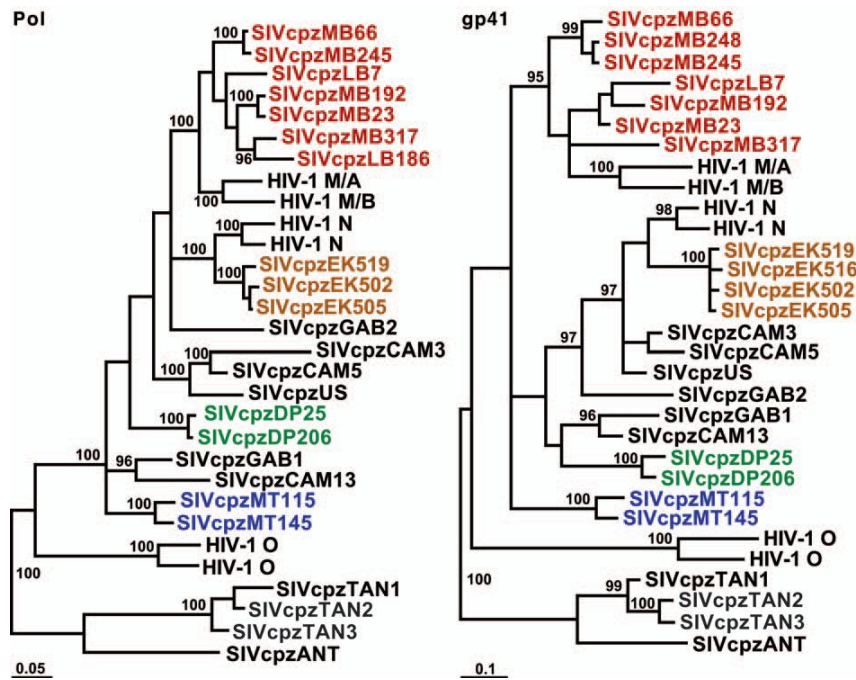


Figure 16 : Localisation des chimpanzés SIVcpz positifs au Cameroun (en haut) et arbres phylogénétiques des SIVcpz identifiés dans différentes communautés de chimpanzés. Les virus se regroupent en fonction de leur provenance géographique

3.1.4 La diversité génétique du SIVcpz

Suite à la découverte des réservoirs des VIH-1 groupe M et N, d'autres collectes de fèces de grands singes ont été faites au Cameroun. Six des dix sites précédemment étudiés ont été à nouveau prospectés, ainsi que cinq nouvelles zones encore inconnues.

Les échantillons ont été testés en sérologie sur un test « Line Immuno Assay » commercialisé pour détecter le VIH-1 et 2 (Inno LIA VIH I/II) puis ont été confirmés par Western Blot. Cinquante-cinq nouveaux échantillons de *P. t. ellioti* ont été collectés mais aucun d'entre eux n'a été positif, suggérant que ce virus n'est pas présent dans cette sous-espèce. Sur les 378 nouveaux échantillons de *Ptt*, 40 étaient séropositifs, correspondant à seize nouveaux individus et à un individu possiblement déjà collecté dans la précédente prospection.

L'analyse phylogénétique des nouveaux virus identifiés confirme tout d'abord la présence des précurseurs du VIH-1 groupe M au sud-est du Cameroun, avec une prévalence importante chez différentes communautés de chimpanzés (les échantillons positifs ont été collectés sur une surface d'environ 500 km²). Tous les nouveaux virus identifiés dans cette zone forment un groupe monophylétique proche du VIH-1 groupe M.

De plus, un chimpanzé trouvé à une trentaine de kilomètres des individus porteurs du SIV proche du groupe N est également porteur de ce type de virus. Il est intéressant de noter

que ces chimpanzés vivent à l'intérieur de la boucle du Dja, une rivière formant une barrière très difficilement franchissable pour les grands singes, cette population est donc relativement isolée des autres dans la réserve du Dja. Tous les autres virus se regroupent en fonction de leur situation géographique.

Cependant, des cas de recombinaisons lors de l'évolution des différents virus présents chez les *Ptt* au Cameroun ont également été mis en évidence par les comparaisons phylogénétiques des différentes parties du génome. Ces résultats confirment une infection ancienne et endémique à la sous-espèce.

Chez les *Ptt* étudiés dans ce pays, de nouveaux virus n'ayant pas (encore) d'équivalent humain ont été découverts. Il semble donc que cette sous-espèce puisse être un réservoir potentiel pour de nouvelles transmissions inter-espèces chez l'Homme. Cette étude a fait l'objet d'une publication en 2007 [110].

Les *P. t. ellioti* étudiés n'ont jusqu'à maintenant révélé aucune infection SIV. Il en est de même pour tous les *P. t. verus* d'Afrique de l'Ouest malgré des tests effectués sur environ 1500 échantillons provenant d'individus en milieu naturel et en captivité [111-112]. Une exception existe cependant puisqu'un *P. t. ellioti* a été infecté dans un sanctuaire alors que les deux sous-espèces vivaient dans le même enclos. Il s'agit d'une transmission entre un *Ptt* infecté et cet individu ; ce virus n'est donc pas propre à la sous-espèce *P. t. ellioti* [48].

Les virus retrouvés chez la sous-espèce *P. t. schweinfurthii* sont bien répartis sur toute son aire de répartition, notamment en République démocratique du Congo, comme l'a montré une nouvelle étude épidémiologique [113]. Les nouveaux SIVcpzPts sont proches des virus précédemment identifiés chez cette sous-espèce, et forment, de la même manière que les SIVcpzPtt, des groupes en fonction de leur situation géographique.

3.1.5 Pathogénicité du SIVcpz

Le pouvoir pathogène des SIVcpz chez leurs hôtes a longtemps été considéré comme insignifiant, puisque chez les SIV des petits primates non humains, le virus conduit à une immunodéficience uniquement dans le cas où l'individu est infecté depuis très longtemps, ou si le SIV spécifique d'une espèce est transmis à une autre (ex : le SIVsmm chez les macaques). Cependant, le SIVcpz est un recombinant de SIV retrouvés chez plusieurs espèces de petits singes, et semble être présent dans cette espèce depuis moins longtemps que les SIV des autres primates.

Les premières études ont été faites sur les chimpanzés infectés pris en charge dans les sanctuaires, parmi lesquels huit ont été testés séropositifs au SIVcpz. Ces chimpanzés sont généralement des orphelins dont la mère a été tuée par des braconniers et sont donc nés en milieu naturel. Ils ont été confisqués par les gouvernements et remis aux sanctuaires. Six d'entre eux appartenaient à la sous-espèce *Ptt* (trois provenaient du Cameroun, Cam3, Cam5, Cam13, deux du Gabon, Gab1 et Gab2 ; un était d'origine inconnue, gardé aux Etats-Unis, US) ; l'un d'entre eux a été identifié comme un *Pan troglodytes ellioti* (Cam4) et un autre, un *Pts* (ANT). Tous les *Pan troglodytes troglodytes* sont décédés rapidement après leur arrivée, la cause de leur mort étant indéterminée [44-46, 48, 114]. Il n'y a jamais eu de suivi particulier de ces individus en ce qui concerne le SIV puisque la mortalité prématurée des animaux arrivant dans les sanctuaires (20%) n'a pas semblé être significativement plus élevée chez les porteurs de virus [115]. Le *Pts* a été suivi et son infection n'a pas été jusqu'à présent, vingt-cinq ans après, en relation avec la perte de CD4+ ou de symptômes associés au SIDA. Il était cependant affecté par une thrombocytopénie permanente [46, 116]. L'un des *Ptt* (Gab-1), bien que ne présentant pas d'anormalité hématologique, souffrait d'une lymphadénopathie chronique [117]. Ces symptômes sont similaires à ceux retrouvés chez des personnes séropositives. D'autres études sont donc nécessaires pour comprendre les conséquences d'une infection SIV chez les chimpanzés (Etienne L., en prep.).

Cependant, une étude récente sur la sous-espèce *Pan troglodytes shweinfurthii* semble démontrer que le SIVcpz*Pts* est pathogène chez ses hôtes. Cette recherche porte sur une centaine d'individus du Parc National de Gombé en Tanzanie, appartenant à trois communautés distinctes, dont deux sont habituées à l'homme et régulièrement suivies pour différentes études. Le statut sérologique des chimpanzés a été testé régulièrement pendant neuf ans. Neuf individus étaient SIV positifs depuis le début de l'étude et huit se sont séroconvertis par la suite, dont deux enfants.

Les résultats montrent, de manière significative, que les individus infectés meurent plus jeunes que les individus non infectés. De plus, les femelles séropositives semblent environ trois fois moins fécondes que les femelles séronégatives et aucun de leur enfant (n=4) n'a dépassé l'âge de un an.

Des examens post mortem ont été effectués sur cinq chimpanzés, trois infectés et deux non infectés. Une seule femelle infectée est morte de cause inconnue, les autres ont subi des traumatismes physiques (agression et ruptures de la colonne vertébrale). Les résultats ont révélé une perte progressive des lymphocytes CD4+ chez les individus infectés, conséquence caractéristique d'une infection pathogène des SIV/VIH conduisant à une immunodéficience.

Bien que cette étude ait été menée sur un nombre restreint de chimpanzés infectés, elle tend à montrer que le SIVcpzPts est pathogène chez son hôte [118-119].

Ces nouvelles conclusions sur l'impact des SIVcpz chez leurs hôtes soulèvent de nouvelles questions. D'une part, est-ce que les symptômes découverts chez les chimpanzés de l'Est se retrouvent chez l'autre sous-espèce *Ptt*, porteuse du virus à l'origine des VIH? Est-ce que cette maladie est le résultat de propriétés intrinsèques à la famille des virus SIVcpz/VIH-1 ou est-ce que les chimpanzés, comme l'homme, ne se sont pas adaptés au virus ?

D'autre part, chez cette espèce en danger d'extinction, quel est donc le véritable impact de l'infection SIV pour sa survie ?

Toutes ces questions confirment l'importance de l'étude des virus SIV dans leur milieu naturel.

3.2 Le virus des gorilles, le SIVgor

3.2.1 Répartition géographique des gorilles

Il existe deux espèces de gorilles, chacune divisée en deux sous-espèces.

On distingue les *Gorilla gorilla gorilla* et les *Gorilla gorilla diehli*, à l'ouest de l'Afrique subsaharienne ainsi que les *Gorilla beringei graueri* et *Gorilla beringei beringei* à l'est. Tous ces gorilles sont menacés d'extinction et c'est le cas plus particulièrement des *Ggd* ou « cross-river gorillas » que l'on ne retrouve qu'à la frontière entre le Nigeria et le Cameroun en nombre très restreint, approximativement deux cent cinquante à trois cents individus au total, répartis dans neuf à onze localités [120]. Au sud de la Sanaga, se trouvent les *Ggg*, plus nombreux et estimés à environ 95 000 individus en 1996. Cette estimation est basée sur l'hypothèse d'un habitat intact depuis les années 80, ce qui n'est pas le cas. De plus, des épidémies, notamment d'Ebola, ont décimé des populations entières. Le nombre de gorilles de cette sous-espèce reste donc difficile à évaluer aujourd'hui, mais la population totale est, quoi qu'il en soit, en train de diminuer [121].

A l'est de l'Afrique, on retrouve deux petites populations distinctes de gorilles des montagnes (*Gbb*), dont le nombre s'élève à seulement 680 individus au total. Il existe néanmoins une discussion pour savoir si la population de *Gbb* située au Rwanda appartient réellement à cette sous-espèce. La sous-espèce *Gbg* est un taxon endémique qui n'existe qu'à l'Est de la République démocratique du Congo. A partir du milieu des années 1990, on estimait la population de ces gorilles à environ 17.000 (9.000 - 25.000) dont 86 % vivaient dans le

Kahuzi-Biega et la région proche de Kasese. Depuis, la population diminue, comme toutes les populations de gorilles [122] (figure 17).

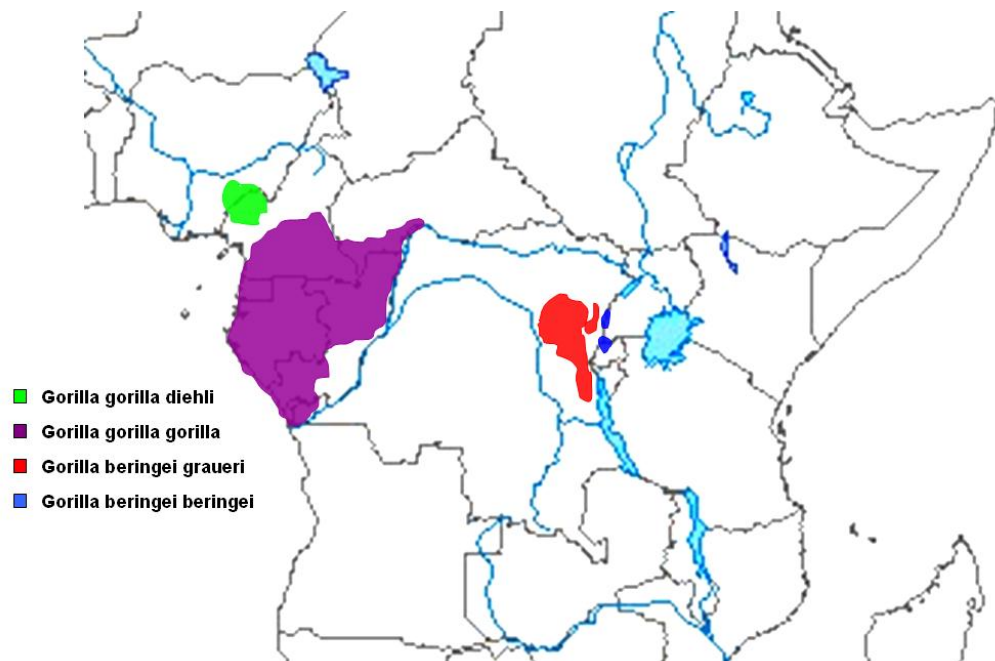


Figure 17 : Aires de répartition des différentes sous-espèces de gorilles en Afrique Centrale

3.2.2 La découverte du SIVgor et les VIH-1 groupe O et P

Alors que les virus précurseurs des VIH groupes M et N ont été découverts chez les chimpanzés *Pan troglodytes troglodytes*, aucun équivalent au groupe O n'avait été observé chez des primates (petits ou grands singes).

Durant les collectes d'échantillons fécaux de chimpanzés *Ptt* au Cameroun, nous avons également collecté des échantillons de gorilles, *Gorilla gorilla gorilla*, les deux espèces étant sympatriques. Nous avons collecté 213 échantillons de *Ggg* dans dix sites différents au sud de la rivière Sanaga au Cameroun ainsi que vingt et un échantillons de l'autre sous-espèce présente au Cameroun (*Gorilla gorilla diehli*) dans un seul site. Ils ont été testés en sérologie (Inno LIA VIH I/II) et six d'entre eux, appartenant à l'espèce *Ggg*, présentaient une réaction positive.

Après confirmation de l'espèce, le nombre d'individus positifs a été vérifié par analyse des microsatellites sur l'ADN de l'hôte. Ces échantillons correspondaient à trois individus différents, collectés pour deux d'entre eux dans la même zone, au sud-ouest du Cameroun

fortement réagi aux tests sérologiques. Cependant, malgré de nombreux essais pour isoler et identifier ce virus, il n'a pas été possible de le caractériser et donc de confirmer cette infection. Ces résultats sur la découverte du SIVgor ont été publiés dans Nature en 2006.

Vu le nombre peu important d'échantillons et la divergence entre SIVgor et VIH-1 groupe O, il reste encore à définir quelle espèce, du gorille ou du chimpanzé, est l'hôte naturel du précurseur de ce virus humain. Les études phylogénétiques pointent le chimpanzé comme ayant été porteur du précurseur de cette lignée. Nous ne savons pas si ce précurseur existe encore aujourd'hui. Le virus aurait donc pu être transmis aux gorilles et à l'homme indépendamment, ou au gorille qui l'aurait, par la suite, transmis à l'homme.

La transmission entre chimpanzé et gorille reste également à élucider puisque ces deux espèces, bien que sympatriques, n'ont que de rares contacts. Si les chimpanzés ont probablement été contaminés par leurs comportements de chasseurs, l'infection chez les gorilles n'a pas pu se faire par ce biais puisqu'ils se nourrissent principalement de végétaux, fruits et insectes.

L'étude plus approfondie des SIVgor en milieu naturel est donc indispensable pour essayer de comprendre l'origine et l'histoire de cette famille de virus.

• Le cas du groupe P

Suite à la découverte surprenante de l'infection SIVgor chez les gorilles de la sous-espèce *Gorilla gorilla gorilla*, un nouveau virus humain a été identifié chez une patiente d'origine camerounaise. Il diffère des autres VIH-1 et représente un nouveau variant appelé VIH-1 groupe P. L'étude phylogénétique de ce nouveau virus, comparée avec les génomes disponibles de SIVgor, SIVcpz et les différents groupes de VIH-1, montre qu'il est très proche des SIVgor. Néanmoins, ce variant n'est pas un descendant direct des SIVgor reconnus à ce jour [19]. Récemment, un autre virus du groupe P a été isolé, également chez un patient Camerounais. Il est génétiquement très proche du virus précédemment caractérisé et confirme la présence et la circulation de ce virus au Cameroun [20]. L'hypothèse la plus plausible est une nouvelle transmission inter-espèces du gorille à l'homme, bien qu'il ne soit pas possible d'exclure totalement la possibilité d'un intermédiaire comme le chimpanzé. Cette découverte laisse supposer que les gorilles, de la même manière que les chimpanzés, peuvent être à l'origine de certains variants VIH circulant actuellement chez l'homme.

Elle souligne également l'importance de la caractérisation de nouveaux variants SIV chez les primates non humains sauvages, en parallèle avec la surveillance de l'émergence de nouveaux variants dans la population humaine.

3.3 Les transmissions inter-espèces entre chimpanzés, gorilles et Hommes

Des transmissions inter-espèces entre les primates ont été démontrées dans plusieurs cas chez les petits singes. Une étude montre que les virus des gorilles connus à ce jour proviennent d'une seule transmission entre les chimpanzés *Ptt* et les gorilles *Ggg* [123]. L'estimation du plus ancien ancêtre commun est, jusqu'à présent, très hypothétique puisque le nombre de séquences d'ARN viral de SIVgor disponibles n'est pas suffisant. Cette transmission entre les chimpanzés et les gorilles se serait déroulée il y a au moins cent à deux cents ans. Cependant, de nouvelles études à ce sujet sont nécessaires dans la mesure où le nombre de gorilles infectés reste trop faible pour avoir une estimation précise.

En ce qui concerne les hommes, des transmissions de SIV de primates non humains à l'homme ont eu lieu en au moins huit occasions dans le cas du VIH-2 (groupe A à H) et en quatre occasions pour le VIH-1 (groupes M, N, O et P). Les études sur la datation d'apparition de ces virus dans la population humaine, sont estimées à partir de l'étude des relations phylogénétiques entre les SIV et les VIH. Elles prennent en compte le taux de mutation des variants pour remonter jusqu'au plus ancien ancêtre commun de chaque lignée (MRCA).

Pour le VIH-1, les estimations les plus récentes donnent un MRCA pour le groupe M au début du siècle (1908, 1884-1924), plus ancien que les groupes O (1920, 1890-1940) et N (1963, 1948-1977). Pour l'instant, il est impossible de dater la transmission inter-espèces qui a conduit à l'apparition du VIH-1 groupe P. Cependant, un ajustement avec les nouvelles recherches sur la datation des SIV pourrait donner des résultats différents puisque celles-ci propose un ancêtre commun à toute cette famille de virus (SIVcpz/SIVgor et VIH-1) il y a 10 000 ans [61] au lieu des quelques siècles estimés auparavant (1492, 1266-1685) [103].

Quant aux VIH-2, les transmissions du mangabey enfumé à l'homme, au moins pour les deux groupes pandémiques (A et B) se seraient produites dans les années 1930 (1906-1961) [103].

3.4 Origine des virus et origine de la pandémie

Si l'origine des virus ayant conduit aux différents VIH est partiellement révélée, il n'en reste pas moins que l'origine de la pandémie n'est pas totalement élucidée et reste sujette à controverses. L'hypothèse la plus probable sur l'introduction du virus dans la population humaine est la transmission inter-espèces via la chasse ou la préparation de la viande de brousse qui entraîne inévitablement un contact avec le sang de l'animal. Cependant, la chasse existe depuis beaucoup plus longtemps que le début du siècle et les peuples des forêts équatoriales ont depuis toujours pratiqué la chasse de subsistance. Dans ces conditions, il est fort probable que des contaminations aient eu lieu auparavant, sans avoir conduit à une pandémie car isolées. Une théorie sur l'introduction iatrogène du virus par les campagnes de vaccinations contre la poliomyélite a été développée (OPV) : selon ses défenseurs, les vaccins auraient été produits à partir de reins de chimpanzés infectés, ce qui aurait permis au virus de se développer dans la population humaine [124]. Cette théorie a été réfutée par la majorité de la communauté scientifique, entre autres parce que les chimpanzés qui auraient été utilisés n'appartenaient pas à l'espèce *Pan troglodytes troglodytes* mais à *Pan troglodytes schweifurthii*. De plus, il a été montré que d'autres espèces ont été utilisées pour la préparation de ce vaccin [125]

L'épicentre de la pandémie semble se situer à Kinshasa (RDC), ce qui ne correspond pas exactement à l'emplacement géographique du réservoir du VIH-1 groupe M qui se trouve au sud-est du Cameroun, à près de 800km. Cette différence géographique entre l'origine des virus et l'origine de la pandémie n'est pas encore totalement élucidée.

Plusieurs facteurs sont certainement responsables des premières propagations du virus sur différents continents, en commençant par les migrations humaines depuis la colonisation, la facilité et la rapidité des déplacements, l'ouverture de voies de communications jusqu'au cœur des forêts, particulièrement pour l'exploitation forestière, etc... Cependant, il est également possible que les campagnes de vaccinations au cours de la colonisation, n'utilisant pas de matériel stérilisé, aient contribué au développement de la pandémie [126-128]. Au niveau international, l'explosion des infections dans les années 1970-1980 jusqu'au stade pandémique a également été déclenchée par plusieurs facteurs. Les changements de mœurs et la révolution sexuelle des années 70 ont favorisé la propagation du virus en Europe et aux USA, en augmentant le nombre de partenaires et en facilitant les relations homosexuelles. D'autres facteurs ont également participé, comme par exemple les transfusions sanguines.

Se pose également la question des différents variants qui ne sont pas tous pandémiques. Pour le VIH-1, le groupe M à lui seul, représente 99% des infections mondiales alors que les groupes O, N et P ne représentent que quelques cas. Quant au VIH-2, il est moins virulent que le VIH-1 et possède un taux de transmissibilité moindre. Sa prévalence qui était majoritaire au début de l'épidémie en Afrique de l'Ouest, au milieu des années 80 a largement diminué [21]. Enfin, étrangement, aucun variant du SIVcpzpts n'a jusqu'à aujourd'hui été retrouvé chez l'homme. Il reste donc à définir les facteurs pouvant expliquer cette situation. Il est possible que cette espèce soit moins chassée, ou encore qu'il existe des qualités intrinsèques aux différents variants les aidant à devenir ou non pandémiques.

En conclusion, si les VIH trouvent leurs origines chez les primates non humains, il reste encore des interrogations partielles sur le passage à l'homme, l'origine de la pandémie et la dynamique des différents variants, notamment en milieu naturel.

4 - ELEMENTS DE SOCIO ECOLOGIE DES GRANDS SINGES ET TRANSMISSION DES PATHOGENES

4.1 Relations hôte virus

Si le VIH-1 trouve son origine chez les chimpanzés *Pan troglodytes troglodytes*, la découverte de virus génétiquement proches chez les gorilles des plaines de l'Ouest (*Gorilla gorilla gorilla*) partageant le même habitat et la même aire géographique a montré une histoire commune entre les SIV de ces deux espèces. Un ancêtre du SIVcpzPtt a été transmis au gorille, puis les premières études suggèrent qu'il aurait pu s'établir au sein de l'espèce, bien que peu d'individus infectés ont été découverts.

Pour qu'une infection puisse s'établir chez son hôte, il faut d'abord une opportunité de transmission inter-espèces. Le virus et son nouvel hôte potentiel doivent être en contact, c'est-à-dire présents dans la même zone géographique à un moment donné. Lorsque le virus est passé chez un nouvel hôte, il doit être capable de se reproduire et de se transmettre, ce qui dépend des caractéristiques du virus comme de l'hôte. Enfin, l'établissement de l'infection chez ce nouvel hôte, par la transmission à l'intérieur de l'espèce, dépend étroitement de facteurs tels que la densité de population ou les contacts entre les individus [129].

La circulation d'un virus et son établissement au sein d'une espèce sont donc liés à l'organisation sociale de l'hôte et à ses comportements qui peuvent avoir une implication plus ou moins importante dans la transmission d'une infection. En dehors des propriétés intrinsèques aux différents variants, c'est un des éléments importants expliquant les différences de prévalence chez différentes espèces, différentes communautés de la même espèce, ainsi que les transmissions inter-espèces.

4.2 Sympatrie des sous-espèces infectées

Les deux sous-espèces (*Ptt* et *Ggg*) concernées par l'origine du VIH-1 sont endémiques au bassin du Congo. Elles sont sympatriques, créant alors des opportunités pour la transmission de pathogènes entre elles.

Leurs aires de répartitions se superposent et elles vivent toutes deux dans les forêts équatoriales, bien qu'on retrouve certaines populations de chimpanzés dans les savanes. Même si une grande partie de leur alimentation est identique (fruits, insectes, herbacées) et que leurs territoires se chevauchent, on observe des différenciations dans leur stratégie de recherche de nourriture et dans leurs choix de sites de nidification. Les deux espèces vivent en groupes et forment le soir des nids pour dormir. Chaque membre du groupe fait son propre nid pour la nuit, à l'exception des petits non sevrés qui dorment avec leur mère. Les gorilles nichent dans des forêts dont le sous-bois est touffu et riche en plantes de la famille des marantacées et zingibéracées, forêt secondaire, anciennes pistes forestières, marécages, etc.... Au contraire, les chimpanzés préfèrent les forêts primaires au sous-bois ouvert. Ils ont tendance à nicher sur les collines et font leurs nids en hauteur sur les arbres [130-131]. Les gorilles, lors de la saison sèche, quand les fruits se font plus rares, s'adaptent en orientant leur régime alimentaire vers les plantes herbacées qui poussent en toute saison [132-133]. Les chimpanzés diminuent plutôt la taille des sous-groupes pour que la stratégie de recherche de nourriture soit plus efficace [134].

Ces différences adaptatives ont conduit à une différence de niche écologique, certainement dans le but d'éviter le plus possible la compétition directe. Cependant, certains endroits, comme des arbres fruitiers, sont visités indépendamment par les deux espèces et dans des cas plus rares, au même moment [135-136]. Les rencontres entre gorilles et chimpanzés ont rarement été observées, mais semblent inévitables. Dans ce contexte, la transmission inter-espèces de pathogènes est possible mais probablement moins importante que dans le cas d'associations poly-spécifiques.

4.3 Organisations sociales

Gorilles et chimpanzés sont des espèces grégaires ayant de nombreux contacts avec leurs congénères, créant ainsi des opportunités pour les pathogènes de s'établir au sein de l'espèce. Dans le cas des SIV, la transmission au sein d'une espèce dépend principalement de sa stratégie de reproduction (relations sexuelles), des comportements pouvant induire un contact direct avec le sang (agonistiques, épouillage) ainsi que de la transmission verticale de la mère à son petit, même si des contacts indirects (avec urine, fèces, salive...) ne peuvent être exclus.

Concernant la transmission verticale, les deux espèces pourraient avoir des taux de transmission comparables puisque les femelles gorilles et chimpanzés ont, en moyenne, entre quatre et cinq petits, qu'elles allaitent pendant environ trois ans [137]. Cependant, à cause de leurs systèmes sociaux différents, les taux de transmissions horizontales sont susceptibles de varier.

4.3.1 Domaines vitaux et comportements à risque

Les gorilles vivent en groupes plus restreints que les chimpanzés et leur organisation sociale diffère totalement. En effet un groupe de gorilles est un harem où le mâle dominant est appelé « silverback » ou « dos argenté ». Lorsque sa dominance est établie à l'intérieur d'un groupe, ce mâle développe une couleur particulière sur le dos, plus claire que le reste du corps qui est noir, ce qui le différencie des autres mâles présents, les « blackbacks ». Des femelles l'accompagnent, avec des juvéniles. La taille des groupes peut varier de deux à une vingtaine d'individus [138-139], et parfois atteindre trente-cinq gorilles [140]. Les mâles n'ayant pas de harem vivent en solitaire et peuvent former pour un temps des groupes uniquement composés de mâles. A l'intérieur des groupes, les comportements affiliatifs comme agonistiques sont rares [141]. Les domaines vitaux de groupes de gorilles ont une surface généralement comprise entre huit et seize kilomètres carrés qui se chevauchent largement, mais les rencontres inter-groupes sont la plupart du temps tolérantes [142]. Des cas de formations de sous-groupes ont également été observés pour la recherche de nourriture et même pour la nidification. Les sous-groupes cependant, n'ont pas été observés nichant à plus de cinq cents mètres l'un de l'autre [140].

Les chimpanzés ont été principalement étudiés chez les sous-espèces *Pan troglodytes* *schweinfurthii* et *verus*, pour lesquels des sites d'habitation existent, permettant de suivre et

d'observer les différents groupes. Peu d'études directes sont disponibles pour les *Pan troglodytes troglodytes*. De manière générale, les chimpanzés vivent dans de grandes communautés multimâles multifemelles dont l'organisation sociale est la « fusion fission », consistant en la formation de sous-groupes qui se font et se défont en fonction de nombreux facteurs (liens de parenté, affinités, oestrus des femelles, recherche de nourriture...). Ces communautés peuvent atteindre plus d'une centaine d'individus, mais varient en moyenne autour de cinquante. Le système social des chimpanzés est très complexe et de nombreuses interactions, affiliatives ou agressives, existent entre les individus d'un même groupe ou d'une même communauté. Le domaine vital d'une communauté est assez bien défini, ne se chevauche que très peu avec celui des communautés voisines et fait en moyenne entre trente et cinquante kilomètres carrés [137, 143]. Les mâles d'une communauté peuvent être très territoriaux et défendent l'entrée aux mâles des communautés voisines par des patrouilles régulières et des agressions qui peuvent conduire à la mort des « intrus » [144]. A l'intérieur de cette zone, se trouve le cœur du domaine, où les individus se rencontrent régulièrement en groupes plus importants.

4.3.2 Système de reproduction

De par leurs organisations sociales différentes, ces deux espèces ont des systèmes de reproduction également distincts.

Chez les gorilles, seul le dos argenté se reproduit avec les femelles de son groupe. Les descendants quittent leur groupe natal à leur maturité sexuelle. Les femelles rejoignent un autre groupe ou un autre mâle et les mâles essaient de former leur propre harem, soit en attirant des femelles d'autres groupes, soit en défiant un mâle âgé pour prendre sa place dans un harem déjà formé [145-146].

Chez les chimpanzés, les femelles quittent leur communauté de naissance pour aller dans une communauté voisine. Un système de hiérarchie complexe existe dans les communautés qui doit, a priori, donner au mâle dominant une priorité d'accès aux femelles en oestrus. Cependant, le système de fusion-fission favorise les rencontres et les accouplements entre mâles et femelles de différents rangs sociaux [147-148].

4.4 pathogènes communs et transmissibles entre les hominidés

De nombreux cas de maladies pouvant toucher les gorilles, les humains, et les chimpanzés, ont été observés. Les hominidés, génétiquement proches, sont généralement susceptibles d'être infectés par les mêmes pathogènes. On distingue les transmissions directes et

indirectes. En effet, nombre de virus, parasites, bactéries, peuvent provoquer des maladies chez tous les primates sans que la transmission directe d'une espèce à l'autre en soit la cause et proviennent simplement de l'environnement, d'un hôte différent ou d'un autre vecteur (par exemple le moustique dans le cas du *Plasmodium falciparum*). Il est difficile de démontrer des cas de transmission directe de maladie entre plusieurs primates sauvages, à moins que l'hôte et l'agent causal aient évolué ensemble et que cet agent soit endémique à une espèce. Dans ce cas, la comparaison entre l'évolution de l'hôte et du pathogène par des méthodes de phylogénie peuvent montrer des similitudes et des relations. C'est le cas du SIV. Des transmissions inter-espèces sont également supposées dans les cas de mortalités concomitantes et de cause identique (épidémie d'anthrax ou d'Ebola).

Les cas de transmissions inter-espèces entre hominidés les plus étudiés sont ceux entre les grands singes habitués et l'homme ou encore les instances spécifiques de transmission en sanctuaire/zoos, qui ne reflètent pas forcément ce qui se passe en milieu naturel. L'étude de ces transmissions est particulièrement importante puisque, d'une part les maladies émergentes secondaires à une anthroponoses sont un problème majeur en santé publique, mais aussi parce que les transmissions inverses (homme - animal) sont un des facteurs pouvant induire des mortalités chez les grands singes. L'étude de ce genre de transmissions est particulièrement importante dans le cadre de projet d'habitué des gorilles ou chimpanzés car de nouveaux pathogènes introduits dans ces populations peuvent conduire à la disparition des animaux.

5 – PUBLICATIONS

1) Fran Van Heuverswyn, Yingying Li, **Cécile Néel**, Elizabeth Bailes, Brandon F. Keele, Weimin Liu, Severin Loul, Christelle Butel, Florian Liegeois, Yangda Bienvenu, Eitel Mpoudi Ngolle, Paul M. Sharp, George M. Shaw, Eric Delaporte, Beatrice H. Hahn and Martine Peeters (2006). **Human immunodeficiency viruses: SIV infection in wild gorillas.**

Nature Volume 444 Number 7116; p164

2) Fran Van Heuverswyn, Yingying Li, Elizabeth Bailes, **Cécile Néel**, Benedicte Lafay, Brandon Keele, Katharina S. Shaw, Jun Takehisa, Matthias H. Krauss, Severin Loul, Christelle Butel, Florian Liegeois, Bienvenue Yangda, Paul M Sharp, Eitel Mpoudi-Ngolle, Eric Delaporte, Beatrice H. Hahn and Martine Peeters. (2007).

Genetic diversity and phylogeographic clustering of SIVcpzPtt in wild chimpanzees in Cameroon. Virology. 2007 Nov 10; 368(1):155-71

HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUSES

SIV infection in wild gorillas

Chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*) from west central Africa are recognized as the reservoir of simian immunodeficiency viruses (SIVcpz/P#) that have crossed at least twice to

(gp160/gp120, gp41) and Pol (p66, p51) proteins in a confirmatory western blot (Fig. 1a).

Fecal RNA was extracted from all antibody-positive gorilla specimens and ampli-

chimpanzees, gorillas and humans; that distinct chimpanzee communities in southern Cameroon transmitted divergent SIVcpz to humans, giving rise to HIV-1 groups M and N¹; and that chimpanzees transmitted HIV-1 group O-like viruses either to gorillas and humans independently, or to gorillas that then transmitted the virus to humans.

Gorillas are classified into two species, the

Copyright

forest regions in Cameroon for HIV-1 cross-reactive antibodies (for map, see supplementary information). Consistent with previous findings¹, 40 of 323 specimens from *P. t. troglodytes*, but none of 55 samples from *P. t. vellerosus*, contained antibodies reactive against HIV-1 (for details, see supplementary information).

Surprisingly, 6 of 213 fecal samples from wild-living gorillas also gave a positive HIV-1 signal. All six contained antibodies that bound the HIV-1 envelope glycoprotein (gp41) in a recombinant-based immunoassay (see supplementary information), as well as the HIV-1 Env

lineage 'SIVgor'.

The finding of distinct but related SIVgor strains in gorillas living nearly 400 km apart suggests that, as in chimpanzees, SIV infection is endemic in gorillas. An alternative explanation could be that gorillas acquire SIV sporadically from chimpanzees, but this seems unlikely as no chimpanzee community surveyed so far, including several from habitats that overlap with those of the SIVgor-positive gorillas, harbour group O-like viruses (see supplementary information). The phylogenetic relationships shown in Fig. 1b argue that chimpanzees were the original reservoir of SIVs now found in

O zoonosis and could pose an ongoing risk to humans.

Fran Van Heuverswyn*, Yingying Li†, Cecile Neel*‡, Elizabeth Bailes§, Brandon F. Keele†, Weimin Liu†, Severin Louf‡, Christelle Butel*, Florian Liegeois*, Yanga Bienvenue‡, Eitel Mpoudi Ngole‡, Paul M. Sharp§, George M. Shaw||, Eric Delaporte*, Beatrice H. Hahn†, Martine Peeters*

*UMR145, Institut de Recherche pour le Développement and Department of International Health, University of Montpellier 1, 34394 Montpellier Cedex 5, France

e-mail: martine.peeters@imlird.fr

†Departments of Medicine and Microbiology, University of Alabama at Birmingham, Alabama 35294, USA

‡Projet Prévention du Sida au Cameroun (PRESICA), BP 1874 Yaoundé, Cameroon

§Institute of Genetics, University of Nottingham, Nottingham NG7 2UH, UK

||Howard Hughes Medical Institute, Birmingham, Alabama 35294, USA

#Department of Tropical and Infectious Diseases, University Hospital of Montpellier, 34295 Montpellier, France

1. Keele, B. F. et al. *Science* **313**, 523–526 (2006).
2. Sharp, P. M., Shaw, G. M. & Hahn, B. H. *J. Virol.* **79**, 3891–3902 (2005).
3. Bibile-Ruiche, F. et al. *J. Virol.* **78**, 7748–7762 (2004).
4. Butel, C. et al. In *Great Apes and Humans: The Ethics of Coexistence* (eds Back, B. B. et al.) 3–56 (Smithsonian Institution, Washington D.C. and London, 2001).
5. Stanford, C. B. & Nkurunzira, J. B. *Int. J. Primatol.* **24**, 901–918 (2003).
6. Usanga, L. & Nkomo, R. *Gorilla J.* **22**, 29–31 (2001).
7. Matthews, A. & Matthews, A. *Primates* **45**, 15–24 (2004).
8. Meder, A. *Gorilla J.* **18**, 11–15 (1999).

Supplementary information accompanies this communication on Nature's website. Received 31 August; accepted 24 October 2006. Competing financial interests declared none.

doi:10.1038/444164a

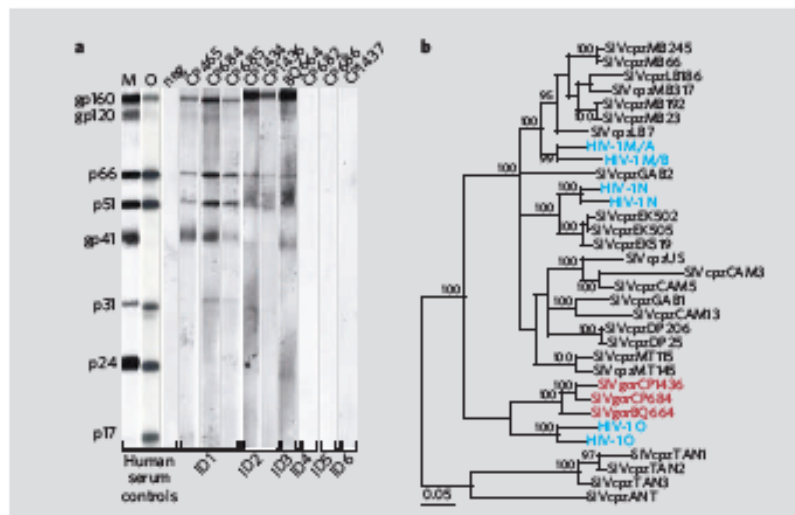


Figure 1 | Detection of SIVgor in wild gorillas. a, Detection of HIV-1 cross-reactive antibodies in gorilla fecal samples by western-blot analysis. Samples are numbered, with their collection site indicated (for details, see supplementary information); samples from the same individual (ID) are grouped. The relative molecular masses of HIV-1 glycoproteins (gp) and proteins (p) are indicated as a suffix (in thousands). Sera from infected (M and O) and uninfected (neg) humans are shown as controls. b, Evolutionary relationships of SIVgor (red), the three groups of HIV-1 (blue), and SIVcpz. Partial Pol sequences were analysed by the bayesian method; posterior probability values above 95% are shown.



Genetic diversity and phylogeographic clustering of SIVcpzPtt in wild chimpanzees in Cameroon

Fran Van Heuverswyn^a, Yingying Li^b, Elizabeth Bailes^c, Cecile Neel^{a,d}, Benedicte Lafay^e, Brandon F. Keele^b, Katharina S. Shaw^b, Jun Takehisa^b, Matthias H. Kraus^b, Severin Loul^d, Christelle Butel^a, Florian Liegeois^a, Bienvenue Yangda^d, Paul M. Sharp^c, Eitel Mpoudi-Ngole^d, Eric Delaporte^{a,f}, Beatrice H. Hahn^b, Martine Peeters^{a,*}

^a UMR145, Institut de Recherche pour le Développement (IRD) and Department of International Health, University of Montpellier 1, 911, Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

^b Departments of Medicine and Microbiology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL 35294, USA

^c Institute of Genetics, University of Nottingham, Nottingham, NN7 2UH, UK

^d Projet Prévention du Sida au Cameroun (PRESICA), Yaoundé, Cameroun

^e UMR CNRS-IRD 2724 (Génétique et Evolution des Maladies Infectieuses), Montpellier, France

^f Department of Tropical and Infectious Diseases, University Hospital of Montpellier (CHU), Montpellier, France

Received 7 May 2007; returned to author for revision 7 June 2007; accepted 13 June 2007

Available online 24 July 2007

Abstract

It is now well established that the clade of simian immunodeficiency viruses (SIVs) infecting west central African chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*) and western gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) comprises the progenitors of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). In this study, we have greatly expanded our previous molecular epidemiological survey of SIVcpz in wild chimpanzees in Cameroon. The new results confirm a wide but uneven distribution of SIVcpzPtt in *P. t. troglodytes* throughout southern Cameroon and indicate the absence of SIVcpz infection in *Pan troglodytes vellerosus*. Analyzing 725 fecal samples from 15 field sites, we obtained partial nucleotide sequences from 16 new SIVcpzPtt strains and determined full-length sequences for two of these. Phylogenetic analyses of these new viruses confirmed the previously reported phylogeographic clustering of SIVcpzPtt lineages, with viruses related to the ancestors of HIV-1 groups M and N circulating exclusively in southeastern and south central *P. t. troglodytes* communities, respectively. Importantly, the SIVcpzPtt strains from the southeastern corner of Cameroon represent a relatively isolated clade indicating a defined geographic origin of the chimpanzee precursor of HIV-1 group M. Since contacts between humans and apes continue, the possibility of ongoing transmissions of SIV from chimpanzees (or gorillas) to humans has to be considered. In this context, our finding of distinct SIVcpzPtt envelope V3 sequence clades suggests that these peptides may be useful for the serological differentiation of SIVcpzPtt and HIV-1 infections, and thus the diagnosis of new cross-species transmissions if they occurred.

© 2007 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: HIV; SIVcpz; Evolution; Prevalence; Genetic diversity; Cross-species transmission

Introduction

Numerous African primates are infected with simian immunodeficiency viruses (SIVs), and it is now well established that SIVs infecting chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*) and western gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) in west central

Africa are the progenitors of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) (Bibollet-Ruche et al., 2004a; Gao et al., 1999; Keele et al., 2006; Van de Woude and Apetrei, 2006; Van Heuverswyn et al., 2006). The three groups of HIV-1 (groups M, N and O) are the result of three independent cross-species transmission events (Hahn et al., 2000; Sharp et al., 2005). Whereas infections with groups N and O remain mainly confined to Cameroon and surrounding countries, HIV-1 group M has spread worldwide and infected more than 60 million

* Corresponding author. Fax: +33 0467416146.

E-mail address: martine.peeters@ird.fr (M. Peeters).

CHAPITRE 2

TRAVAIL DE THESE : Contexte et Objectifs

CHAP 2 : CONTEXTE et OBJECTIFS

1- CONTEXTE

Cette thèse s'inscrit dans un cadre pluridisciplinaire, alliant la primatologie, la virologie et la génétique. Elle est le résultat de collaborations entre différents projets, mais aussi entre différentes personnes au sein du même projet. C'est en tant qu'ingénieur en primatologie que j'ai rejoint le projet sur le SIV en 2005 au Cameroun, pour ensuite commencer ce travail scientifique en 2007. J'ai donc passé la plus grande partie de mon temps sur le terrain pour collecter les échantillons. J'ai également passé au total une dizaine de mois à Montpellier, pour apprendre dans un premier temps tous les protocoles de laboratoires nécessaires aux analyses des échantillons. Puis, j'ai effectué de nombreuses analyses sérologiques par la technique InnoLia et mis en place ce protocole dans le laboratoire de virologie au Cameroun. Toute la sérologie utilisant la technique des Western Blots a été faite dans le laboratoire de B. Hahn, à l'Université d'Alabama, USA. L'aspect virologique de cette thèse se recoupe avec celle de Lucie Etienne, qui a isolé et caractérisé la plupart des virus utilisés dans ce travail. Cependant, j'ai également participé à ce volet, de l'extraction d'ARN au séquençage et à la caractérisation de SIV. Les premiers essais d'analyse de microsatellites dans notre laboratoire ont été faits par Florian Liégeois puis Lucie Etienne et moi avons amélioré la technique. J'ai ensuite procédé à la majorité des analyses génétiques de l'ADN des hôtes (de l'extraction d'ADN à l'identification des individus). J'ai enfin analysé les résultats obtenus (primatologie, sérologie, virologie et génétique) et rédigé ce travail.

Des techniciennes, Amandine Esteban et Christelle Butel, ont également effectué de nombreuses manipulations.

Au Cameroun, le projet PRESICA (Prévention Sida Cameroun) a été mis en place en 1996. C'était au départ un projet collaboratif entre l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement), et plus précisément l'UMR 145 (Unité Mixte de Recherche) à Montpellier et l'hôpital militaire de Yaoundé au Cameroun. Les collaborations se sont étendues, notamment avec les ministères de la Recherche, de la Santé, de la Forêt et de la Faune, des Aires Protégées, de la Défense, et ont évolué. Aujourd'hui, ce projet est placé sous la tutelle du Ministère de la Recherche et de l'Innovation, un laboratoire de virologie a été créé au département de l'IMPM (Institut de recherche Médicale et d'étude des Plantes Médicinales)

et un site de coordination de l'ANRS (Agence Nationale de Recherches sur le Sida) est maintenant en place à l'Hôpital Central de Yaoundé.

Deux composantes principales font l'objet de recherche au sein du projet. Pendant les deux premières années de son existence, PRESICA a commencé par mettre en place le premier centre de dépistage du VIH et de prise en charge des personnes infectées. L'existence de ce centre a ensuite permis d'étudier la diversité génétique des différentes souches de VIH circulant au Cameroun et ses conséquences pour les patients. Par la suite, plusieurs projets se sont mis en place, notamment l'étude de l'efficacité d'une prise en charge thérapeutique anti-rétrovirale du VIH /SIDA dans le contexte camerounais, l'étude de l'efficacité virologique et immunologique d'un traitement anti-rétroviral générique, l'étude des résistances aux anti-rétroviraux au Cameroun et dans la sous-région.

En parallèle à ces projets de recherches cliniques et de santé publique, des activités de recherche portant sur les virus simiens, SIV, apparentés aux VIH ont été développées depuis 1998. Les premières recherches portaient sur les SIV des petits primates et des études sur la viande de brousse. Par la suite, en 2004, lorsque les méthodes non invasives sur l'identification des infections SIV dans les fèces ont été validées, les études se sont orientées sur les SIV chez les grands singes en milieu naturel.

Dans le cadre de ce projet, la recherche sur l'origine du VIH-1 connaît une grande avancée avec, en 2006, la découverte des précurseurs du VIH-1 groupe M et N puis du SIV chez les gorilles. Cependant, avec seulement six échantillons positifs correspondant à trois individus différents, de nombreuses questions restent en suspens. La prévalence de ce virus chez les gorilles est encore inconnue et il n'a pas été déterminé si le SIVgor est endémique à l'espèce ou s'il est le résultat de transmissions sporadiques de chimpanzés à quelques gorilles. Les transmissions inter-espèces de toute cette famille de virus reste également indéterminées. Il ne peut pas être exclu que le réservoir du groupe O se trouve chez des chimpanzés, ou qu'il ait disparu. Peut-être existe-t-il également des chimpanzés porteurs et réservoirs du SIVgor ou encore des gorilles porteurs de SIV différents. Enfin, la récente découverte du VIH-1 groupe P, plus proche des SIVgor que le groupe O, pose également la question de l'évolution des virus chez les gorilles.

Cette thèse se focalise donc sur l'étude de la prévalence et de la transmission de l'infection SIV chez les gorilles sauvages dans différents sites au Cameroun et dans quelques sites des pays frontaliers où se trouve cette sous-espèce de gorille, *Gorilla gorilla gorilla*. Quelques échantillons provenant de sous-espèces différentes ont également été testés.

De manière générale un échantillonnage a été mis en place afin de couvrir une grande partie de l'aire de répartition des *Gorilla gorilla gorilla*, plus particulièrement au Cameroun. En parallèle, des échantillons fécaux de chimpanzés ont également été collectés afin d'étudier les relations entre les virus trouvés chez ces deux sous-espèces.

De plus, une attention particulière a été portée au site du Parc National de Campo Ma'an, dans lequel deux gorilles femelles infectées ont été découvertes, puisque ce site semblait être le plus adapté pour étudier une éventuelle transmission du SIV chez les gorilles. En effet, si le SIVgor se transmet d'un individu à l'autre, la structure sociale des gorilles ainsi que les modes de transmission des virus SIV, font raisonnablement penser qu'un plus grand nombre d'individus positifs devraient être découverts dans cette zone.

L'étude de cette zone permettra donc d'infirmer ou de confirmer l'hypothèse selon laquelle les gorilles pourraient être sporadiquement infectés par des chimpanzés sans que cette infection ne se transmette par la suite au sein de la sous-espèce. Si le virus est découvert chez différents individus, les modalités de transmission du SIVgor entre les gorilles d'une même zone pourraient être étudiées.

2 - OBJECTIFS

Ce travail est organisé en deux parties. Dans un premier temps, la prévalence globale et la distribution géographique de l'infection SIVgor ont été investiguées, principalement au Cameroun, mais également dans des sites frontaliers et chez une autre sous-espèce vivant à l'est de l'Afrique. La deuxième partie de cette étude se focalise sur les sites dans lesquels le plus grand nombre d'individus infectés a été découvert afin de déterminer la relation entre la structure sociale des hôtes et les virus SIVgor à l'échelle de deux sites de collecte, puis à l'échelle des groupes sociaux de gorilles.

1 : Définir la prévalence globale de l'infection SIV chez les gorilles sauvages

Si la prévalence de l'infection chez les chimpanzés a été étudiée dans différents sites, celle des gorilles reste encore inconnue puisqu'à ce jour seulement trois gorilles différents ont été diagnostiqués SIV positifs.

Dans cette partie, je m'intéresse à la prévalence, la distribution et la phylogénie des virus SIVgor à l'**échelle globale**, afin de répondre à trois interrogations principales :

- (i) L'étude de la **prévalence et de la distribution** de l'infection SIVgor chez son hôte en milieu naturel va permettre de savoir dans quelle mesure cette infection

est endémique à la sous-espèce *Gorilla gorilla gorilla* ou si les trois infections découvertes jusqu'à aujourd'hui sont le résultat de transmissions sporadiques du chimpanzé à quelques gorilles. La prévalence en milieu naturel est un facteur important de l'émergence d'une zoonose. Si le SIVgor est endémique à cette sous-espèce, ces résultats permettront d'évaluer ce facteur de risque face à une nouvelle transmission inter-espèces du gorille à l'Homme. Dans cette optique, une comparaison de prévalence entre les infections SIVgor et SIVcpz sera effectuée.

- (ii) L'étude de la **diversité génétique** des SIVgor découverts permettra, d'une part, d'étudier la phylogéographie de ces virus s'ils sont présents dans des sites distincts, et de vérifier si des virus divergents existent au sein de cette sous-espèce. Cette étude est d'autant plus importante que le réservoir du VIH-1 groupe O n'a pas encore été découvert et que l'identification du VIH-1 groupe P, proche des SIVgor, démontre que d'autres virus circulant chez les grands singes sont susceptibles de toucher l'Homme.
- (iii) La **comparaison phylogénétique entre les SIVgor et SIVcpz**, particulièrement dans les sites où l'infection est présente chez les deux espèces, pourrait donner des informations sur la transmission inter-espèces entre les chimpanzés et les gorilles. En effet, nous ne savons pas aujourd'hui si l'ancêtre des SIVgor existe toujours chez les chimpanzés ou si ceux-ci sont porteurs d'un virus proche du SIVgor.

2 : Etudier la relation entre la structure sociale de l'hôte et la transmission du virus SIVgor

Chez les chimpanzés, la prévalence de l'infection varie énormément entre différents sites de prospection, de 0 à 35%. Concernant les gorilles, l'étude de prévalence globale va nous permettre de définir les endroits où les infections SIVgor sont les plus nombreuses, afin de les étudier plus en détails. Ce changement d'échelle au niveau d'un site nous permettra d'établir des relations entre la structure sociale de l'hôte et la transmission du virus.

2.1 La prévalence du SIVgor dans différents groupes sociaux de gorilles

Le **changement d'échelle** pour l'étude de la prévalence chez les gorilles sauvages a pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- (i) Comparer les **prévalences du SIVgor dans différents groupes sociaux** de gorilles en milieu naturel : est-ce que tous les groupes de gorilles vivant dans un même site et dont les domaines vitaux se chevauchent sont touchés de la même manière par le SIVgor ? Quelles sont les estimations de prévalence à l'intérieur d'un groupe de gorilles ?
- (ii) Etudier les **relations phylogénétiques** des SIVgor dont les hôtes appartiennent au même groupe social afin d'identifier les liens épidémiologiques pouvant exister entre eux.

2.2 La transmission du SIVgor dans différents groupes sociaux de gorilles

Dans la première partie de ce chapitre, je décris la prévalence et les liens épidémiologiques des SIVgor dans différents groupes sociaux de gorilles infectés. Cette partie est plus particulièrement orientée sur la transmission de ce virus entre les gorilles d'un même groupe et d'un même site. Il s'agira de voir dans quelle mesure il est possible d'étudier de façon indirecte les transmissions chez des grands singes en milieu naturel, la relation entre ces transmissions et la structure sociale des hôtes, et de définir les limites d'une telle étude. Ces résultats pourront aider à la compréhension de la relation entre la dynamique de l'infection et la socio-écologie des espèces et participer à l'identification des facteurs comportementaux favorisant la transmission des virus. Elle permettra de préciser la faisabilité du suivi d'une population de gorilles infectés en milieu naturel.

- (i) Les **cas de séroconversion** seront répertoriés par une étude de suivi, correspondant à différentes prospections dans le même site, chaque année.

- (ii) Les différents **modes possibles de transmission** du SIVgor seront étudiés en fonction des relations entre les gorilles identifiés. Pour la transmission sexuelle, Il s'agira de comparer le nombre de femelles et de mâles infectés par rapport aux individus collectés. La transmission verticale sera également envisagée en vérifiant les possibilités de filiations entre les individus infectés.
- (iii) Des **transmissions entre les différents groupes sociaux** pourront éventuellement être identifiées.

CHAPITRE 3

Prévalence et Distribution du SIV chez les gorilles en milieu naturel

Comparaison avec les chimpanzés

CHAP 3 : PREVALENCE ET DISTRIBUTION DU SIV CHEZ LES GORILLES EN MILIEU NATUREL.

COMPARAISON AVEC LES CHIMPANZES

1- INTRODUCTION

Les gorilles et les chimpanzés sont porteurs de SIV de la famille des VIH-1. Précédemment, les précurseurs des VIH-1 groupes M et N ont été identifiés dans deux communautés distinctes de chimpanzés sauvages au Cameroun. Concernant le groupe O, des virus proches ont été retrouvés chez trois gorilles, mais ces SIVgor ne correspondent pas à son précurseur direct. Le réservoir du VIH-1 groupe O n'a donc pas encore été découvert. Quant au groupe P récemment identifié, le précurseur n'a pas encore été identifié chez son hôte naturel, même s'il se rapproche plus encore que le groupe O du SIVgor.

La notion de réservoir implique que l'hôte soit capable de survivre suffisamment longtemps à l'infection pour pouvoir transmettre le virus à d'autres individus de son espèce, lui assurant ainsi une pérennité et servant de source pour une éventuelle transmission inter-espèces. La prévalence d'une infection chez une espèce est un facteur majeur pour estimer le potentiel d'une nouvelle maladie émergente liée à une transmission de ce virus à l'homme. Bien que le SIVgor ne soit pas le précurseur direct des VIH-1 groupes O et P, l'identification de nouveaux virus chez les gorilles pourrait aider à préciser la relation entre les virus de cette lignée. Enfin, la spécificité géographique d'une émergence, comme cela a été le cas pour le VIH-2 en Afrique de l'Ouest ou du VIH-1 groupe N au Cameroun, donne des informations sur la localisation du réservoir. Dans le cas du VIH-1 groupe O, les infections humaines recensées sont situées au Cameroun pour la majorité, en Guinée Equatoriale ou encore au Gabon. Ces pays se superposent avec l'aire de répartition des espèces sympatriques *Pan troglodytes troglodytes* et *Gorilla gorilla gorilla*, pointant clairement le réservoir du virus comme l'une de ces deux espèces.

Ce chapitre s'oriente donc sur l'étude de la prévalence, de la distribution géographique et de la diversité génétique des SIVgor, à l'échelle du Cameroun, principalement, mais également dans quelques sites supplémentaires situés hors de ce pays.

2 - MATERIEL ET METHODES

Les méthodes utilisées ont été globalement les mêmes pour les études sur la prévalence, la distribution et la diversité génétique du SIVgor à l'échelle globale, que pour l'étude sur la transmission de ce virus à l'échelle d'un site. Cependant, certaines analyses supplémentaires, spécifiques à la relation entre le système social de l'hôte et la transmission de l'infection, seront décrites dans le prochain chapitre.

2.1 Le terrain

2.1.1 Méthodologie de terrain

Dans le cadre de cette étude, nous avons travaillé sur des grands singes non habitués à l'homme et dans de nombreuses zones différentes. Généralement, la collecte d'échantillons se fait, soit dans les zones d'habitation de gorilles ou de chimpanzés, soit dans le cadre d'un autre projet de recherche ou d'inventaire, la dernière solution étant de collecter dans des sanctuaires ou des zoos. Ces méthodes ont pour limite principale que seules les zones où un projet existe déjà sont exploitées et elles ne sont peut-être pas représentatives de la situation dans son ensemble.

Pour ces recherches sur les SIV chez les gorilles et les chimpanzés, la caractéristique principale a été de former une équipe pouvant se déplacer et aller directement dans les endroits intéressants, avec une expertise suffisante pour être capable de suivre des grands singes en forêt équatoriale sur divers terrains. Ceci a pour avantage de pouvoir explorer des zones où aucun projet n'existe, mais reste assez compliqué au niveau logistique et coûteux.

2.1.1.1 Logistique

Les missions sont organisées à raison d'environ huit à dix jours effectifs de forêt par mois. Elles prennent place dans des Parc Naturels, mais aussi dans des UFA (Unité Forestières d'Aménagement), des forêts communautaires ou communales ou d'autres forêts n'ayant pas encore de statut spécifique. L'équipe est organisée en trois à quatre chefs d'équipe, Innocent Ndong Bass, Joseph Moudindo, Aimé Mebenga et moi-même, chargés de la collecte des échantillons et des données, des assistants de l'est du Cameroun ayant participé pendant de nombreuses années à un projet d'habitation des gorilles et donc ayant une très grande expertise dans le suivi des traces de grands singes en forêt, et enfin de personnes recrutées au point d'entrée en forêt, qui sont censées connaître ce terrain et les endroits où les grands singes se trouvent de manière régulière.

Les lieux de collecte sont étudiés en amont. La densité des grands singes est prise en compte lorsqu'elle est connue, en étudiant principalement les rapports d'inventaires fauniques pour les aires protégées ou les plans d'aménagement forestiers pour les UFA. Les résultats précédents sont également pris en compte, c'est-à-dire la présence du virus SIV dans un site déjà prospecté. Nous essayons d'échantillonner le plus grand nombre de populations différentes et prenons donc en compte la distance entre les sites et la présence de rivières, barrières naturelles infranchissables pour les grands singes.

La logistique de préparation d'une mission est assez lourde, puisque nous campons en forêt et devons être autonomes pendant toute la durée de la mission (nourriture, matériel).

L'accès aux sites n'est cependant pas toujours aussi simple que prévu et il nous arrive régulièrement de devoir ajuster la mission en cours en fonction des difficultés rencontrées (pont cassé, route impraticable, pluies intensives, bac permettant de traverser une rivière hors d'usage, etc...).



Figure 19 : Un pont cassé sur la route d'une mission (Photo : I. Ndong Bass)

Dans le contexte Camerounais, l'entrée et le travail dans une forêt nécessitent des autorisations administratives. Le ministère de la recherche et le ministère de la faune délivrent au niveau national ces autorisations dans le cadre d'un projet. Ce projet doit être collaboratif, scientifiquement évalué, sans impact pour la biodiversité et avoir reçu l'aval du Comité National d'Éthique.

Au niveau local, et en fonction du statut de la forêt à explorer, des autorisations peuvent également être nécessaires. Il s'agit, par exemple, de l'autorisation du Conservateur dans le cas d'une réserve, de l'exploitant dans le cas d'une UFA ou encore du maire dans le cas d'une forêt communale. De plus, l'acceptation par les populations locales est un élément majeur. De manière systématique, des réunions sont mises en place pour permettre d'expliquer notre recherche, de nous entendre sur le recrutement des personnes

compétentes, leur rémunération, l'organisation du travail et la décision du lieu de campement.

2.1.1.2 Le suivi des traces de grands singes non habitués

L'idée étant de collecter sur une surface importante le maximum d'échantillons provenant de plusieurs groupes de grands singes, nous formons des équipes de trois personnes qui prospectent dans des directions différentes à partir du campement. Chaque équipe part dans une direction différente, avec un GPS allumé toute la journée pour pouvoir d'une part s'orienter, rentrer au campement, noter les points de collectes ou autres informations intéressantes, mais aussi vérifier la surface de prospection et comparer cette zone avec celle des autres équipes pour éviter de collecter dans la même zone.

Le suivi des traces de grands singes non habitués requiert une grande attention et une connaissance de certains indices permettant de localiser les lieux de passage des groupes, de faire la différence entre des traces de chimpanzés et de gorilles et de pouvoir dater approximativement ce passage. En effet, il est généralement inutile de suivre des traces datant de plus de trois jours puisque, pour les analyses de laboratoire, les échantillons fécaux doivent être relativement frais (maximum 48h) lors de la collecte.

La recherche d'indices se fait dans un premier temps en observant plus particulièrement les zones connues pour attirer les grands singes, c'est-à-dire les marécages et autres sous-bois luxuriants pour les gorilles et les forêts primaires pour les chimpanzés.

➤ Recherche d'indices

- Les traces de passages

Elles sont généralement difficiles à identifier comme étant celles de grands singes puisqu'il s'agit de trouées empruntées par de nombreux animaux, qui laissent les herbes pliées et orientées dans la direction du passage. Une inspection plus précise permet parfois d'estimer la taille, le poids, et le mode de déplacement de l'animal, comme par exemple, la hauteur des herbes pliées, les traces de terre sur les arbres le long de la trouée etc....Cependant, la recherche d'indices supplémentaires, décrits ci-après, est nécessaire sur ces traces qui sont difficiles à dater.

- Les empreintes

Elles apportent de nombreuses informations. Elles peuvent être des empreintes de mains ou de pieds, les grands singes se déplaçant en s'appuyant sur les deuxièmes phalanges des doigts. Si le sol est meuble, la taille et le poids de l'animal peuvent être estimés. Le nombre d'empreintes différentes présentes sur un même lieu renseigne sur la taille du groupe. Il est généralement possible d'estimer le moment approximatif de passage de ou des individus en observant minutieusement l'empreinte. Si l'empreinte est fraîche, elle ne sera pas altérée (brindilles, insectes, nouvelles empreintes etc...). Les gorilles et les chimpanzés laissent le même type d'empreintes. Leurs pieds, avec pouce opposable, sont souvent difficiles à différencier, sauf dans le cas d'un gorille mâle adulte dont l'empreinte est la plus grosse. L'identification de l'espèce peut se faire sur les empreintes de mains car généralement, les chimpanzés s'appuient sur trois de leurs doigts, alors que les gorilles les utilisent tous, sauf le pouce (figure 20).

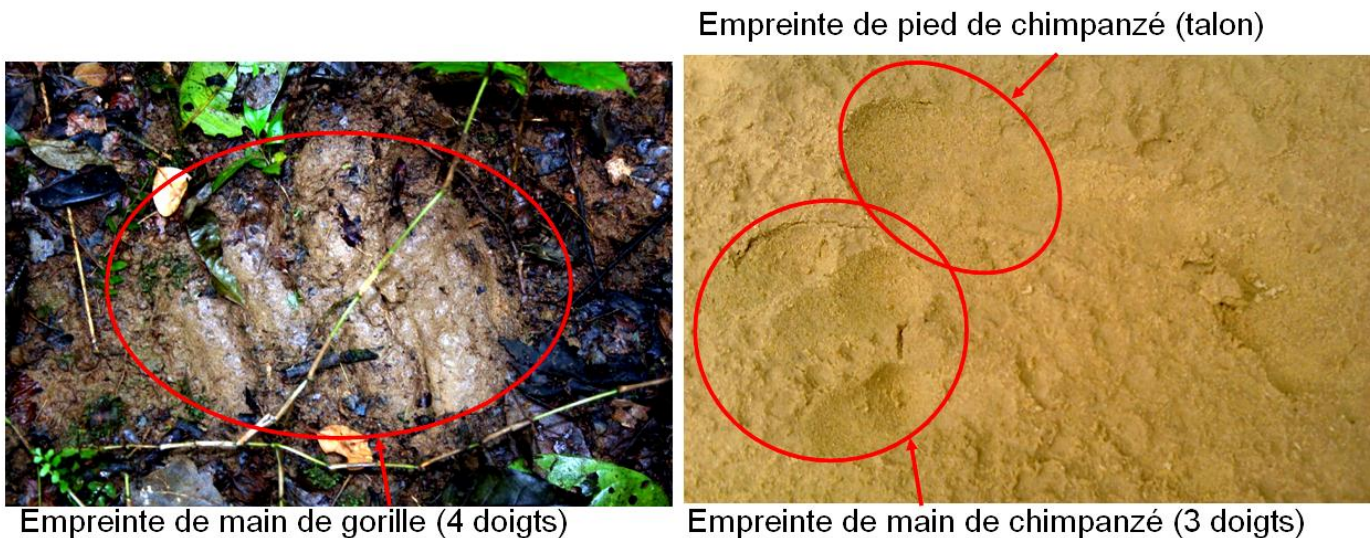


Figure 20 : Illustration de la différence entre une empreinte de main de gorille (à gauche) et de main de chimpanzé (à droite). Le premier se déplace en s'appuyant sur tous les doigts sauf le pouce, alors que le second s'appuie généralement sur trois doigts. (Photos : C. Néel)

- Les vocalisations

Les vocalisations permettent de s'orienter vers un groupe et elles ne concernent que les chimpanzés. Ils émettent des cris qui peuvent porter très loin (plusieurs centaines de mètres), soit pour signaler leur position aux individus éloignés du groupe, soit dans le cadre d'interactions sociales.

Les gorilles sont beaucoup plus discrets et lorsqu'on les entend, ils se trouvent généralement à quelques mètres.

- Les sites d'alimentation

Les traces d'alimentation sont diverses et la plupart des aliments trouvés sont mangés par les deux espèces, il s'agit de fruits, d'herbacées, d'insectes, d'écorce. Lorsque l'on trouve un arbre fruitier en production, de nombreuses espèces sont généralement passées. Il s'agit alors de faire la différence entre les grands singes et les autres (petits singes, éléphants...). Quand les fruits sont charnus, les empreintes dentaires sont bien visibles et il est alors aisé de reconnaître un grand singe. On trouve aussi des tas de fruits sur le sol, formés par chaque individu puisqu'ils ont tendance à rassembler la nourriture autour d'eux avant de manger. Les marantacées ou les zingibéracées sont mangées par les deux espèces, mais seul le centre des tiges est consommé. Les écorces sont plutôt des traces d'alimentation de gorilles. Quant aux insectes, on peut aisément différencier les deux espèces car les chimpanzés utilisent des outils pour pêcher les termites, ou pour manger du miel ce qui n'est pas le cas pour les gorilles. La fraîcheur des traces d'alimentation est assez facilement identifiable (présence d'insectes pour les fruits, degrés de décomposition etc...) et permet généralement de savoir si cette nourriture a été consommée cette même journée ou la veille.

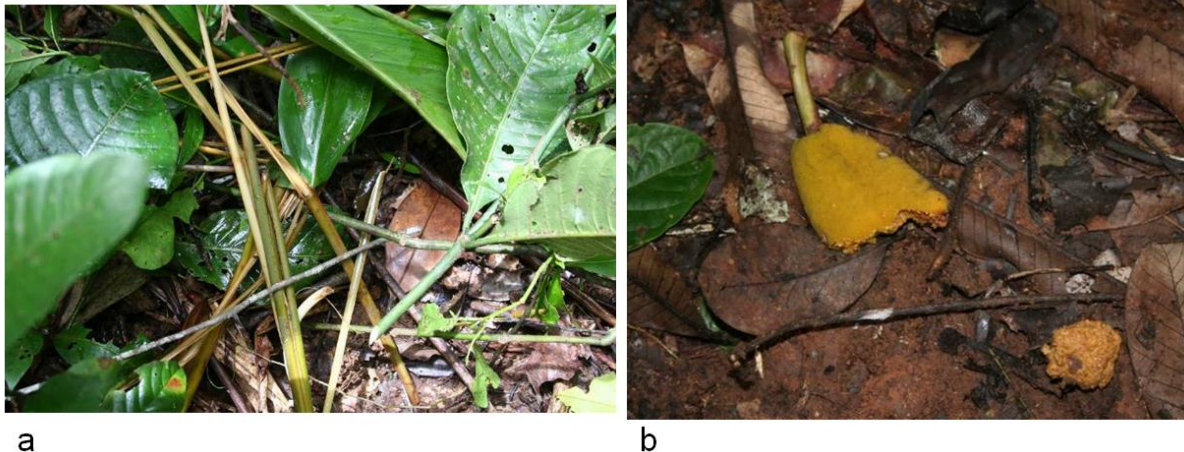


Figure 21 : Tiges de marantacées consommées par des gorilles (a) et fruit de parasolier consommé par de chimpanzés (b). Les graines du fruits ne sont pas ingérées mais recrachées (à droite de la photo b). (Photos: C. Néel)

- L'odeur

L'odeur des gorilles est aisée à reconnaître et est un indice intéressant. Cette odeur est présente pendant quelque temps (quelques heures) sur un lieu où ces grands singes se trouvaient. Cet indice permet d'explorer les alentours à la recherche d'échantillons et/ou de traces sur lesquelles nous ne serions pas arrivés.

- les sites de repos

Les gorilles comme les chimpanzés se déplacent pour chercher leur nourriture mais se reposent aussi régulièrement dans la journée. Ces sites de repos sont identifiables car les traces sont nombreuses. Certains individus, gorilles comme chimpanzés, forment des nids temporaires (appelés nids de jour) sur le sol et les traces de corps sont souvent remarquables. Les chimpanzés étant beaucoup plus arboricoles que les gorilles, dans les endroits où les jeunes jouent, on remarque de nombreuses branches cassées sur une certaine hauteur et tombées au sol.

- les sites de nids : attribution des nids à chaque espèce

Chaque individu fait son propre nid, chaque nuit, à l'exception des enfants non sevrés qui dorment avec leur mère. Un groupe de gorille dort ensemble dans le même site de nids. Comme décrit précédemment, les gorilles nichent de préférence au sol, et comme le groupe passe la nuit ensemble, compter ces nids dans un site donne une estimation assez précise du nombre d'individus appartenant au groupe. Le nombre de chimpanzés dormant ensemble dépend de la taille du sous-groupe au coucher du soleil. Les sites des 2 espèces sont assez facilement identifiables, d'autant plus que tous les indices alentour sont utilisés. Les chimpanzés nichent de préférence dans des forêts primaires, souvent au bord d'une rivière alors que les gorilles ont besoin de matériel végétal différent (marantacées ou zingibéracées principalement) qui se trouve dans les marécages ou les forêts au sous-sol dense. Les nids de chimpanzés sont situés dans les arbres, à une hauteur importante (jusqu'à plus de vingt mètres) alors que les gorilles nichent généralement au sol. Il arrive cependant, notamment dans les zones où l'on trouve également de nombreux éléphants, que les gorilles fabriquent leurs nids en hauteur, mais dans ce cas, ils sont très rarement situés à plus de dix mètres [131].

En prenant en compte le type de végétation utilisé, la localisation des nids dans la forêt, leur hauteur et les indices alentour (empreintes, alimentation...), nous sommes généralement capable de définir à quelle espèce appartient le groupe de nids.

➤ Suivre ou ne pas suivre ?

La décision de suivre ou de ne pas suivre des traces dépend de plusieurs facteurs, il faut évaluer les chances de pouvoir trouver des échantillons car suivre un groupe peut facilement prendre la journée ou plus. La fraîcheur des indices est le premier facteur à prendre en compte. Si les traces sont plus anciennes que la veille, les chances de trouver des

échantillons non dégradés (moins de 48h) sont faibles. Le nombre d'individus appartenant au groupe a également son importance. Suivre les traces d'un individu solitaire ou d'un couple n'est généralement pas une option intéressante, puisque l'on ne pourra collecter qu'un ou deux échantillons.

Lorsque c'est possible, le mieux est de suivre les traces fraîches d'un groupe. Si les traces sont du matin, il faut les remonter au lieu de suivre le groupe car les plus grandes chances de trouver des échantillons sont sur le lieu de nidification. De plus, l'idée étant de collecter différents groupes pour échantillonner le plus d'individus possible, il n'est pas nécessaire de suivre le même groupe plusieurs fois pendant la même mission, c'est-à-dire que lorsque l'échantillonnage a eu lieu, on arrête le suivi de ce groupe. Evidemment, il n'est pas toujours certain que le groupe collecté ne soit pas le même à plusieurs jours d'intervalle ou encore qu'il ne soit pas un groupe déjà collecté par une autre équipe.

Il est clairement plus difficile de suivre un groupe de chimpanzés qu'un groupe de gorilles car on peut facilement perdre la trace des chimpanzés lorsqu'ils montent dans les arbres.

Régulièrement, cependant, la décision de suivre un groupe se solde par un échec (perte des traces, pas d'échantillons ou des échantillons dégradés etc...)

2.1.1.3 Les données collectées

Les échantillons fécaux sont la plupart du temps collectés dans un site de nids ou un site d'alimentation, c'est-à-dire un endroit où les groupes se sont arrêtés pendant un certain temps. La qualité est optimale lorsqu'ils ont été déposés au plus 24 heures auparavant. Cependant, des échantillons un peu plus vieux (au maximum de 48h) peuvent être collectés s'ils semblent bien conservés (à l'abri du soleil, de la pluie, des insectes). On peut également trouver des échantillons en suivant les traces.

Chaque échantillon est collecté séparément, avec une paire de gant jetable, dans un tube de 50ml rempli de 20ml de RNA later auquel on ajoute environ 20ml d'échantillon. Chaque tube porte un numéro unique, composé de l'espèce et d'un nombre, du lieu de collecte et de la date. Le point GPS est également relevé, la fraîcheur est estimée, et le nom de l'équipe est noté. Sur un site de nids, le nombre d'individus présents dans le groupe est évalué en comptant tous les nids ayant été construits le même jour, et éloignés au maximum de 20m l'un de l'autre. Le moment approximatif de construction des nids est également déterminé en fonction de la classification en catégories de Tutin et Fernandez [149]. Nous avons défini au départ, six classes d'âge :

Catégorie 1: Frais, odeur d'urine et fèces encore présente, nid de la veille

Catégorie 2: Encore vert, mais sans odeur.

Catégorie 3: Végétation fraîche et sèche.

Catégorie 4: Végétation complètement sèche

Catégorie 5: Nid décomposé et végétation morte.

Catégorie 6: Très vieux nid décomposé.

Seuls les nids de catégorie 1 ont été pris en compte de manière systématique puisque les fèces présentes ont alors moins de 24h. Les sites de nids de catégorie 2 sont vérifiés afin d'estimer le degré de dégradation des échantillons, et en fonction de cette estimation, la collecte est effectuée ou pas. Tous les nids de catégorie supérieure ne sont pas pris en compte dans cette étude. Ces informations peuvent aider à la différenciation des groupes entre eux, comme par exemple, lorsque deux équipes différentes collectent sur deux sites de nids de la veille, le même jour et à des endroits différents. Dans ce cas, les deux groupes de nids appartiennent à deux groupes de gorilles distincts.

D'autres remarques peuvent être ajoutées sur la fiche de collecte, comme par exemple le fait que l'espèce n'a pas été clairement identifiée sur le terrain (par exemple lorsque les traces ne sont pas claires), que la fraîcheur est incertaine (ex : échantillons dégradés par la pluie), que plusieurs échantillons pourraient appartenir au même individu (ex : autour du même nid), etc....



Figure 22 : Illustration de la collecte de fèces dans un nid de gorille. (Photos C. Néel)

Les échantillons collectés sont alors conservés dix jours maximum au campement, puis stockés à -20°C au laboratoire de Yaoundé pour ensuite être envoyés à l'IRD de Montpellier et être stockés à -80°C.

2.1.2.4 Difficultés d'échantillonnage

Les difficultés décrites sont inhérentes au travail en forêt et sont basées sur nos propres expériences. Il ne s'agit pas de faire une liste exhaustive, mais simplement de donner quelques exemples illustrant le fait que la collecte des échantillons comporte, par sa nature, certains risques.

- Zoonoses

L'un des dangers de cet échantillonnage est d'être en contact avec des pathogènes touchant les grands singes et les humains. Toutes les précautions sont prises afin de minimiser les possibilités de contracter une maladie. Les gants à usage unique et tout matériel souillé sont détruits par incinération, les tubes sont désinfectés s'ils ont été en contact avec des fèces à l'extérieur. Si du sang est présent en quantité dans les fèces, il est recommandé de ne pas collecter, afin de minimiser les risques de transmission de pathogènes. En effet, nous ne sommes pas équipé de matériel de protection, ni formés à la collecte de matériel biologique plus infectieux que le VIH. Enfin, si une carcasse de grand singe est découverte sans que la cause de la mort puisse être clairement définie (ex : braconnage), il ne faut avoir aucun contact avec elle (possibilité de transmission d'ébola, anthrax etc...). Les équipes évacuent la forêt et signalent le problème aux autorités locales du Ministère de la Faune.

- Conditions climatiques

S'il est plus facile de suivre les traces après la pluie (empreintes bien marquées, passage des animaux plus visible), les orages tropicaux restent un phénomène assez dangereux en forêt. Les dangers liés aux fortes pluies sont la chute d'arbres et de branches, la foudre, les inondations, la visibilité et l'audition réduites, et la perte du point GPS due à la couverture nuageuse. En cas d'orage, la meilleure stratégie est de rester contre les contreforts d'un arbre et de ne pas se déplacer avant la fin de l'intempérie.

- Autres dangers potentiels

Le fait de suivre des grands singes implique bien évidemment de parfois les rencontrer, même si nous essayons d'être le moins invasifs possible et que la rencontre n'est pas un but en soit. Les chimpanzés sont des animaux assez curieux et ils ont tendance à nous observer quelques instants avant de fuir. Les rencontres avec des gorilles sont plus impressionnantes puisque généralement, le mâle dominant lorsqu'il est surpris, effectue une charge sur l'intrus. Il s'agit dans la majorité des cas d'un « bluff » qui s'arrête à quelques mètres de la personne visée si sa réaction n'est pas de fuir. D'autres animaux sont des dangers potentiels bien plus importants que les grands singes, principalement les éléphants ou les buffles qui peuvent charger s'ils sont surpris ou s'ils protègent un petit. Dans ce cas, il faut se placer derrière un arbre ou si possible (ce n'est pas souvent le cas) grimper.

Les déplacements étant parfois lents, la nuit peut également surprendre une équipe alors qu'elle se trouve en forêt. Il est nécessaire de rester sur place jusqu'au lendemain car les déplacements nocturnes sont pratiquement impossibles sans une excellente connaissance

du secteur (ravins, marécages) et restent dangereux (rencontre avec des éléphants, perte d'orientation).

Enfin, la présence de chasseurs ou de braconniers peut aussi créer des situations conflictuelles puisque les projets de recherche sont souvent assimilés à des projets de conservation et de lutte anti-braconnage chez les populations locales.

2.1.2 Les sites de collecte : situation et caractéristiques

Notre équipe s'est rendue dans treize sites différents localisés au Cameroun et deux en République Centrafricaine, à la frontière entre les deux pays. Les autres échantillons testés, l'ont été dans le cadre de collaborations avec des projets de recherche existants (habitation, inventaires).

De juin 2006 à mai 2009, 31 missions ont été organisées. Certains sites ont été prospectés plusieurs fois, dans plusieurs localisations, à la suite de résultats intéressants ou d'un potentiel de collecte important. Les sites sont codés par deux lettres.

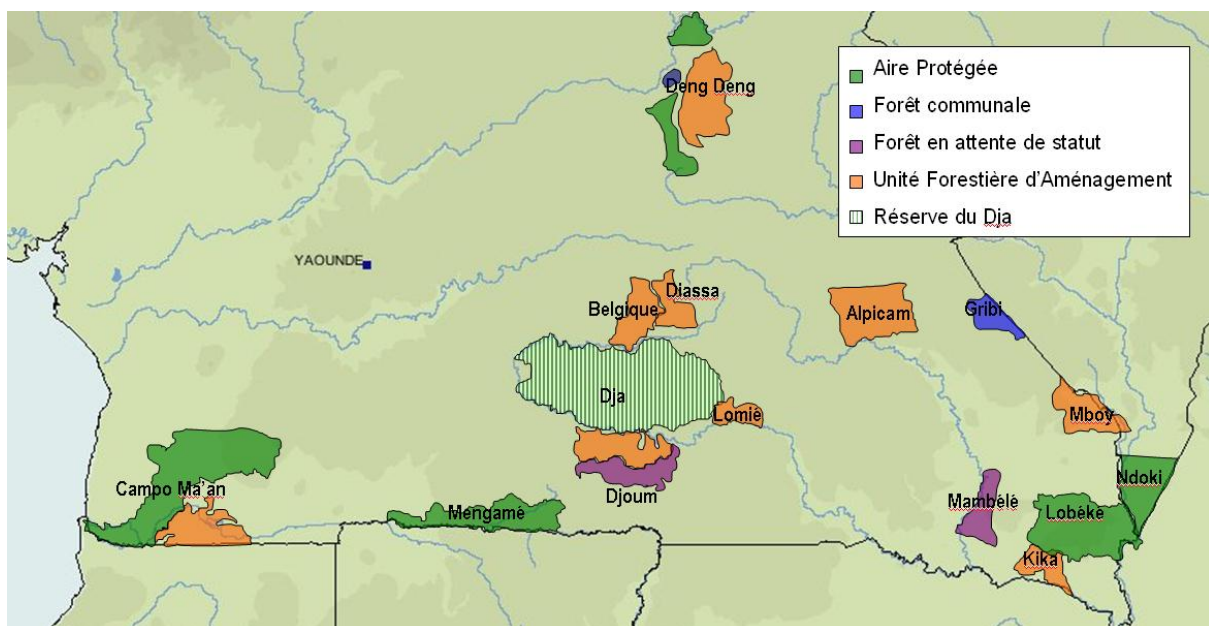


Figure 23 : Localisation et statut légal des différents sites de prospection. La Réserve du Dja est indiquée pour information, même si aucune prospection n'a eu lieu dans ce site pour cette recherche.

- Mengamé (MM)

Il s'agit d'une zone définie comme « sanctuaire à gorilles », qui est un niveau de protection peu élevé dans la législation camerounaise. Il fait partie d'un projet de protection transfrontalier avec le Gabon car il est situé juste à la frontière des deux pays. Le site de

Mengamé a fait l'objet de deux prospections puisqu'il a une surface de 137 000 hectares et une densité de gorilles estimée à environ 2,53 individus/km² ce qui est très important. La densité des chimpanzés est relativement faible dans ce site (0,18 ind/km²) [150]

- Lomié (LM)

Dans le site de Lomié, nous avons collecté dans les forêts aux alentours de deux villages, Koungoulou (KO) et Karagwa (KA). Cette zone est une UFA non attribuée que l'on désigne comme étant « en conservation ». Le statut d'une partie de cette forêt a changé pour être une forêt communale pour chaque village. En 2000, un projet d'habitation des gorilles a été mis en place par une ONG locale en collaboration avec les villageois ; ce projet n'a jamais été achevé mais deux groupes de gorille ont été suivis pendant deux ans [151]. La densité de gorilles dans cette forêt n'a pas été publiée. L'expertise des pisteurs a été un grand atout pour notre projet et ils sont ensuite devenus nos assistants et ont participé aux missions suivantes à partir d'avril 2008.

- Gribi (GB)

Gribi est un village situé à l'entrée de la forêt communale de Gari-Gombo, sur la frontière Cameroun/RCA. En 2004, dans le cadre d'une collaboration avec le ministère de la faune camerounais, un gorille mâle, tué par un braconnier, a été confisqué dans ce village. Le sang prélevé par les éco-gardes a été testé en sérologie, et les tests ont montré une réaction fortement positive. Cependant, malgré de nombreux essais, nous n'avons jamais réussi à isoler le virus. L'idée de prospecter à partir du village de Gribi était d'essayer de remonter jusqu'à l'endroit où ce gorille avait été tué. C'est en 2007 que nous sommes revenus sur place pour la première fois et avons questionné des villageois pour savoir s'ils se souvenaient de la confiscation de ce gorille. Durant cette mission, et celle qui a suivi, nous avons donc été orientés dans la zone recherchée.

- Alpicam (AL)

Une des UFA d'Alpicam (10.026), située à l'ouest de Gribi a été prospectée. Cette mission n'avait pas été planifiée au départ, puisque l'objectif était de faire une nouvelle collecte à Gribi. Entre la première et la seconde mission à Gribi, il est apparu que les grands singes avaient disparu de la zone de prospection et plusieurs jours de mission n'avaient donné aucun résultat. Les causes en sont sûrement un braconnage intensif et une exploitation forestière qui avait commencé entre la première et la seconde mission. La décision a donc été prise de lever le camp et de se rendre dans une autre zone facilement accessible à partir

de Gribi. La concentration de gorilles et de chimpanzés dans cette zone a été évaluée pour le plan d'aménagement forestier à 0,45 ind/km² et 0,04 ind/km² respectivement [152].

- Mambélé (MB)

Mambélé est un village de l'est du Cameroun, situé sur la route conduisant à la frontière du Congo. De nombreux chimpanzés positifs, réservoir du VIH-1 groupe M avaient été découverts autour de cette localité. Nous avons donc à nouveau prospecté cette forêt aux alentours. Le village est situé à l'entrée de la route menant au centre du Parc de la Lobéké et est entouré de quatre forêts aux statuts de ZICGC (Forêt d'Intérêt Cynégétique à Gestion Communale). Les densités de grands singes n'ont pas été calculées lors des inventaires fauniques mais des densités relatives basées sur les indices kilométriques d'abondance (IKA) sont disponibles. Ils varient entre 1,4 et 4,96 indices de présence par kilomètre pour les gorilles, et entre 0,06 et 0,24 pour les chimpanzés [153].

- Belgique (BQ)

Le site Belgique est situé à la périphérie nord de la réserve du Dja dont il est séparé par une rivière infranchissable pour les grands singes. Il est l'endroit où a été découvert l'un des trois premiers gorilles positifs au SIVgor, en 2004. Il est situé dans une UFA, dans laquelle un projet de recherche et de conservation a été mis en place. Nous avons effectué une seconde prospection dans ce site. La prospection a été relativement difficile car il faut savoir que la densité des gorilles et des chimpanzés a fortement diminué à cet endroit. En effet, fin 2004, nous avons découvert 5 carcasses de grands singes et les analyses ont montré que cette épidémie n'était pas Ebola, mais une épidémie d'anthrax [154]. Aucun homme n'a été victime de cette maladie, mais de nombreux gorilles et chimpanzés ont disparu, rendant la prospection difficile. La densité de population de gorilles et de chimpanzés dans la zone, précédemment estimée à 2,1 et 0,9 ind/km² aurait diminué de moitié [155]

- Lobéké (LB)

Le parc national de Lobéké se situe dans le « Sangha Tri-National » (TNS) qui regroupe les parcs nationaux situés à la frontière entre le Congo, la République Centrafricaine et le Cameroun. Comme à Mambélé, qui se trouve seulement à 30km de l'entrée du parc, les différentes communautés de chimpanzés testées sont les réservoirs du virus VIH-1 groupe M. A l'Est, la frontière entre les différents pays est matérialisée par la Sangha, une rivière infranchissable pour les grands singes. Nous nous sommes rendus dans la base de Djembe (DJ), le long de cette rivière et avons également prospecté du côté de l'île de Melongodi

(MD), plus au nord. Cette île est sur la Sangha, et dans le cadre d'un accord avec le TNS, nous avons collecté des échantillons de l'autre côté de cette rivière, en RCA. Les estimations de densité des gorilles et des chimpanzés donnent respectivement 1,59 et 0,51 ind/km² dans le Parc de la Lobéké [156].

- Kika (KK)

Ce site est à l'extrême sud-est du Cameroun, à la frontière avec le Congo. La collecte a pris place dans l'UFA 10.063 de la société Alpicam qui touche, au nord, le Parc national de la Lobéké. Aucune donnée de densité de grands singes n'a été publiée pour cette zone mais les IKA donne une présence relativement faible dans la zone. L'intérêt de cette prospection repose principalement sur sa situation puisque aucune limite naturelle (rivière) ne la sépare du Parc de la Lobéké.

- Ndoki (ND)

Ndoki est une partie du Parc National Dzangha Sangha en République Centrafricaine (RCA). Il est également inclus dans le TNS. L'objectif des collectes de l'autre côté de la rivière Sangha, en RCA est de vérifier le statut sérologique, non seulement des gorilles, mais aussi des chimpanzés. En effet, ils ne sont qu'à quelques kilomètres de ceux réservoirs du groupe M, mais ils appartiennent à une population différente de par la présence de la rivière. Les densités de grands singes dans le Parc donnent une estimation de 0,16 chimpanzés/km². Pour les gorilles, elle varie de 0,84 à 1,49 ind./km² [157].

- Djoum (DJ)

Le site de Djoum est situé à la périphérie sud du Dja. Trois différentes missions ont été mises en place dans ce site et ont permis de prospecter dans une UFA le long de la rivière du Dja ainsi dans une forêt sans statut particulier, dans un rayon de 5 à 10 km le long de la route reliant la ville de Djoum à celle de Mintom II. Ce site est séparé par une rivière de la Réserve du Dja où les chimpanzés réservoirs du groupe N ont été découverts. Aucune estimation de densité n'a été publiée à ce jour pour cette zone.

- Diassa (DI)

Diassa est le village d'entrée dans l'UFA située juste à l'est du site « Belgique ». Cette prospection avait pour but d'aborder un site proche de Belgique où l'un des gorilles positifs avait été découvert, en vérifiant si les densités à quelques dizaines de kilomètres de l'épidémie d'anthrax semblaient également avoir beaucoup diminué.

- Mboy (BY)

Le site de Mboy est à la frontière avec la RCA et situé à égale distance entre Gribi et le parc national de Lobéké (environ 100km de chaque localité). Sa situation permet de vérifier l'étendue de l'infection chez les chimpanzés porteurs du virus proche du VIH-1 groupe M. Il se trouve au milieu de plusieurs UFA.

- Deng Deng (DD)

Le site de Deng Deng a fait l'objet d'un changement de statut suite à la construction du barrage de Lom Pangar. C'est une Unité Technique Opérationnelles (UTO), qui regroupe, un sanctuaire à gorilles, une UFA et une forêt communale. Des efforts de conservation visant à limiter les effets de ce barrage sur l'environnement ont été engagés. Leur mise en œuvre a été confiée à WCS (Wildlife Conservation Society). Dans le cadre d'une convention avec WCS, nous avons effectué deux collectes dans le sanctuaire et l'UFA pour tester le statut sérologique des grands singes de la zone.

- Campo (CP)

Le Parc National de Campo M'an est situé au Sud-Ouest du Cameroun à la frontière avec la Guinée Equatoriale, matérialisée par la rivière Ntem. Depuis la découverte d'une femelle positive en 2004 et d'une seconde en 2006, le site de Campo Ma'an a fait l'objet du plus grand nombre de prospections. Quatorze missions au total ont été organisées, dont onze depuis juin 2006. Plusieurs localisations ont fait l'objet d'une prospection dans et aux alentours du Parc. Il s'agit de Grottes (GR), Mvini, (MV), Oveng (OV), Melen II (ML), Onoyong (ON) et Ngo'ombang (NG) Une description plus détaillée du site est faite dans la seconde partie de ce travail.

- Sites supplémentaires :

Certains échantillons ont été collectés sur d'autres sites par des équipes partenaires, généralement dans le cadre d'un projet de recherche ou d'habituation des grands singes. Ces sites sont situés en dehors du Cameroun, au Gabon (LO), au Congo (GL) et en République Centrafricaine (DS) en ce qui concerne la sous-espèce *Gorilla gorilla gorilla*, mais aussi dans l'aire de répartition des *Gorilla bereingi graueri* en République Démocratique du Congo (KE, LU, OP)

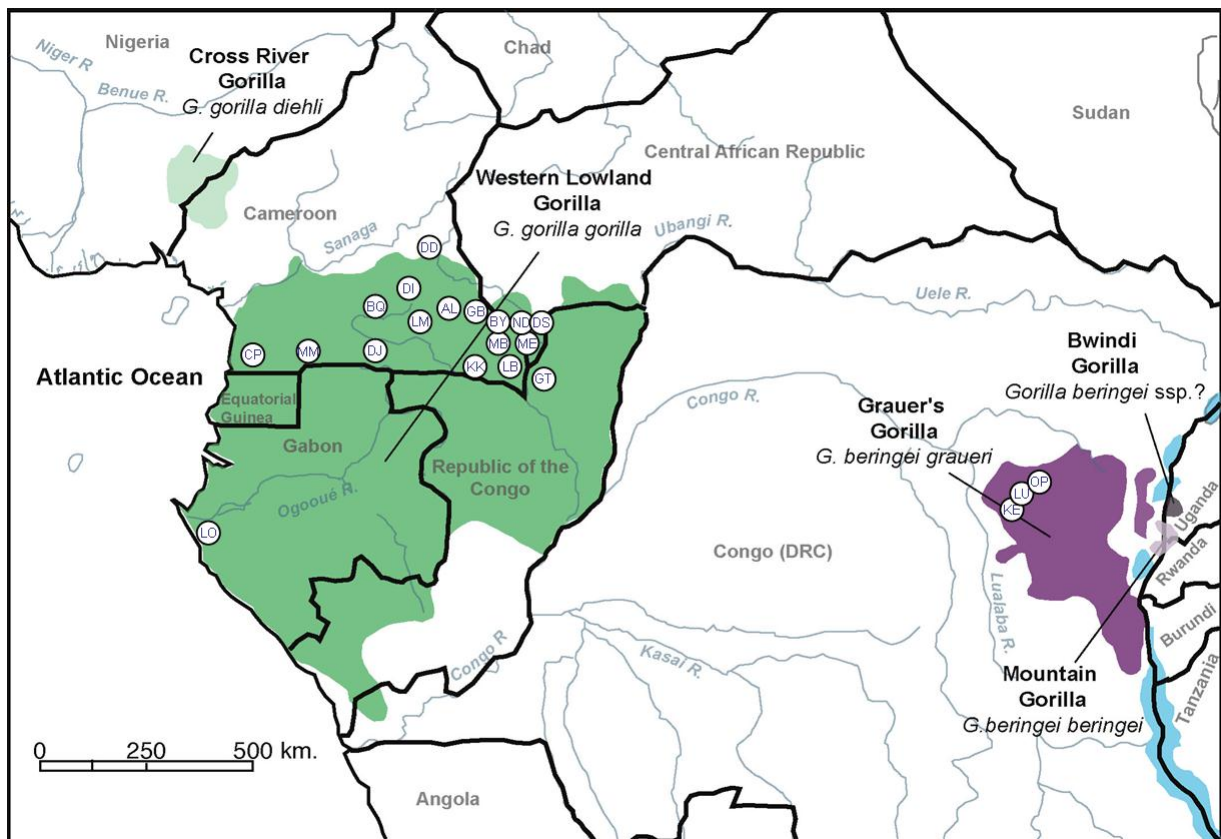


Figure 24 : Sites de collecte de fèces de grands singes. Trois des sites sont situés dans l'aire de répartition de la sous-espèce *G. b. graueri* en République Démocratique du Congo.

2.2 Etude des virus

Les échantillons sont envoyés au laboratoire de Montpellier quelques jours après la collecte afin d'effectuer les analyses. Certains d'entre eux ont cependant été testés en sérologie au laboratoire de virologie de Yaoundé.

Les résultats sont ensuite communiqués à l'équipe de terrain qui peut alors ajuster les prochaines prospections en fonction des résultats.

2.2.1 Sérologie

En premier lieu, un traitement des échantillons est nécessaire avant d'effectuer les tests sérologiques car ils sont préservés dans du RNA later, qui conserve très bien l'ARN. Cependant, la grande concentration en sels (citrate de sodium, EDTA et sulfate d'ammonium) précipitant les immunoglobulines nécessite un traitement préliminaire des échantillons avant les tests sérologiques. Les échantillons (2ml) sont donc auparavant dilués dans 7ml de solution de PBS-Tween (Phosphate Buffered Saline), suivi d'une incubation

d'une heure à 60°C. Ils sont ensuite centrifugés à 3 900g pendant 10 minutes, puis dialysés dans une solution de PBS pendant 14h à 4°C.

Tous les échantillons sont passés au test de sérologie commercial INNO LIA™ VIH/II Score (Line ImmunoAssay) qui est un test de confirmation pour le VIH. En effet, il n'existe pas encore de test spécifique pour détecter la présence d'anticorps anti-SIVcpz ou SIVgor dans les fèces. Le principe de ce test, décrit précédemment, est une réaction croisée entre les anticorps présents dans l'échantillon et les antigènes du VIH qui sont présents sur des bandelettes de cellulose. Le résultat se lit sur ces bandelettes par colorimétrie.

La sensibilité et la spécificité de ce test ne sont pas connues pour les gorilles, mais ont été calculées pour les chimpanzés : sensibilité de 92% (83 –97) et spécificité de 100%, avec une limite inférieure de 97% [109].

Deux problèmes principaux se sont posés pour les gorilles. D'une part la lecture de ce test est moins évidente que pour les chimpanzés puisque les réactions sont parfois plus faibles (bandes de couleur plus claires). D'autre part, des réactions croisées non spécifiques peuvent apparaître et qui ne reflètent pas la présence de l'infection.

Lorsque aucune réaction n'apparaît, les échantillons sont considérés comme négatifs. Lorsque la réaction est clairement visible, un second test de confirmation est généralement effectué, le Western Blot (WB). Les WB sont des tests élaborés avec des antigènes du VIH-1, par lyse des cellules puis séparés par électrophorèse. Si une réaction est à nouveau visible, les échantillons sont considérés comme positifs.

Il arrive cependant que certains échantillons ne puissent être considérés comme négatif lorsqu'une bande faiblement colorée apparaît. Ces échantillons sont donc indéterminés et sont également testés avec un Western Blot. La combinaison des résultats des tests INNO Lia et WB permet dans la majorité des cas de donner un résultat de sérologie.

2.2.2 Extraction des acides nucléiques

Lorsqu'un échantillon réagit positivement aux tests de sérologie, l'ARN viral préservé dans les fèces est extrait à l'aide du kit RNAqueus™ Midi-Kit, (Applied Biosystems/Ambion, Austin, TX). Les échantillons (1,5 ml) sont suspendus dans un tampon de lyse (7 ml) contenant du RNA carrier, mélangé à l'aide d'un vortex, puis centrifugés et filtrés pour enlever les débris solides. Le surnageant est ensuite traité en suivant les instructions du kit d'extraction. L'ARN extrait est alors conservé dans un volume final de 50µl de solution « RNA storage ».

Dans certains cas, nous avons également employé un kit d'extraction différent : NucliSens Magnetic Extraction kit (Biomérieux, Craponne, France), qui utilise des particules de silice

magnétique pour purifier l'ARN. Dans ce cas, 1,5 ml d'échantillon est mélangé à 5 ml de PBS, centrifugé et filtré, puis suspendu dans un tampon de lyse (7 ml). Les instructions du kit nous permettent d'extraire l'ARN dans un volume final de 50 µl.

2.2.3 Amplification de l'ARN viral

L'ARN extrait (10 µl) est ensuite transcrit en ADN complémentaire (ADNc) par une transcription inverse (RT), puis amplifié par une PCR (Réaction en Chaîne par Polymérase) nichée, en utilisant, dans un premier temps, des amorces universelles VIH-1 (F1/R1 et F2/R2) dans les régions *pol* et *env* (gp41). Les fragments amplifiés varient entre 315 et environ 440 paires de bases pour la région *env* et ~245 à 330 pour *pol*.

Les RT-PCR ont été effectuées en utilisant l'enzyme « Expand Reverse Transcriptase » et le kit « Expand Long Template PCR system » (Roche 151 Diagnostics, Indianapolis, IN). 10 µl d'ARN viral ont été incubés avec 40pmol de l'amorce R1 pendant 10 minutes à 65°C, puis rapidement refroidis. Cet ARN est ensuite ajouté au mélange réactionnel RT, avec un volume final de 20 µl et incubé pendant une heure à 42°C, suivi de 5 minutes à 95°C afin d'inactiver l'enzyme.

Pour les échantillons qui n'ont pu être amplifiés par ce protocole, un second type de RT a été utilisée (Superscript Retro-transcriptase III (Invitrogen, Carlsbad, CA)), qui consiste à incuber 10 µl d'ARN, 2 pmol de l'amorce R1 et 2 µl de dNTPs (10mM) à 65°C pendant 5 minutes avant d'être refroidi. 1X de tampon, 200U de Superscript Retro-transcriptase III, 20U d'inhibiteur de RNase et 5 mM de dithiothreitol sont ajoutés pour un volume final de 20 µl, incubés à 50°C pendant 90 minutes, suivi de 15 minutes à 70°C pour inactiver l'enzyme. On obtient un volume final de 20 µl d'ADNc.

Les PCR nichées se font en 2 temps, en multipliant d'abord un segment d'ADN à partir de 10 µl d'ADNc (1^{er} round) en utilisant les amorces R1/F1, pour ensuite amplifier un second segment plus court, « niché » dans le premier (2^{ème} round) en utilisant 5 µl du produit de la 1^{ère} PCR et les amorces R2/F2.

Le principe des PCR repose sur l'association de l'ADNc à amplifier avec des amorces (ou oligonucléotides), spécifiques du segment d'ADN voulu, d'une enzyme ADN polymérase, et enfin du mélange des quatre désoxyribonucléotides constitutifs de l'ADN (dNTP). Le passage dans le thermocycleur permet l'amplification, généralement sur 45 cycles dans les conditions suivantes : un cycle de dénaturation (séparation des brins d'ADN) à 94°C pendant 20 s, puis hybridation (fixation des amorces) à 50°C pendant 30 s, et enfin l'élongation des brins complémentaires (68°C, 1 min).

A cause des divergences des SIVcpz et SIVgor par rapport aux VIH, ces RT-PCR n'amplifient pas toujours l'ARN viral dans les conditions décrites ci-dessus et nécessitent parfois plusieurs modifications. Les amorces, dans un premier temps peuvent être plus spécifiques des ARN viraux SIV, ou au contraire plus dégénérées, et correspondre à différentes parties du génome. Ces oligonucléotides sont dessinés en fonction des séquences obtenues précédemment sur d'autres échantillons. Les cycles thermiques alors utilisés sont adaptés et les conditions d'amplification modifiées (température d'hybridation, temps d'élongation, technique « touch down », nombres de cycles, etc...)

Nom du Fragment	Gène	Amorce	Amplicon (pb)	Ref
Pol	Pol	CPZ-pol-F1 CCAGCNCACAAAGGNATAGGAGG	823	[53]
		CPZ-pol-R1 ACBACYGCNCCTTCHCCTTTC		
	Pol mini	CPZ-pol-F2 GGAAGTGGATACTTAGAAGCAGAAGT	340	[53]
		CPZ-pol-R2 CCAATYCCYCCYTTYKYTTAAAATT		
		CON-POLmini-F1CATGTRGCHAGTGGNTWCMTAGARGCAGARGT	518	[123]
		CON-POLmini-R1 ACBACYGCNCCTTCHCCTTTC		
Gp41	Env	CON-POLmini-F2 AYAAYCCHCAAAGTCAAGGAGTRGT	285	[123]
		CON-POLmini-R2 GTCCTTTCCAAATDGGRTCTCTGCTGTC		
		CPZ-gp41-R1 AACGACAAAGGTGAGTATCCCTGCCTAA	594	[53]
	Env	CPZ-gp41-F1 TCTTAGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGG		
		CPZ-gp41-F2 ACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAACAGCA	453	[53]
		CPZ-gp41-R2 TCCTACTATCATTATGAATATTTTTATATA		
	Env	GOR-gp41-F1 AGCARGAATTGCTGAGACTYCTG	359	[53]
		GOR-gp41-R1 CCANTNTGTTATGTCAAGCCAAC		
		GOR-gp41-F2 GGCATAAGACARCTCMGAGCTCGC	315	[53]
		GOR-gp41-R2 AAGCCAAC TCCAAAGRTCTGC		

Tableau 3 : Liste des oligonucléotides utilisés pour amplifier les segments pol et env SIVcpz et SIVgor

L'ADN ainsi amplifié est alors purifié en utilisant le kit GENE CLEAN Turbo Kit (Qbiogene, Inc., Carlsbad) et séquencé directement sur un séquenceur automatique (3130xl Genetic Analyser, Applied Biosystems, Foster City, Calif.).

2.2.4 Etude phylogénétique des fragments amplifiés

L'étude phylogénétique des fragments amplifiés permet une comparaison des différents virus entre eux et de leur évolution respective. Plus les fragments amplifiés sont longs, plus leurs comparaisons seront précises. La comparaison s'effectue sur les mêmes zones du génome, le mieux étant évidemment d'avoir des comparaisons de génomes complets. Cependant, les génomes complets sont très difficiles et longs à obtenir et si l'amplification a réussi sur *pol* et *env*, deux arbres phylogénétiques distincts peuvent être construits et retracer assez précisément l'histoire évolutive des différents virus inclus.

Les nouvelles séquences ont été alignées avec celles déjà disponibles de SIVgor, SIVcpz et VIH-1, en utilisant le programme MEGA4 [158] avec quelques ajustements mineurs si nécessaire. Les sites qui n'ont pas pu être alignés sans ambiguïté ou contenant des vides ont été exclus de l'analyse. Le nombre de nucléotides examinés était de 280 pour *pol*, et 355 et 266 pour *gp41*. Les arbres ont été construits avec PhyML (<http://www.atgc-montpellier.fr/>) [159]. La phylogénie a également été étudiée en utilisant la méthode Bayésienne (MrBayes version 3.1) [160].

2.3 Etude des hôtes

Parallèlement à l'étude de l'ARN viral, des études génétiques des hôtes ont été effectuées sur leur ADN. L'ADN est extrait en utilisant le kit Qiagen (Qlamp Stool DNA minikit). 2 ml d'échantillon sont centrifugés afin de garder le surnageant auquel on ajoute 1,6 ml de tampon ASL. On centrifuge de nouveau puis l'extraction d'ADN se fait selon les instructions du kit. L'ADN extrait est alors suspendu dans 100 µl de tampon.

2.3.1 Détermination de l'espèce

A partir de cet ADN extrait des fèces, une amplification de l'ADN mitochondrial ou ribosomale de l'hôte va permettre une identification de l'espèce et/ou si nécessaire, de la sous-espèce. Un fragment d'environ 400 à 500 paires de bases appartenant à la boucle D hypervariable de l'ADNmit ou de 386bp de la 12SRNA (ribosome) est comparé par analyse phylogénétique aux fragments appartenant aux différentes (sous-) espèces. Cette méthode n'a pas été utilisée pour tous les échantillons collectés, puisque dans la plupart des cas, l'identification des fèces se fait sur le terrain grâce aux différents indices récoltés. Néanmoins, il arrive que cette identification ne soit pas possible ou ne soit pas catégorique. C'est par exemple le cas lorsque les échantillons sont collectés sur des traces incertaines ou appartenant aux deux espèces (gorilles et chimpanzés sont passés au même endroit), lorsque les échantillons sont dégradés par la pluie ou piétinés par d'autres animaux etc..... Dans le cas où des échantillons appartiennent au même groupe (collectés au même moment, au même endroit et de même fraîcheur), quelques-uns d'entre eux sont vérifiés. Si l'échantillon est positif au SIV, on procède sans exception à l'analyse de l'ADNmit afin de confirmer l'appartenance à telle ou telle (sous-) espèce de l'hôte.

Dans les deux cas, amplification de l'ADN mitochondrial ou ribosomal, 5 µl d'ADN sont ajoutés au mélange contenant du tampon, du MgCl₂, de la BSA, des dNTPs, l'enzyme et les amorces pour un volume final de 45 µl. L'amplification de l'ADN se fait par 45 cycles dans

les conditions suivantes : un cycle de dénaturation à 92°C pendant 15 s, puis hybridation à 50°C pendant 30 s, et enfin l'élongation des brins complémentaires (72°C, 30 s).

Gène	Amorce
D-loop	Mit 1 - L15997 5'- CACCATTAGCACCCAAAGCT -3' (sens) Mit 2 - H16498 5'- CCTGAAGTAGGAACCAGATG -3' (anti-sens)
12S	12S-L01091 5'-AAAAAGCTTCAAACCTGGGATTAGATACCCCACTAT-3' (sens) 12S-H01478 5'-TGACTGCAGAGGGTGACGGGCGGTGTGT-3' (anti-sens)

Tableau 4 : Oligonucléotides utilisés pour la confirmation de l'espèce

2.3.2 Microsatellites

Les microsatellites ou *Simple Sequence Repeats (SSRs)* sont des loci polymorphiques présents dans l'ADN génomique. Ils se présentent sous la forme de séquences répétées de un à six nucléotides et servent de marqueurs moléculaires dans les études de génétique de population. Ils permettent d'identifier chaque individu à partir son l'ADN, extrait des fèces dans notre cas. En effet, si l'espèce est souvent reconnaissable sur le terrain, il est impossible de savoir à quel individu appartient l'échantillon collecté et il arrive régulièrement que des échantillons différents proviennent du même individu.

Les échantillons ont été génotypés sur huit loci (D18s536, D4s243, D10s676, D9s922, D2S1326, D2S1333, D4S1627, D9S905). Le genre a été déterminé en amplifiant une région du gène de l'amelogénine qui contient une délétion sur le chromosome X, mais pas sur le Y. Les réactions PCR sont systématiquement dupliquées et répétées un minimum de quatre fois pour les homozygotes afin d'exclure les cas où l'un des allèles n'aurait pas été amplifié par la PCR. Chaque locus correspond à un couple d'amorces. Les amorces sens sont marquées par un fluorochrome en 5' (Fam, Hex ou Dragonfly orange) afin que le fragment amplifié puisse être visualisé sur le séquenceur. Les conditions des PCR changent en fonction du locus. Entre 3 µl et 5 µl d'ADN sont ajoutés au mélange contenant les oligonucléotides, du tampon, du MgCl₂, de la BSA, des dNTPs pour un volume final de 50 µl.

Locus	Amorce		Taille du Fragment (pb) chez les gorilles	Conditions PCR
Amelogénine	AmelA / LABEL Dragon Fly AmelB	CCCTGGGCTCTGTAAAGAATAGTG	106 (Femelles)	3-5µl ADN
		ATCAGAGCTTAAACTGGGAAGCTG	106 et 112 (Mâles)	45 cycles: 95°C-20s 60°C-45s 72°C-45s
DS18S536	HUM05262-F / LABEL FAM HUM05263-R	ATTATCACTGGTGTAGTCCTCTG CACAGTTGTGTGAGCCAGTC	140 à 160	
D4S243	MGS02609-F / LABEL FAM MGS02610-R	TCAGTCTCTCTTTCTCCTTGCA TAGGAGCCTGTGGTCCTGTT	170 à 200	3µl ADN
D10S676	HUM05148-F / LABEL HEX HUM05149-R	GAGAACAGACCCCAAATCT ATTCAGTTTTACTATGTGCATGC	180 à 200	45 cycles: 95°C-20s 56°C-45s 72°C-45s
D9S922	HUM09025-F / LABEL HEX HUM09026-R	TCAGAGGACCACTGCCTAAG CTGATGGGATTTGTGCCTAT	260 à 280	
D2S1326	HUM09373-F / LABEL FAM HUM09374-R	AGACAGTCAAGAATAACTGCCC CTGTGGCTCAAAAGCTGAAT	250 à 280	
D2S1333	HUM12880-F / LABEL FAM HUM12880-R	CTTTGTCTCCCCAGTTGCTA TCTGTCATAAACCGTCTGCA	295 à 340	3-5µl ADN
D4S1627	HUM05068-F / LABEL HEX HUM05069-R	AGCATTAGCATTGTCTCTGG GACTAACCTGACTCCCCCTC	230 à 250	50 cycles: 95°C-20s 53°C-45s 72°C-45s
D9S905	HUM07339-F / LABEL HEX HUM07330-R	GTGGGAAAATTGGCCTAAGT CTTCTGAGCCTCACACCTGT	265 à 280	

Tableau 5 : Liste des oligonucléotides utilisés pour l'amplification de microsatellites

Les fragments ainsi amplifiés sont analysés sur le séquenceur (3130 XL) en utilisant un marqueur de poids moléculaire (GS400HD, Applied Biosystem). La quantité de produit PCR déposée pour le séquençage varie entre 1µl et 1,5µl puis peut être ajustée en fonction des résultats (ex : dilution). Les loci D18s536, D4s243, D10s676, D9s922 sont séquencés ensemble pour chaque échantillon, ainsi que les D2S1326, D2S1333, D4S1627, D9S905.

Les résultats sont alors visualisés sur le logiciel GeneMapper 3.7 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) sous forme de pics reflétant le poids moléculaire et le nombre de répétitions de la séquence. Pour chaque locus, un seul pic est visible si l'individu est homozygote pour ce locus et deux pics apparaissent dans le cas d'une hétérozygotie. Tous les loci utilisés sont des séquences répétées de quatre nucléotides, donc les pics visualisés doivent être éloignés l'un de l'autre d'un multiple de 4.

Après les résultats préliminaires, les tailles des fragments ont été standardisées sous la forme suivante :

D18S536	142 / 146 / 150 / 154 / 158
D4S243	173 / 177 / 181 / 185 / 189 / 193 / 197
D10S676	180 / 184 / 188 / 192 / 196 / 200
D9S922	260 / 264 / 268 / 272 / 276 / 280
D2S1326	251 / 255 / 259 / 263 / 267 / 271 / 275 / 279
D2S1333	298 / 302 / 306 / 310 / 314 / 318 / 322 / 326 / 330 / 334 / 338
D4S1627	228 / 232 / 236 / 240 / 244 / 248 / 252
D9S905	270 / 274 / 278 / 282

La comparaison des résultats permettant de retrouver les individus ayant le même génotype a été faite avec le logiciel Genecap [161].

3- RESULTATS

3.1 Echantillons collectés

Les prospections dans les treize sites camerounais et les deux sites de la République de Centrafrique où nous nous sommes rendus ont permis de collecter respectivement 2518 et 241 échantillons, soit un total de 2759. Sur ces échantillons, 2120 provenaient de gorilles, 442 de chimpanzés, 174 d'autres espèces, et 23 étaient dégradées. La plupart des échantillons provenant d'autres espèces sont issus de mandrills (*Mandrillus sphinx*). En effet, l'aire de répartition de ces primates se superpose parfois avec celles des gorilles et des chimpanzés, plus particulièrement au Centre et au Sud-Ouest. Ils vivent en groupe très importants (plus de 100 individus) et se déplacent principalement au sol. Il nous arrive donc de les croiser et d'être en mesure de collecter des échantillons de cette espèce. De plus, mais beaucoup plus rarement, nous avons l'occasion de trouver des traces de primates arboricoles qui sont descendus au sol ; si nous en avons la possibilité, nous collectons également des échantillons. 23 de nos échantillons étaient dégradés, c'est-à-dire que les tests de sérologie montrent qu'il n'y avait plus d'anticorps présents dans ces fèces. Il est parfois difficile d'évaluer la fraîcheur exacte des échantillons, comme par exemple après une forte pluie, et dans ce cas, nous le signalons sur la feuille de collecte. Les autres échantillons collectés par des partenaires ont permis de tester 93 échantillons supplémentaires provenant de RCA, 122 du Congo, et 32 du Gabon de la sous-espèce *Gorilla gorilla gorilla*, ainsi que 183 de la République Démocratique du Congo de la sous-espèce *Gorilla bereingi bereingi* (tableau 6).

	Sites de Collecte	Nb d'échantillons collectés	Echantillons de gorilles	Echantillons de chimpanzés	Autres espèces	Echantillons dégradés
<u>Cameroun</u>	LM : KO	207	185	20	2	0
	KA	123	74	42	7	0
	BQ	77	27	50	0	0
	MM	155	152	0	0	3
	CP - GR	133	111	5	10	7
	- OV	141	83	15	42	1
	- MV	221	119	95	4	3
	- ML	137	7	49	78	3
	- ON	128	116	12	0	0
	- NG	41	37	4	0	0
	GB	94	88	4	0	2
	MB	134	117	14	0	3
	KK	22	18	1	2	1
	LB : MDc	73	72	1	0	0
	DB	66	63	3	0	0
	DJ	247	206	17	24	0
	DI	59	0	55	4	0
	AL	46	46	0	0	0
	MY	149	147	1	1	0
	DD	265	260	5	0	0
	Total Cameroun	2518	1928	393	174	23
<u>RCA</u>	MD	43	21	22	0	0
	ND	198	171	27	0	0
	DS	93	93	0	0	0
	Total RCA	334	285	49	0	0
<u>Congo</u>	GL	122	122	0	0	0
	Total Congo	122	122	0	0	0
<u>Gabon</u>	LO	32	32	0	0	0
	Total Gabon	32	32	0	0	0
<u>RDC</u>	KE	128	128	0	0	0
	OP	51	51	0	0	0
	LU	4	4	0	0	0
	Total RDC	183	183	0	0	0
TOTAL		3157	2550	442	296	145

Tableau 6 : Sites de collecte et nombre d'échantillons par site (gorilles, chimpanzés et autres espèces de primates). Les collectes en gris représentent les échantillons de nos partenaires.

3.2- Prévalence et distribution du SIV chez les grands singes

3.2.1 Prévalence chez les gorilles

3.2.1.1 Sérologie

Tous les échantillons de gorilles ont tout d'abord été testés en utilisant le kit INNO-LIA et 42 échantillons sur 2550 ont réagi positivement. Tous appartiennent à la sous-espèce *Gorilla gorilla gorilla* et sont au Cameroun. Les réactions sont cependant plus faibles que chez l'Homme ou chez les chimpanzés. Les échantillons positifs ont été trouvés dans deux sites différents, 29 à Campo (CP) et 13 à Djoum (DJ), éloignés de 300km l'un de l'autre.

Tous les échantillons positifs ont également été testés de nouveau par Western Blot à l'Université d'Alabama (USA) avant de procéder aux essais de caractérisation de l'ARN viral. Certains échantillons ayant une réaction positive en test Lia, n'ont pas réagi sur les tests WB (CP2095, CP2098).

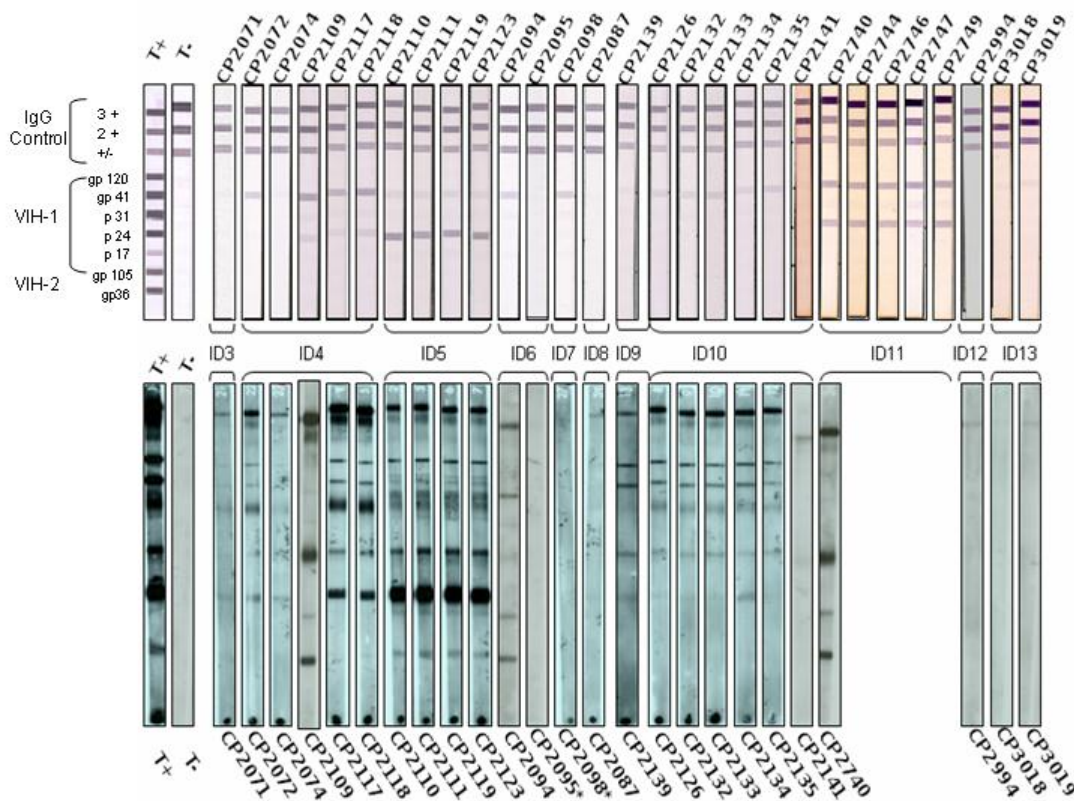


Figure 25 : Réactions aux tests de sérologie Inno Lia (en haut) et Western Blot (en bas) des échantillons de gorilles positifs de Campo Ma'an. La confirmation de ID11 ne s'est faite que sur un seul échantillon, après identification des autres échantillons comme appartenant au même individu.

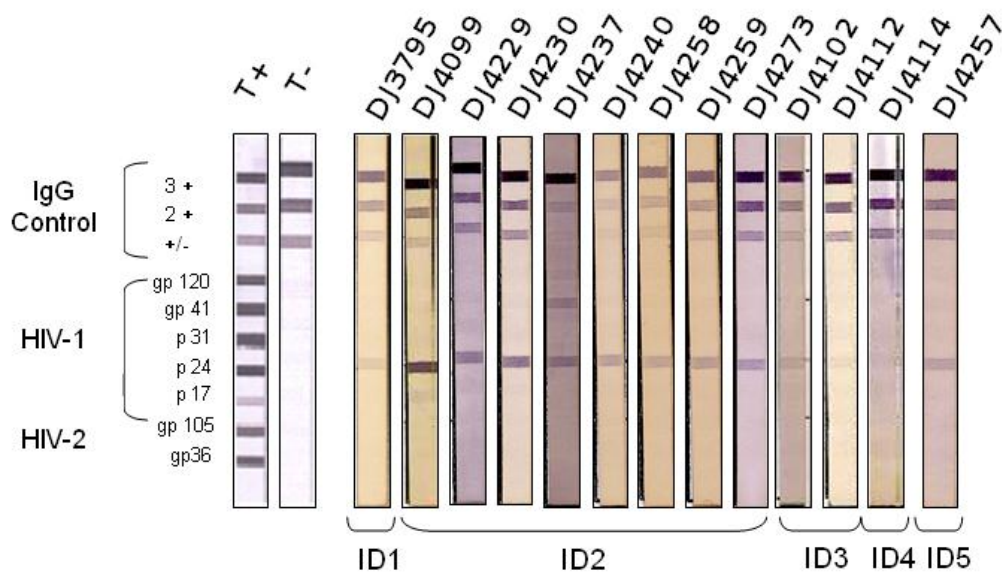


Figure 26 : Réactions aux tests de sérologie Inno Lia des échantillons de gorilles positifs de Djoum

3.2.1.2 Nombre d'individus collectés

Pour chaque échantillon positif, nous avons procédé à une analyse des microsatellites afin de savoir combien d'individus positifs correspondaient à ces 42 échantillons. Les 29 échantillons de Campo correspondent à onze nouveaux gorilles, qui s'ajoutent aux deux femelles précédemment découvertes dans la même zone. Dans le site de Djoum, cinq gorilles correspondent aux treize échantillons.

Nous avons également identifié le sexe des individus, à Campo, nous avons collecté huit femelles et deux mâles. Pour l'un des échantillons, l'ADN était trop dégradé pour nous donner un résultat exploitable. A Djoum, les échantillons correspondent à trois femelles et deux mâles.

N° Labo	Date de collecte	Site de collecte	Identifiant ID	Locus D18S536	Locus D4S243	Locus D10S676	Locus D9S922	Locus D2S1326	Locus D2S1333	Locus D4S1627	Locus D9S905	Genre
CP 456	18/04/04	CP	CPg-ID1 ?	146/150	-	-	-	-	-	236/236	274/278	F
CP 684	18/04/04		CPg-ID1	146/150	185/193	-	-	251/251	298/318	236/236	274/278	F
CP 685	19/04/04			146/150	185/193	-	-	251/251	298/318	236/236	274/278	F
CP 1434	31/03/06	CP	CPg-ID2	150/158	-	-	-	255/267	294/294	236/244	278/278	F
CP 1436	31/03/06			150/158	-	-	-	255/267	294/294	236/244	278/278	F
CP 2071	10/02/07	CP	CPg-ID3	146/150	181/193	196/200	268/280	-	314/334	236/240	278/278	F
CP 2072	10/02/07	CP	CPg-ID4	146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	-	F
CP 2074	11/02/07			146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	-	-	F

CP 2109	11/02/07			146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	274/278	F
CP 2117	11/02/07			146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	-	F
CP 2118	11/02/07			146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	274/278	F
CP 2110	11/02/07	CP	CPg-ID5	146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F
CP 2111	11/02/07			146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F
CP 2119	11/02/07			146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F
CP 2123	11/02/07			146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F
CP 2094	11/02/07	CP	CPg-ID6	146/150	-	196/200	264/280	267/275	322/334	244/-	278/278	F
CP 2095	11/02/07			146/150	-	196/200	264/280	267/275	322/334	-	-	-
CP 2098	11/02/07	CP	CPg-ID7	146/150	185/185	196/200	-	251/-	-	240/244	278/278	F
CP 2087	11/02/07	CP	CPg-ID8	146/150	-	196/200	-	267/271	354/374	232/236	278/278	-
CP 2139	11/02/07	CP	CPg-ID9	146/146	177/189	192/200	276/280	251/271	318/334	228/240	278/278	F
CP 2126	11/02/07	CP	CPg-ID10	146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F
CP 2132	11/02/07			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F
CP 2133	11/02/07			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F
CP 2134	11/02/07			146/154	173/193	180/180	280/280	255/271	298/322	228/232	-	F
CP 2135	11/02/07			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F
CP 2141	11/02/07			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F
CP 2740	08/11/07	CP	CPg-ID11	146/150	181/189	196/200	264/280	-	314/318	236/236	278/278	-
CP 2746	08/11/07			146/150	181/189	196/200	264/280	-	314/318	236/236	278/278	M
CP 2744	08/11/07			146/150	181/189	196/200	264/280	-	314/318	236/236	278/278	M
CP 2747	08/11/07			146/150	181/189	196/200	264/280	-	314/318	236/236	278/278	M
CP 2749	08/11/07			146/150	181/189	196/200	264/280	-	314/318	236/236	278/278	M
CP 2994	21/04/08	CP	CPg-ID12	150/154	185/185	184/196	268/280	267/267	298/306	-	278/278	F
CP3018	21/04/08	CP	CPg-ID13	150/154	185/185	180/180	268/280	-	-	-	-	M
CP3019	21/04/08			150/154	185/185	-	268/280	-	-	-	-	M
DJ3795	28/05/08	DJ	DJg-ID1	146/146	-	200/200	-	271/279	318/318	236/236	294/294	F
DJ4099	09/04/09	DJ	DJg-ID2	146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4229	30/05/09			146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4230	30/05/09			146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4237	30/05/09			146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4240	30/05/09			146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4258	30/05/09			146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4259	31/05/09			146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4273	31/05/09			146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F
DJ4102	09/04/09	DJ	DJg-ID3	146/146	189/193	196/204	264/280	271/275	293/318	232/244	278/278	M
DJ4112	09/04/09			146/146	189/193	196/204	264/280	271/275	293/318	-	278/278	-
DJ4114	09/04/09	DJ	DJg-ID4	146/146	-	192/200	280/280	275/275	298/314	-	282/282	M
DJ4257	30/05/09	DJ	DJg-ID5	146/146	189/193	196/204	264/280	271/275	318/318	232/240	278/278	F
BQ664	09/08/04	BQ	BQg-ID1	150/154	177/193	-	-	263/263	314/322	240/248	278/278	F

Tableau 7 : Identification des différents gorilles collectés. Les microsatellites ont été amplifiés sur 8 loci et le genre. Les échantillons sont identifiés par les deux premières lettres du site de collecte et un numéro unique Les profils ADN identiques sur tous les loci appartiennent au même individu, identifié par les deux lettres du site de collecte, suivi de g pour gorille et d'un numéro d'individu.

3.2.1.3 Prévalence de l'infection chez les gorilles

Comme nous n'avons pas procédé à l'identification de tous les individus collectés, la prévalence a été estimée à partir du nombre d'échantillons collectés et ajustée en fonction des échantillonnages multiples d'un même individu, des fèces dégradées et de la mauvaise identification de l'espèce sur le terrain. Le SIV étant une infection chronique, la présence d'anticorps anti-SIV reflète la présence du virus. La séroprévalence permet alors de définir la prévalence.

Le nombre moyen d'échantillons dégradés a été calculé en fonction des tests de sérologie montrant la présence ou non d'IgG : 93% étaient exploitables (présence d'IgG) et ont été inclus dans notre étude. Dans 97,5% des cas, l'identification de l'espèce sur le terrain était correcte. En moyenne, à partir des individus identifiés par analyse de l'ADN, nous avons constaté que nous collections 1,7 fois le même individu. En effet, nous avons procédé à l'analyse microsatellite d'une partie des échantillons négatifs afin d'évaluer le taux de ré échantillonnage du même individu (72 échantillons / 42 individus).

En fonction de ces données, l'estimation de la prévalence (P) a été calculée comme suit :

Nombre d'échantillons non dégradés (Nd) = (93/100) Nombre d'échantillon collectés (Nc)

Nombre d'échantillons bien identifiés sur le terrain et non dégradés (Ni) = (97,5/100) x (Nc)

Estimation du nombre de gorilles collectés au total = (Ni) / 1,7

Tous les échantillons positifs ont été identifiés et donc nous pouvions calculer les prévalences en fonction du nombre exact de gorilles positifs par rapport au nombre estimé d'individus collectés au total. Afin d'estimer les prévalences par site, tous les échantillons collectés depuis le début du projet en 2003 ont été pris en compte, afin de pouvoir réajuster les prévalences calculées précédemment sur les sites où nous sommes retournés.

A partir de ces calculs, les prévalences estimées sont de **3,2 %** (0,6 – 16,2) pour **BQ** avec un échantillon positif sur 58, **4,6 %** (2,7 – 7,8) pour **CP**, avec 525 échantillons, dont 32 positifs, correspondant à 13 individus et enfin **4,6 %** (0,9 – 7,7) à **DJ** avec 13 échantillons positifs sur 206 et 5 individus différents.

Ces estimations ont été calculées en fonction des individus identifiés à ce jour et seront donc susceptibles d'évoluer. En effet, lorsque le nombre d'individus identifiés augmente, le nombre d'échantillons collectés par individu peut varier.

Ce n'est que dans deux sites que des nouveaux gorilles positifs ont été retrouvés. Dans le site de Djoum, ce sont les premiers gorilles positifs découverts. Dans le site de Campo Ma'an, ceux-ci se rajoutent aux deux gorilles infectés précédemment identifiés. Au total, il a

été trouvé jusqu'à maintenant, trois sites où apparaît l'infection SIVgor (DJ, CP et BQ) et un site où existe une forte présomption de présence d'un gorille infecté (GB).

3.2.2 Prévalence chez les chimpanzés

3.2.2.1 Sérologie

Nous avons collecté depuis juin 2006, 442 fèces de chimpanzés supplémentaires par rapport aux études précédentes. Elles ont été testées en sérologie par le test INNO LIA, puis WB, et nous avons trouvé 16 nouveaux échantillons positifs. Ils sont situés dans quatre sites distincts : neuf dans le Parc National de Campo Ma'an (CP), quatre à Djoum (DJ), un à Mboy (BY) et deux nouveaux échantillons à Mambélé (MB), où a été découvert le réservoir du VIH-1 groupe M.

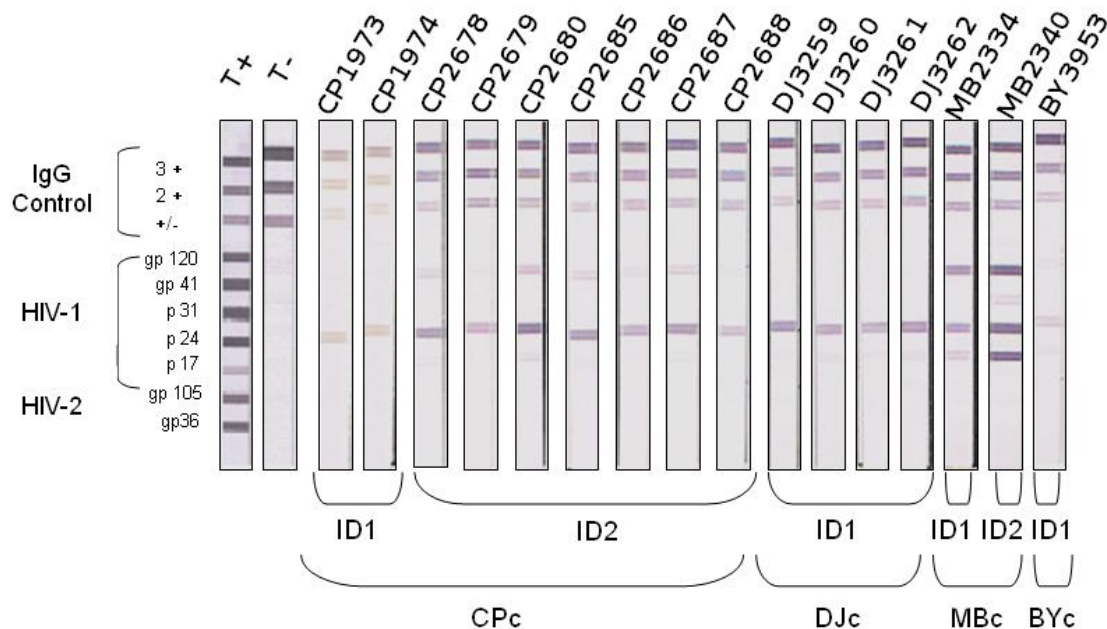


Figure 27 : Réactions aux tests de sérologie Inno Lia des échantillons de chimpanzés positifs de Campo (CP), Djoum (DJ), Mambélé (MB) et Mboy (BY)

3.2.2.2 Nombre d'individus collectés

Les analyses des microsatellites révèlent que les neuf échantillons de Campo appartiennent à seulement deux individus différents. On retrouve deux chimpanzés positifs à Mambélé sur les deux échantillons, un seul individu à Djoum et un autre à Mboy. Le genre n'a été déterminé que pour deux chimpanzés, l'un vient de CP (Femelle) et l'autre de Djoum (Mâle). L'ADN du second individu de Campo était trop dégradé pour que l'analyse du genre donne des résultats satisfaisants.

N° Labo	Date de collecte	Site de collecte	Identifiant ID	Locus D18S536	Locus D4S243	Locus D10S676	Locus D9S922	Locus D2S1326	Locus D2S1333	Locus D4S1627	Locus D9S905	Genre
CP 1973	17/12/06	CP	CPC-ID1	154/166	225/225	168/180	273/295	-	-	-	-	-
CP 1974	17/12/06			154/166	225/225	168/180	-	-	-	-	-	-
CP 2678	28/08/07	CP	CPC-ID2	171/171	221/245	168/180	292/304	223/251	318/326	224/232	286/286	F
CP 2679	28/08/07			171/171	221/245	168/180	292/304	223/251	318/326	224/232	286/286	F
CP 2680	28/08/07			171/171	221/245	168/180	292/304	223/251	318/326	224/232	286/286	F
CP 2685	28/08/07			171/171	221/245	168/180	292/304	223/251	318/326	224/232	286/286	F
CP 2686	28/08/07			171/171	221/245	168/180	292/304	223/251	318/326	224/232	286/286	F
CP 2687	28/08/07			171/171	221/245	168/180	292/304	223/251	318/326	224/232	286/286	F
CP 2688	28/08/07			171/171	221/245	168/180	292/304	223/251	318/326	224/232	286/286	F
DJ 3259	28/05/08	DJ	DJc-ID1	158/170	197/229	184/184	288/292	235/243	314/318	216/224	286/290	M
DJ 3260	28/05/08			158/170	197/229	184/184	288/292	235/243	314/318	216/224	286/290	M
DJ 3261	28/05/08			158/170	197/229	184/184	288/292	235/243	314/318	216/224	286/290	M
DJ 3262	28/05/08			158/170	197/229	184/184	288/292	235/243	314/318	216/224	-	M
MB 2334	11/04/07	MB	MBc-ID1	146/154	225/225	176/188	296/304	-	-	-	-	-
MB 2340	11/04/07	MB	MBc-ID2	158/158	245/245	168/176	304/316	-	-	-	-	-
BY 3953	18/01/09	BY	BYc-ID1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 8 : Identification des différents chimpanzés collectés. Les échantillons sont identifiés par les deux premières lettres du site de collecte et un numéro unique. Les profils ADN identiques sur tous les loci appartiennent au même individu, identifié par les deux lettres du site de collecte, suivi de c pour chimpanzé et d'un numéro d'individu.

3.2.2.3 Prévalence de l'infection chez les chimpanzés

L'évaluation des prévalences de l'infection n'a pas pu être calculée pour le site de BY puisqu'un seul échantillon de chimpanzé a été collecté dans cet endroit. Pour les autres sites, le calcul s'est fait sur la base de 1,7 échantillons par individus [118], comme expliqué précédemment. A Campo (**CP**), sur 232 échantillons, nous avons trouvé une prévalence de **1,6%** (0,4 – 5,7). A Djoum (**DJ**), seuls dix-sept échantillons ont été prélevés, ce qui nous donne une estimation de prévalence de l'infection de **11%** (2 – 43,5). A Mambélé (**MB**), les deux nouveaux chimpanzés positifs sur les quatorze échantillons collectés, donne dorénavant une prévalence de **31,6%** (20,7 – 44,8), proche de celle précédemment évaluée à 35,3% [109]

3.2.3 Prévalences et distributions comparées du SIV chez les deux sous-espèces *Ptt* et *Ggg*

En prenant en compte tous les échantillons de gorilles (2239) et de chimpanzés (1217) collectés depuis 2004 au Cameroun, nous avons testé 3456 fèces de grands singes. Au total, 90 échantillons de chimpanzés et 48 de gorilles ont été positifs en sérologie correspondant respectivement à 38 et 19 individus. Un total de 27 sites ont été prospectés

dans ce pays et dans 10 d'entre eux, nous avons trouvé des chimpanzés positifs pour le SIVcpz alors que les gorilles positifs se concentrent uniquement dans 3 sites (peut-être 4).

La prévalence moyenne de l'infection chez **les chimpanzés** est de **5,9%** (4,3 – 7,9) et de **1,6%** (1,0 – 2,4) pour **les gorilles**. Elle est donc significativement plus importante chez les chimpanzés ($z = 5,05$; $p < 0,0001$ one-tailed).

Chez les gorilles, 14 femelles positives ont été collectées pour 4 mâles, un individu étant de genre inconnu. Pour les chimpanzés, le genre n'a pas été déterminé pour les échantillons collectés en 2005 [110], mais pour les autres, sur 20 individus positifs identifiés, dix sont des femelles, huit sont des mâles et deux n'ont pas été identifiés [109].

Aucune présence de l'infection n'a été détectée chez la sous-espèce *Gorilla gorilla diehli*, au nord de la rivière Sanaga, mais le nombre d'échantillons (21) est relativement faible. De même, la sous-espèce *Pan troglodytes ellioti* ne semble pas infectée, malgré les 80 échantillons collectés.

Sites de collecte	Ech. de Chimpanzés	Nb d'éch. positifs en sérologie	Nb de chimpanzés positifs en sérologie	Nb de chimpanzés positifs en PCR	Prévalence du SIVcpz chez les chimpanzés (95% CI)	Ech. de gorilles	Nb ech. positifs en sérologie	Nb de gorilles positifs en sérologie	Nb de gorilles positifs en PCR	Prévalence du SIVgor chez les gorilles (95% CI)
WE	25	0	0	0	0.0% (0.0 – 22.8)	1	0	0	0	-
MT	81	10	2	2	5.4% (1.0 – 16.0)	0	-	-	-	-
DG	29	0	0	0	0.0% (0.0 – 20.4)	25	0	0	0	0.0% (0.0 – 22.8)
DP	160	17	4	4	4.7% (1.8 – 11.5)	16	0	0	0	0.0% (0.0 – 29.9)
BQ	142	0	0	0	0.0% (0.0 – 4.8)	58	1	1	1	3.2% (0.6 – 16.2)
EK	46	6	4	4	16.3% (6.4 – 34.7)	12	0	0	0	0.0% (0.0 – 39.0)
BB	34	0	0	0	0.0% (0.0 – 17.6)	7	0	0	0	-
MB	101	31	17	16	31.6% (20.7 – 44.8)	119	0	0	0	0.0% (0.0 – 5.8)
LB	38	5	5	4	24.7% (11.2 – 46.9)	207	0	0	0	0.0% (0.0 – 3.4)
CP	232	9	2	2	1.6% (0.4 – 5.7)	525	34	13	7	4.6% (2.7 – 7.8)
TK	1	0	0	0	-	21	0	0	0	0.0% (0.0 – 25.9)
MF	39	0	0	0	0.0% (0.0 – 15.5)	0	-	-	-	-
MP	15	0	0	0	0.0% (0.0 – 32.5)	0	-	-	-	-
MG	24	0	0	0	0.0% (0.0 – 22.8)	0	-	-	-	-
KG	15	0	0	0	0.0% (0.0 – 32.5)	15	0	0	0	0.0% (0.0 – 32.5)
SL	44	5	1	1	4.3% (0.8 – 21.0)	0	-	-	-	-
BM	38	2	1	1	4.9% (0.9 – 23.6)	1	0	0	0	-
NK	8	0	0	0	-	25	0	0	0	0.0% (0.0 – 22.8)
LM	62	0	0	0	0.0% (0.0 – 10.4)	293	0	0	0	0.0% (0.0 – 2.4)
MM	0	-	-	-	-	152	0	0	0	0.0% (0.0 – 4.5)
GB	4	0	0	0	-	85	0	0	0	0.0% (0.0 – 7.9)
KK	1	0	0	0	-	18	0	0	0	0.0% (0.0 – 27.8)
DJ	17	4	1	1	11.0% (2.0 – 43.5)	206	13	5	3	4.6% (0.9 – 7.7)
DI	55	0	0	0	0.0% (0.0 – 11.7)	0	-	-	-	-
AL	0	-	-	-	-	46	0	0	0	0.0% (0.0 – 13.3)
BY	1	1	1	0	-	147	0	0	0	0.0% (0.0 – 4.7)
DD	5	0	0	0	-	260	0	0	0	0.0% (0.0 – 2.6)
Total	1217	90	38	35	5.9% (4.3 – 7.9)	2239	48	19	11	1.6% (1.0 – 2.4)

Tableau 9 : Calcul des prévalences de l'infection SIVcpz et SIVgor dans les différents sites de collecte (de 2003 à 2009), entre parenthèses l'intervalle de confiance (95%).

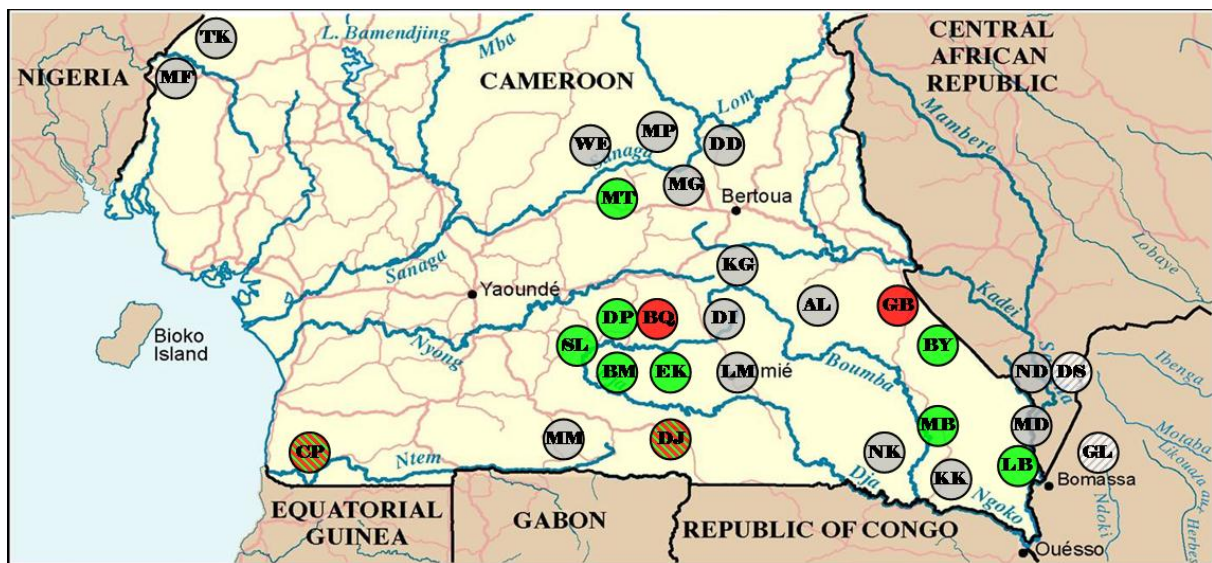


Figure 28 : Distribution du SIVgor et SIVcpz au Cameroun et dans des sites frontaliers. En vert, les sites où ont été identifiés des chimpanzés positifs, en rouge les sites où ont été identifiés des gorilles positifs. Les sites en rouge et verts hachurés sont les sites de présence de l'infection chez les deux espèces.

3.3- Diversité génétique des SIV chez les grands singes

3.3.1 Amplification de l'ARN viral

Pour chaque échantillon positif collecté, nous avons procédé à des essais d'amplification de l'ARN viral

Sur les 42 nouveaux échantillons positifs de gorilles, seuls 19 virus ont pu être caractérisés, ils appartiennent à huit individus différents. Les amplifications ont été faites sur deux régions dans *pol*, (*Spol* et *minipol*), *gp41* et *gag*. La caractérisation des virus a pu être faite pour six échantillons sur *pol*, seize sur *minipol* et quinze sur *gp41*, ainsi que cinq sur *gag*. Ces séquences viennent s'ajouter à celles des trois femelles positives précédemment isolées [53]. Pour trois virus provenant du site de Campo Ma'an, le génome complet a été obtenu (CP684, CP2139, CP2135).

Concernant les chimpanzés, l'ARN viral a pu être caractérisé pour dix nouveaux échantillons sur les seize découverts positifs en sérologie, huit sur *minipol*, trois sur *pol*, quatre sur *gp41* et un sur *gag*. Pour l'échantillon trouvé sur le site BY, l'amplification n'a pas réussi malgré de nombreux essais.

Echantillon			Sérologie		Amplification du virion SIVgor ou SIVcpz (pb)					
Echantillon	Individu ID	Lieu	analyse INNO-Lia	analyse W.B.	gag	Spol	Minipol	gp41	gp41/nef	FL
<u>Gorilles</u>										
CP 456	CPg-ID1	CP	Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 684			Pos	Pos	1106	330	220	394	737	9143
CP 685			Pos	Pos	-	280	-	394	-	
CP 1434	CPg-ID2	CP	Pos	Pos	-	-	-	388	-	
CP 1436			Pos	Pos	1117	-	-	-	738	
CP 2071	CPg-ID3	CP	Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2072	CPg-ID4	CP	Pos	Pos	-	-	202	394	-	
CP 2074			Pos	Pos	-	-	202	394	-	
CP 2109			Pos	Pos	-	-	202	-	-	
CP 2117			Pos	Pos	-	306	202	442	-	
CP 2118			Pos	Pos	1071	-	202	412	-	
CP 2110	CPg-ID5	CP	Pos	Pos	-	-	-	290	-	
CP 2111			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2119			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2123			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2094	CPg-ID6	CP	Pos	Pos	-	-	202	-	-	
CP 2095			Pos	Neg	-	-	-	-	-	
CP 2098	CPg-ID7	CP	Pos	Neg	-	-	-	-	-	
CP 2087	CPg-ID8	CP	Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2139	CPg-ID9	CP	Pos	Pos	1069	330	220	394	737	9252
CP 2126	CPg-ID10	CP	Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2132			Pos	Pos	-	306	202	412	-	
CP 2133			Pos	Pos	1069	286	202	394	-	
CP 2134			Pos	Pos	-	-	202	-	-	
CP 2135			Pos	Pos	1069	330	220	394	737	9246
CP 2141			Pos	Pos	nd	nd	nd	nd	nd	
CP 2740	CPg-ID11	CP	Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2744			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2746			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2747			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2749			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 2994	CPg-ID12	CP	Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 3018	CPg-ID13	CP	Pos	Pos	-	-	-	-	-	
CP 3019			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
DJ 3795	DJg-ID1	DJ	Pos	Pos	-	-	-	409	-	
DJ4099	DJg-ID2	DJ	Pos	Pos	-	328	240	287	-	
DJ4229			Pos	Pos	-	-	-	323	-	
DJ4230			Pos	Pos	-	-	-	-	-	
DJ4237			Pos	Pos	-	-	285	435	-	

DJ4240			Pos	Pos	-	-	-	-	-
DJ4258			Pos	Pos	-	-	257	377	-
DJ4258			Pos	Pos	-	-	252	299	-
DJ4273			Pos	Pos	-	-	-	-	-
DJ4102	DJg-ID3	DJ	Pos	Pos	-	-	-	-	-
DJ4112			Pos	Pos	-	245	-	-	-
DJ4114	DJg-ID4	DJ	Pos	Pos	-	-	-	-	-
DJ4257	DJg-ID5	DJ	Pos	Pos	-	-	-	-	-
BQ 664	BQg-ID1	BQ	Pos	Pos	1126	892	-	394	-

Chimpanzés

CP 1973	CPc-ID1	CP	Pos	Pos	-	232	202	-	-
CP 1974			Pos	Pos	-	232	202	-	-
CP 2678	CPc-ID2	CP	Pos	Pos	-	-	202	-	-
CP 2679			Pos	Pos	-	-	-	-	-
CP 2680			Pos	Pos	-	-	202	-	-
CP 2685			Pos	Pos	-	-	202	-	-
CP 2686			Pos	Pos	-	-	202	-	-
CP 2687			Pos	Pos	-	-	202	1260	-
CP 2688			Pos	Pos	-	-	-	-	-
CP 2689			Pos	Pos	-	-	-	-	-
DJ 3259	DJc-ID1	DJ	Pos	Pos	-	-	-	-	-
DJ 3260			Pos	Pos	-	-	-	-	-
DJ 3261			Pos	Pos	1101	-	245	429	-
DJ 3262			Pos	Pos	-	-	-	-	-
MB 2334	MBc-ID1	MB	Pos	Pos	-	-	-	404	-
MB 3240	MBc-ID2	MB	Pos	Pos	-	328	-	381	-
BY 3953	BYc-ID1	BY	Pos	-	-	-	-	-	-

Tableau 10 : Résultats de sérologie et d'amplification de fragments de l'ARN viral pour les échantillons positifs collectés.

3.3.2 Phylogénie des nouveaux virus SIVgor

Afin de comparer la diversité génétique de ces nouveaux virus avec les précédents SIVgor, SIVcpz et VIH-1, nous avons procédé à une analyse phylogénétique sur *pol* (286 paires de bases) et *gp41* (355pb). Dans les deux arbres, les nouveaux virus SIVgor caractérisés se regroupent avec les précédents SIVgor, avec les VIH-1 groupe O et le VIH-1 groupe P. Ce dernier est plus proche des SIV de gorilles que le VIH-1 groupe O. Les virus provenant de sites différents (CP, DJ et BQ), forment des groupes séparés.

Les nouveaux échantillons de chimpanzés dont l'ARN viral a pu être caractérisé sont inclus dans l'arbre phylogénétique contenant les nouveaux gorilles de Campo Ma'an. Les chimpanzés retrouvés à MB forment un cluster avec ceux découverts précédemment et sont donc porteurs des virus précurseurs du VIH-1 groupe M.

Le virus découvert chez le chimpanzé de Djoum fait partie de la lignée des SIVcpz-*Ptt*. Il en est de même pour celui de Campo.

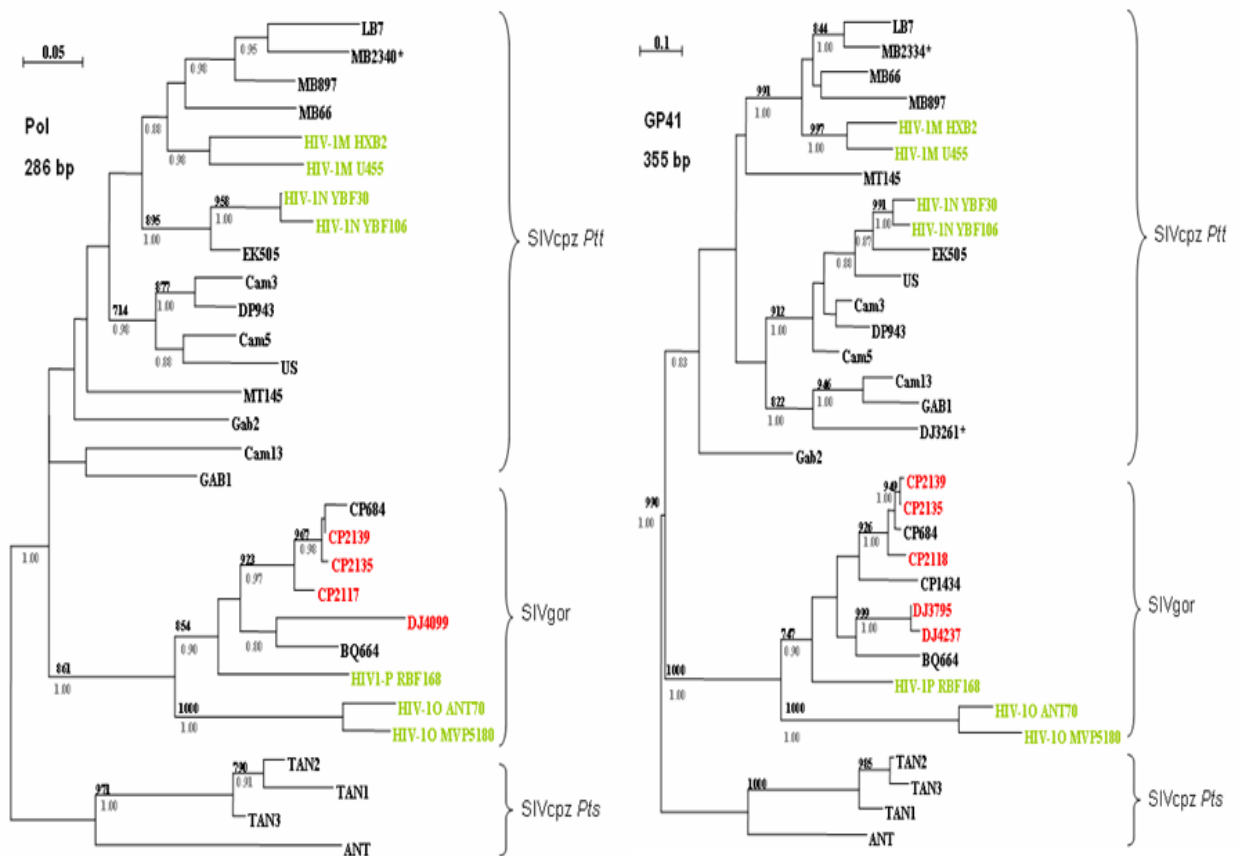


Figure 29 : Arbres phylogénétiques représentant des fragments du gène *pol* et *gp41* pour les quatre groupes de VIH-1 (en vert), les SIVcpz (en noir) et les nouveaux SIVgor découverts (en rouge). * : SIVcpz des nouveaux échantillons de chimpanzés

4- DISCUSSION

4.1- Prévalence des infections SIV chez les chimpanzés Ptt et les Gorilles Ggg au Cameroun

Cette étude a pour premier objectif de déterminer l'étendue de l'infection SIVgor chez les gorilles en terme de prévalence et de distribution. Trois sous-espèces de gorilles ont été testées. Ce n'est que chez la sous-espèce *Gorilla gorilla gorilla* que cette infection a été trouvée. La prévalence estimée est globalement moins importante que chez les chimpanzés (1,6% contre 5,9%), en ce qui concerne le nombre d'individus, mais également le nombre de sites touchés par l'infection. Dans le Parc national de Campo Ma'an, à l'extrême sud-ouest

du Cameroun se trouve le site où le plus grand nombre de gorilles positifs a été découvert, avec une prévalence de l'infection de 4,6%. Dans le site de « Belgique », à la périphérie nord de la réserve de Biosphère du Dja, aucun nouvel individu n'a été trouvé. Un site entièrement nouveau, Djoum, à la périphérie sud de la réserve du Dja, fait état d'une prévalence identique à celle de CP. Dans le site de Gribi, à la frontière avec la République Centrafricaine, nous n'avons pas trouvé de gorilles positifs qui auraient pu confirmer la présence de SIVgor suite au test positif du gorille braconné en 2004.

Chez les chimpanzés, nous avons découvert trois nouveaux sites d'infection Campo Ma'an Djoum et Mboy avec des prévalences respectives de 1,6 % et 11% pour CP et DJ.

Clairement, la prévalence est plus importante chez les chimpanzés que chez les gorilles au Cameroun, cependant, il n'est pas à exclure que d'autres sites non prospectés notamment dans les pays limitrophes montrent une plus grande prévalence du SIVgor. Contrairement à l'infection chez les chimpanzés, qui semble répartie sur une grande partie de l'habitat de cette sous-espèce, le SIVgor apparaît seulement dans quelques sites, mais éloignés les uns des autres, suggérant une dynamique d'infection différente, en terme de propagation du virus au sein des deux espèces.

Ces résultats confirment que la transmission inter-espèces du SIV du chimpanzé au gorille, a été suivie par une transmission intra espèce et que ce virus est ensuite devenu endémique à la sous-espèce *Gorilla gorilla gorilla*.

Cependant, même si la sensibilité des tests utilisés en sérologie sur les fèces n'a pas pu être calculée, puisque qu'il est impossible de confirmer le statut de chaque gorille testé et qu'il n'existe aucun gorille positif en captivité, les réactions sur Inno-Lia sont moins fortes que pour les infections humaines ou chez les chimpanzés. De plus, deux des échantillons (CP2095, CP2098) n'ont pas montré de réaction positive sur le test Western Blot. L'échantillon CP2095 appartient pourtant au même individu que l'échantillon CP2094 pour lequel une séquence de l'ARNv a été caractérisée. Cet individu est donc infecté par le SIVgor mais tous ses échantillons ne réagissent pas positivement aux tests sérologiques. On ne peut donc pas exclure que les prévalences soient sous-estimées car le diagnostic sérologique n'est peut-être pas optimal.

4.2- Diversité génétique et phylogéographie des SIVcpz et SIVgor au Cameroun

Tous les virus identifiés chez les gorilles forment un groupe monophylétique indépendant des SIVcpz et semblent également moins divers.

Les sites où ont été découvert des infections chez les gorilles sont relativement éloignés les uns des autres (CP-DJ = 300 km ; CP-BQ = 400 km ; BQ-DJ = 80 km), le 4^{ème} site possible, GB, se trouve à 600 km de CP et 300 km de BQ et DJ. Ceci laisse supposer que le SIVgor existe dans toute l'aire de répartition des *Ggg*. Cependant il semble y avoir des foyers d'infection assez localisés. En effet, seuls trois sites sur 21 (15%) dans lesquels nous avons collecté des échantillons de gorilles montrent la présence d'une infection SIVgor, contre 40% (10/25) pour le SIVcpz chez les chimpanzés. A l'intérieur de la Réserve du Dja, ainsi qu'à l'Est, nous n'avons pas trouvé de gorilles porteurs de SIV, suggérant que la rivière pourrait servir de barrière à l'infection. Cependant, dans deux sites, l'un d'eux situé entre CP et DJ (AM) et l'autre, à l'est de DJ, (NG) nous n'avons également pas trouvé de trace d'infection SIVgor, malgré 104 et 167 échantillons. Ces sites ne sont pourtant pas séparés des autres par une rivière. (Données non publiées)

Les différents virus forment des clusters en fonction de leur origine géographique, mais leur diversité semble moindre, comparée à celle constatée chez les chimpanzés. Nous n'avons pas trouvé à l'échelle du Cameroun, de population isolée portant un SIVgor très divergent, ni de cas de co-circulation de virus divergents dans une même zone géographique. Ceci est un argument supplémentaire suggérant que le SIVgor est un virus plus récent que le SIVcpz. De même nous n'avons pas trouvé de virus plus proche des VIH-1 groupes O et P chez les gorilles et la question reste donc entière sur le(s) réservoir(s) de ces deux virus.

Chez les chimpanzés, l'étude de la phylogéographie des virus a montré que les communautés de chimpanzés portant les précurseurs des VIH-1 groupe M semblent être limitées au sud-est du Cameroun, sur une surface d'environ 100 km² et les nouveaux virus découverts dans la même zone confirment ce résultat.

Des épisodes de recombinaisons ont également été mis en évidence chez les chimpanzés. Cependant, logiquement, les rivières semblent avoir joué un rôle majeur dans la diversité des SIVcpz. Les précurseurs du VIH-1 groupe N ne se trouvent qu'au sud de la rivière du Dja, à l'intérieur de la Réserve et les virus découverts de l'autre côté de cette rivière (au nord) sont divergents.

Les échantillons précédemment testés au sud-est du Cameroun, de l'autre côté de la rivière Boumba étaient négatifs, à quelques kilomètres du site MB. Cette étude a fait l'objet d'une publication dans *Virology* en 2007. Les derniers échantillons collectés dans cette nouvelle étude en République Centrafricaine (49 fèces) sont également tous négatifs. Ils se situent de l'autre côté de la rivière Sangha, à quelques kilomètres du site LB. Ceci laisse donc supposer que les communautés de chimpanzés réservoirs du VIH-1 groupe M représentent une population relativement isolée au Cameroun.

Les nouveaux chimpanzés positifs ont été découverts plus à l'ouest du Cameroun, notamment à l'extrême Sud-Ouest (CP) dans des sites où l'infection n'avait pas encore été détectée. Ces virus se regroupent dans la lignée des SIVcpz. On constate donc que de nombreuses communautés de chimpanzés sont infectées par divers SIVcpz sur toute la surface de leur aire de répartition au Cameroun.

4.3- Les transmissions inter-espèces

4.3.1 Transmission entre les grands singes

Nous avons trouvé trois sites de présence de l'infection SIV chez les gorilles et chez les chimpanzés, il s'agit de DJ, CP, ainsi que des sites DP et BQ qui sont éloignés l'un de l'autre d'une quinzaine de kilomètres seulement.

A Campo, les échantillons de chimpanzés positifs étaient éloignés de six et quinze kilomètres de l'endroit où la plupart des gorilles positifs ont été retrouvés. A DP/BQ, les deux espèces ont été trouvées à 10km de distance. A Djoum, elles étaient éloignées de 7km. Ces différentes distances et le fait qu'il n'existe pas de barrière naturelle entre les endroits où ont été trouvées les fèces de chimpanzés et de gorilles, rendent possibles et envisageables les rencontres entre les deux espèces infectées dans ces trois zones, et donc des transmissions inter-espèces. Cependant, les virus caractérisés dans tous les cas diffèrent les uns des autres. Ce n'est donc apparemment pas dans ces lieux (ou pas récemment) qu'a eu lieu la transmission entre le chimpanzé et le gorille, bien qu'un plus grand nombre d'échantillons soit nécessaire pour vérifier cette hypothèse. En réalité, aucun des virus découverts chez les gorilles ne se regroupe directement avec ceux des chimpanzés et inversement. Il est donc possible que la transmission concernée ait eu lieu dans d'autres pays de l'aire de répartition des *Ggg* et *Ptt*. Ces résultats montrent que ce genre de transmissions semble être un événement assez rare entre ces deux espèces. Cela tend à confirmer que leurs rencontres sont généralement tolérantes ; dans le cas contraire, on peut imaginer qu'un plus grand nombre de SIV différents ait été transmis entre gorilles et chimpanzés.

4.3.2 Transmission des grands singes à l'Homme

De tous les virus SIVgor retrouvés au Cameroun, aucun n'est le précurseur des VIH-1 groupes O ou P, même s'ils en restent les plus proches trouvés jusqu'à aujourd'hui. En effet, aucun des virus de chimpanzés ne se branche avec ces virus humains.

L'origine du VIH-1 groupe O n'a donc pas encore été découvert et il n'est toujours pas possible de déterminer si le chimpanzé a transmis ce virus indépendamment au gorille et à l'Homme ou s'il l'a transmis au gorille qui l'aurait ensuite transmis à l'Homme. Il est possible que le virus précurseur du VIH-1 groupe O se trouve dans un autre pays limitrophe au Cameroun, dans l'aire de répartition des *Ggg* et *Ptt*. Il faut savoir que les plus grandes prévalences de ce virus chez l'homme ont été trouvées au Cameroun, au Gabon et en Guinée Equatoriale. Aujourd'hui, seul le Cameroun a fait l'objet de cette étude approfondie sur les SIV de grands singes en milieu naturel.

Une autre hypothèse serait qu'il ait disparu, cependant, si ce virus est passé dans la population humaine aux alentours des années 1920, il aurait fallu, depuis cette période, une éradication totale du virus chez l'espèce porteuse de ce précurseur en moins d'un siècle. Sachant que ce virus se transmet probablement entre les individus, que ce soit chez les gorilles ou chez les chimpanzés, cette disparition totale n'aurait pu se faire que dans le cas d'une baisse très importante et très rapide de la population de l'hôte (ex : épidémie d'ébola). De plus, les différents variants existant chez les chimpanzés révèlent une histoire complexe des SIV chez ces espèces, avec des recombinaisons dues à des co-infections, ainsi que des prévalences élevées. Il semble probable que l'ancêtre du SIVgor, même s'il a disparu, ait laissé des traces de son génome chez certains chimpanzés, ce qui nous permettrait de retracer l'histoire de VIH-1 groupe O. Les premières études semblent d'ailleurs suggérer que des parties de génomes de SIVcpz sont proches du SIVgor [123].

Récemment, un autre groupe de VIH-1 a été découvert, il s'agit du groupe P. Pour l'instant, deux cas seulement ont été répertoriés, chez des patients camerounais [19-20]. Ce virus forme un cluster avec les SIVgor que nous avons caractérisés bien qu'ils ne soient pas les précurseurs directs de ce nouveau virus. Une autre transmission inter-espèces a donc eu lieu et qui a donné naissance à un nouveau variant dans la population humaine. Ceci démontre donc l'importance des études sur les SIV en milieu naturel.

5 - PUBLICATIONS

3) Takehisa J, Kraus MH, Ayoub A, Bailes E, Van Heuverswyn F, Decker JM, Li Y, Rudicell RS, Learn GH, **Neel C**, Ngole EM, Shaw GM, Peeters M, Sharp PM, Hahn BH.

Origin and biology of simian immunodeficiency virus in wild-living western gorillas.

J VIROL. 2009 FEB; 83 (4):1635-48. EPUB 2008 DEC 10.

4) **Néel C.**, Etienne L, Li Y, Takehisa J, Rudicell RS, Bass IN, Moudindo J, Mebenga A, Esteban A, Van Heuverswyn F, Liegeois F, Kranzusch PJ, Walsh PD, Sanz CM, Morgan DB, Ndjango JB, Plantier JC, Locatelli S, Gonder MK, Leendertz FH, Boesch C, Todd A, Delaporte E, Mpoudi-Ngole E, Hahn BH, Peeters M.

Molecular epidemiology of simian immunodeficiency virus infection in wild-living gorillas.

J VIROL. 2010 FEB;84 (3):1464-76. EPUB 2009 NOV 11.

Origin and Biology of Simian Immunodeficiency Virus in Wild-Living Western Gorillas[†]

Jun Takehisa,¹ Matthias H. Kraus,¹ Ahidjo Ayoub,² Elizabeth Bailes,³ Fran Van Heuverswyn,²
Julie M. Decker,¹ Yingying Li,¹ Rebecca S. Rudicell,⁶ Gerald H. Learn,¹ Cecile Neel,^{2,4}
Eitel Mpoudi Ngole,⁴ George M. Shaw,^{1,6} Martine Peeters,² Paul M. Sharp,⁵
and Beatrice H. Hahn^{1,6*}

Departments of Medicine¹ and Microbiology,⁶ University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama 35294; Institut de Recherche pour le Développement (IRD) and Department of International Health, University of Montpellier 1, 34394 Montpellier Cedex 5, France²; Institute of Genetics, University of Nottingham, Queens Medical Centre, Nottingham NH7 2UH, United Kingdom³; Projet Prévention du Sida au Cameroun (PRESICA), Yaoundé, Cameroon⁴; and Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh EH9 3JT, United Kingdom⁵

Received 4 November 2008/Accepted 2 December 2008

Western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) are infected with a simian immunodeficiency virus (SIVgor) that is closely related to chimpanzee and human immunodeficiency viruses (SIVcpz and HIV-1, respectively) in west central Africa. Although existing data suggest a chimpanzee origin for SIVgor, a paucity of available sequences has precluded definitive conclusions. Here, we report the molecular characterization of one partial (BQ664) and three full-length (CP684, CP2135, and CP2139) SIVgor genomes amplified from fecal RNAs of wild-living gorillas at two field sites in Cameroon. Phylogenetic analyses showed that all SIVgor strains clustered together, forming a monophyletic lineage throughout their genomes. Interestingly, the closest relatives of SIVgor were not SIVcpzPtt strains from west central African chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*) but human viruses belonging to HIV-1 group O. In trees derived from most genomic regions, SIVgor and HIV-1 group O formed a sister clade to the SIVcpzPtt lineage. However, in a tree derived from 5' *pol* sequences (~900 bp), SIVgor and HIV-1 group O fell within the SIVcpzPtt radiation. The latter was due to two SIVcpzPtt strains that contained mosaic *pol* sequences, pointing to the existence of a divergent SIVcpzPtt lineage that gave rise to SIVgor and HIV-1 group O. Gorillas appear to have acquired this lineage at least 100 to 200 years ago. To examine the biological properties of SIVgor, we synthesized a full-length provirus from fecal consensus sequences. Transfection of the resulting clone (CP2139.287) into 293T cells yielded infectious virus that replicated efficiently in both human and chimpanzee CD4⁺ T cells and used CCR5 as the coreceptor for viral entry. Together, these results provide strong evidence that *P. t. troglodytes* apes were the source of SIVgor. These same apes may also have spawned the group O epidemic; however, the possibility that gorillas served as an intermediary host cannot be excluded.

Simian immunodeficiency viruses (SIVs) are known to naturally infect at least 40 different species of nonhuman primates in Sub-Saharan Africa (9, 72). Although each of these primate species harbors a genetically distinct lineage of SIV, phylogenetic evidence indicates that SIVs have crossed species boundaries on numerous occasions in the past (5, 6, 30, 57). Until recently, SIV cross-species transmissions could be detected only by analyzing blood samples coincident with the capture or killing of primates (10, 32, 73). However, the development of noninvasive viral detection methods has transformed the way infectious agents, including SIV, can be studied in wild-living primate populations (33, 38, 51–54, 70). For example, systematic testing of fecal samples from wild-living chimpanzees (*Pan troglodytes*) for viral nucleic acids and antibodies traced the origin of pandemic (group M) and nonpandemic (group N)

human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) to distinct chimpanzee communities in south-central and southeastern Cameroon, respectively (33). Noninvasive surveys also uncovered a new SIV lineage in wild-living gorillas (*Gorilla gorilla*) (71). An analysis of 213 gorilla fecal samples from 11 field sites in Cameroon revealed three individuals that were SIV/HIV antibody positive (71). PCR amplification of viral sequences from fecal RNA confirmed infection by distinct SIV strains which comprised a new lineage, termed SIVgor. In phylogenetic trees of diagnostic *pol* and *env* sequences, the new gorilla viruses fell within the SIVcpz radiation and were most closely related to HIV-1 group O (71). These findings suggested that gorillas, like humans, had acquired SIV from chimpanzees; however, the paucity of available SIVgor sequences precluded definitive conclusions regarding the origins of SIVgor or HIV-1 group O.

Gorillas are classified into two species, with habitats in west central (*Gorilla gorilla*) and east (*Gorilla beringei*) Africa, respectively (Fig. 1). The western species is further subdivided into the Cross River gorilla (*Gorilla gorilla diehli*) and the western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*), while the eastern species includes the mountain gorilla (*Gorilla beringei beringei*), Grauer's gorilla (*Gorilla beringei graueri*), and possi-

* Corresponding author. Mailing address: Department of Medicine, University of Alabama at Birmingham, 720 20th Street South, Kaul 816, Birmingham, AL 35294. Phone: (205) 934-0412. Fax: (205) 934-1590. E-mail: bhahn@uab.edu.

† Supplemental material for this article may be found at <http://jvi.asm.org/>.

Published ahead of print on 10 December 2008.

Molecular Epidemiology of Simian Immunodeficiency Virus Infection in Wild-Living Gorillas[†]

Cécile Neel,^{1,2†} Lucie Etienne,^{1†} Yingying Li,³ Jun Takehisa,³ Rebecca S. Rudicell,³ Innocent Ndong Bass,² Joseph Moudindo,² Aimé Mebenga,² Amandine Esteban,¹ Fran Van Heuverswyn,^{1,‡} Florian Liegeois,¹ Philip J. Kranzusch,⁴ Peter D. Walsh,⁵ Crickette M. Sanz,⁶ David B. Morgan,^{7,8} Jean-Bosco N. Ndjango,⁹ Jean-Christophe Plantier,¹⁰ Sabrina Locatelli,¹¹ Mary K. Gonder,¹¹ Fabian H. Leendertz,^{12,13} Christophe Boesch,¹³ Angelique Todd,¹⁴ Eric Delaporte,¹ Eitel Mpoudi-Ngole,² Beatrice H. Hahn,³ and Martine Peeters^{1*}

UMR145, Institut de Recherche pour le Développement (IRD) and Université de Montpellier 1, Montpellier, France¹; Projet Prévention du Sida au Cameroun (PRESICA), Yaoundé, Cameroon²; Departments of Medicine and Microbiology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama³; Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115⁴; VaccinApe, Bethesda, Maryland⁵; Department of Anthropology, Washington University, Saint Louis, Missouri 63130⁶; Lester E. Fisher Center for the Study and Conservation of Apes, Lincoln Park Zoo, 2001 N. Clark Street, Chicago, Illinois 60614⁷; Wildlife Conservation Society, Congo Program, B.P. 14537, Brazzaville, Republic of Congo⁸; Faculties of Sciences, University of Kisangani, Democratic Republic of Congo⁹; Laboratoire Associé au Centre National de Référence du VIH, CHU Charles Nicolle et Université de Rouen, Rouen, France¹⁰; Department of Biological Sciences, University at Albany, State University of New York, Albany, New York 12222¹¹; Robert Koch-Institut, Center for Biological Safety, Berlin, Germany¹²; Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany¹³; and WWF-CAR, Bangui, Central African Republic¹⁴

Received 8 October 2009/Accepted 2 November 2009

Chimpanzees and gorillas are the only nonhuman primates known to harbor viruses closely related to HIV-1. Phylogenetic analyses showed that gorillas acquired the simian immunodeficiency virus SIVgor from chimpanzees, and viruses from the SIVcpz/SIVgor lineage have been transmitted to humans on at least four occasions, leading to HIV-1 groups M, N, O, and P. To determine the geographic distribution, prevalence, and species association of SIVgor, we conducted a comprehensive molecular epidemiological survey of wild gorillas in Central Africa. Gorilla fecal samples were collected in the range of western lowland gorillas ($n = 2,367$) and eastern Grauer gorillas ($n = 183$) and tested for SIVgor antibodies and nucleic acids. SIVgor antibody-positive samples were identified at 2 sites in Cameroon, with no evidence of infection at 19 other sites, including 3 in the range of the Eastern gorillas. In Cameroon, based on DNA and microsatellite analyses of a subset of samples, we estimated the prevalence of SIVgor to be 1.6% (range, 0% to 4.6%), which is significantly lower than the prevalence of SIVcpzPtt in chimpanzees (5.9%; range, 0% to 32%). All newly identified SIVgor strains formed a monophyletic lineage within the SIVcpz radiation, closely related to HIV-1 groups O and P, and clustered according to their field site of origin. At one site, there was evidence for intergroup transmission and a high intragroup prevalence. These isolated hot spots of SIVgor-infected gorilla communities could serve as a source for human infection. The overall low prevalence and sporadic distribution of SIVgor could suggest a decline of SIVgor in wild populations, but it cannot be excluded that SIVgor is still more prevalent in other parts of the geographical range of gorillas.

Simian immunodeficiency viruses (SIVs) have been identified in approximately 40 African primate species, but chimpanzees and gorillas are the only nonhuman primates known to harbor viruses closely related to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) (38). These viruses have been transmitted to humans on at least four occasions, leading to four different HIV-1 groups, M to P (14, 26). West central African chimpan-

zees (*Pan troglodytes troglodytes*) in southern Cameroon are recognized as the reservoir of the ancestors of HIV-1 group M, which resulted in the AIDS pandemic, and of HIV-1 group N, which has been identified in only a few individuals in Cameroon (15). Western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) are infected with SIVgor, which is closely related to the two other HIV-1 lineages, termed group O, which represents 1% of HIV-1 infections in west central Africa, and group P, recently described from a single Cameroonian patient residing in France (26, 36).

The phylogenetic relationships between SIVcpz, SIVgor, and HIV-1 show that chimpanzees are the original reservoir of SIVs found in gorillas and humans (31, 36). *Pan troglodytes troglodytes* apes were most likely the original source of SIVgor, because SIVgor is significantly more closely related to SIVcpzPtt,

* Corresponding author. Mailing address: UMR 145, Institute of Research and Development (IRD) and University of Montpellier 1, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France. Phone: 33 4 67 41 62 97. Fax: 33 4 67 41 61 46. E-mail: martine.peeters@ird.fr.

† C.N. and L.E. contributed equally to this work.

‡ Present address: BioMaric, Ghent, Belgium.

Published ahead of print on 11 November 2009.

CHAPITRE 4

La relation entre la structure sociale de
l'hôte et la transmission des SIVgor en
milieu naturel

CHAP 4: LA RELATION ENTRE LA STRUCTURE SOCIALE DE L'HÔTE ET LA TRANSMISSION DES SIVgor EN MILIEU NATUREL

Dans le chapitre précédent, il a été montré que la prévalence de l'infection du SIVgor chez les gorilles était plus faible à l'échelle de la sous-région, et plus particulièrement du Cameroun, que l'infection SIVcpz chez les chimpanzés. Les SIVcpz semblent également plus divers, et présents sur toute l'aire de répartition des chimpanzés *Ptt*, alors que chez les gorilles, les SIVgor n'ont été découverts que dans trois (peut-être quatre) sites de prospection. Nous avons cependant trouvé deux sites où cette prévalence était localement plus importante que la prévalence globale, suggérant des foyers d'infection dans ces zones. Dans cette partie, il s'agit d'étudier l'infection plus en détails dans ces deux sites. Ces sites représentent actuellement les seules opportunités de pouvoir étudier le SIVgor en milieu naturel. Aucun gorille en captivité n'a jusqu'à présent été diagnostiqué positif pour cette infection, ce qui rend l'étude de la relation entre l'hôte et le virus assez difficile.

Dans ces deux sites, les gorilles ne sont pas habitués à l'homme. Cela représente une grande difficulté pour la compréhension de la dynamique de l'infection en relation avec la structure sociale de l'hôte. Il est impossible de reconnaître ou de suivre les groupes sur le terrain d'une mission à l'autre, et d'identifier les éventuels liens de parentés existant entre les individus. Une approche multidisciplinaire a donc été adoptée, basée sur les données de primatologie collectées sur le terrain puis analysées, les données de virologie et les relations entre les différents virus découverts, ainsi que la génétique permettant d'identifier les gorilles.

Ce changement d'échelle de la sous-région à des sites de collecte nous permettra d'étudier la relation existant entre la structure sociale de l'hôte et la transmission du virus dans des conditions naturelles et d'apporter des éléments de compréhension sur la propagation du virus au sein de l'espèce *Gorilla gorilla gorilla*. Ces données sont très importantes pour identifier certains facteurs d'émergence.

PARTIE 1

LA PREVALENCE DU SIVgor
DANS DIFFERENTS GROUPES SOCIAUX DE GORILLES :
LES SITES DE CAMPO MA'AN ET DJOUM

PARTIE 1 : LA PREVALENCE DE L'INFECTION DANS DIFFERENTS GROUPES SOCIAUX DE GORILLES

1- INTRODUCTION

Cette deuxième partie des travaux se focalise plus particulièrement sur les sites dans lesquels les prévalences du SIVgor sont les plus élevées (4,6%) et où le nombre de gorilles infectés est le plus important, 13 individus à Campo Ma'an au Sud-Ouest du Cameroun et 7 gorilles à la périphérie Sud de la réserve du Dja (Djoum). Dans ces deux sites, éloignés d'environ 300km l'un de l'autre, plusieurs collectes ont été organisées. Il s'agissait dans un premier temps, d'étudier l'étendue géographique de l'infection à l'échelle d'un site.

Nous avons ensuite procédé à l'identification des différents groupes sociaux de gorilles dans lesquels certains individus ont été diagnostiqués positifs au SIVgor. Les groupes de gorilles que nous collectons ne peuvent pas être directement identifiés pendant la prospection, mais certaines données de terrain nous apportent des éléments sur ces groupes sociaux. En effet, dans un groupe de gorilles, les individus se déplacent et nichent généralement ensemble. Ils laissent donc des informations essentielles de leur passage et de leur nombre derrière eux. Ces données sont ensuite complétées par l'étude génétique des individus identifiés comme appartenant au même groupe sur le terrain.

Dans cette partie de l'étude, nous avons identifié les différents groupes sociaux de gorilles infectés dans les deux sites, dans le but de comparer les prévalences de l'infection à l'échelle de ces groupes. L'étude phylogénétique des virus caractérisés nous permettra d'étudier d'éventuels liens épidémiologiques existant entre leurs hôtes et de les comparer à leurs liens sociaux.

Ces données nous permettront d'apporter des éléments à la compréhension de la dynamique et des modes de transmission du virus SIVgor en milieu naturel, en fonction de la structure sociale son l'hôte.

2- SITES ET METHODES SPECIFIQUES

2.1 Le site de Campo Ma'an

Le site de du Parc National de Campo Ma'an est situé à l'extrême Sud-Ouest du Cameroun, dans la province de l'Océan. C'est une aire protégée de 2 680 km². La limite sud du parc représentée par la rivière Ntem marque la frontière avec la Guinée Equatoriale. Le parc est géré par le ministère de la faune du Cameroun, avec l'appui technique de l'organisation internationale WWF. Le village de Campo peut être rejoint par piste de Yaoundé, mais le temps de route varie en fonction de la saison. En saison des pluies, le temps nécessaire entre Yaoundé et Campo peut atteindre huit à neuf heures. L'entrée du Parc se trouve à environ 40km du village et, depuis, 2006, il est difficile de se rendre en voiture à l'intérieur de l'aire protégée car la route est abandonnée depuis 2004.



Figure 30 : Carte du Parc National de Campo Ma'an (source : WWF Cameroun)

Les premières collectes d'échantillons de fèces de gorilles dans la zone ont eu lieu lors d'un inventaire des grands mammifères dans le parc en 2004. Durant cette étude, la densité estimée de gorilles dans le Parc montrait des résultats de 0,28 individus/km² [162] avec la méthode du « Standing Crop Nest Count» utilisée sur 400km de transects, résultats cohérents avec les précédents inventaires effectués entre 1997 et 2000 (0,2 ind/km²) [163].

Cette densité est plutôt faible par rapport à d'autres dans la sous-région. On retrouve par exemple 1,56-1,92 ind/km² dans les forêts autour du Tri National Sangha au Congo [164] ; 2,53 ind/km² dans le sanctuaire à gorilles de Mengamé [150] ; 0,17-2,98 ind/km² dans la réserve de du Dja au Cameroun [165]

Site	Estimation de la densité de gorilles (ind./km ²)	Estimation de la densité de chimpanzés (ind./km ²)	Références
Dzanga-Sangha (RCA)	1,52	-	[166]
Dzanga-Sangha (RCA)	1,56 – 1,92	-	[164]
Odzala (Congo)	5,08	2,74	[140]
Lokoué (Congo)	1,37-3,22	0,33-0,35	[167]
Goualougo (Congo)	1,7-2,63	1,75-1,76	[167]
Gabon	0,19 - 0,35	0,14 - 0,59	[149]
Dja (Cameroun)	1,71	0,79	[168]
Dja (Cameroun)	1,9	0,7	[165]
Périphérie Nord Dja (Cameroun)	3,8	1,1	[169]
Lobéké (Cameroun)	0,17- 2,98	0,17	[156]
Mengame, (Cameroun)	2,53	0,18	[150]
Campo Ma'an, (Cameroun)	0,28	0, 31 (0,22-0,39)	[162]

Tableau 11 : Quelques exemples d'estimations de densité de grands singes dans différents sites d'Afrique Centrale

Environ 750 gorilles vivaient donc à l'intérieur du parc en 2004, mais leur répartition n'était pas homogène. Pendant cet inventaire en 2004, les premiers échantillons de gorilles positifs pour le SIVgor, ont été collectés dans la zone située au centre du parc, à cinq kilomètres au sud de la route forestière. Depuis 2004, cette route a été abandonnée, et après 2006, il est devenu impossible de se rendre en voiture au centre de Campo Ma'an puisque la végétation a repoussé. Cet abandon a créé un habitat propice pour les gorilles, qui ont tendance à utiliser la végétation dense, autant pour se nourrir que pour nicher. Il a été montré, par exemple, que les densités de gorilles dans une exploitation forestière, diminuent au moment de l'activité humaine, mais augmentent de manière importante par la suite. Tutin et Fernandez [149, 170] dans leur inventaire national du Gabon, ont trouvé des densités de 0,19 ind/km² dans les forêts exploitées depuis moins de deux ans, contre 0,39 par la suite. Arnhem, en étudiant l'évolution de la densité des grands singes dans une exploitation forestière du Cameroun montre qu'elle atteint son maximum pour les gorilles entre deux à trois ans et demi après la fin des activités humaines [170].

2.2 Le site de Djoum

Djoum est une petite ville située à la périphérie sud de la réserve du Dja. Trois missions ont pris place autour de la même zone afin d'étendre la surface de prospection. Dans la concession forestière située à la frontière du Dja, seuls deux échantillons de chimpanzés ont été collectés après trois jours de prospection, laissant supposer une densité de grands singes très faible. Nous avons alors focalisé nos efforts au sud de la route, dans une zone allant jusqu'à 13km, où la densité de grands singes semblait plus importante.

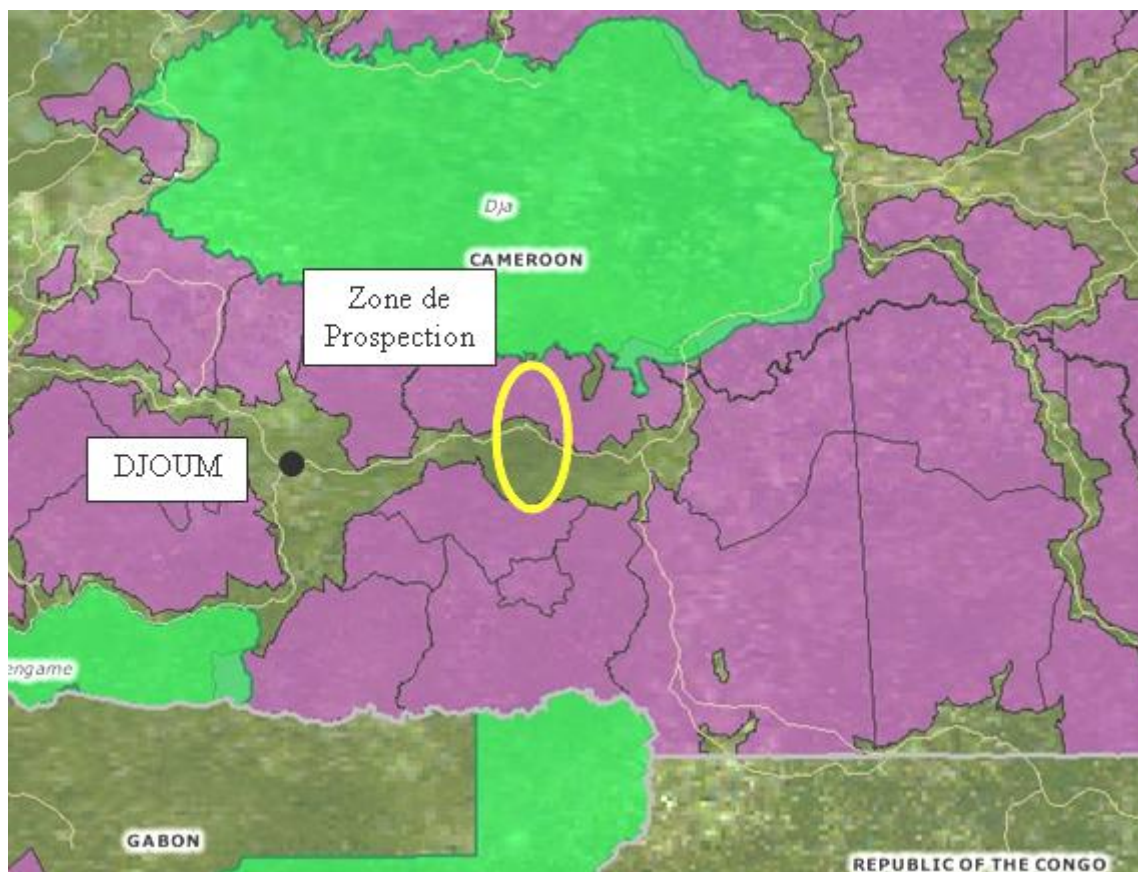


Figure 31 : Localisation de la zone de prospection de Djoum, à la périphérie sud de la réserve de faune du Dja

2.3 Les méthodes spécifiques

2.3.1 Les différentes missions

2.3.1.1. Campo Ma'an

Depuis la découverte de la première femelle positive en 2004 à Campo Ma'an, treize missions ont été organisées jusqu'en novembre 2008 dans six différentes zones du Parc.

Nous les avons appelées Grottes (CP-GR), Mvini (CP-MV), Oveng (CP-OV), Onoyon (CP-ON), Ngo'ombang (CP-NG) et Melen II (CP-ML). En 2004, trois échantillons de chimpanzés ont également été collectés sur l'île de Dipikar (CP-DK). Ce site n'a pas fait l'objet de nouvelles prospections par la suite. Les échantillons positifs collectés en 2004 étaient dans la zone CP-GR. Les zones de CP-ML et CP-NG se trouvent dans des exploitations forestières, séparées du Parc National par la rivière Ntem. CP-GR est au centre du parc, le long de l'ancienne route forestière fermée depuis 2004 et impraticable depuis 2006. Les zones CP-MV et CP-OV sont situées aux entrées ouest et est du parc. Enfin, CP-ON est à environ 50km de CP-GR, en zone protégée.

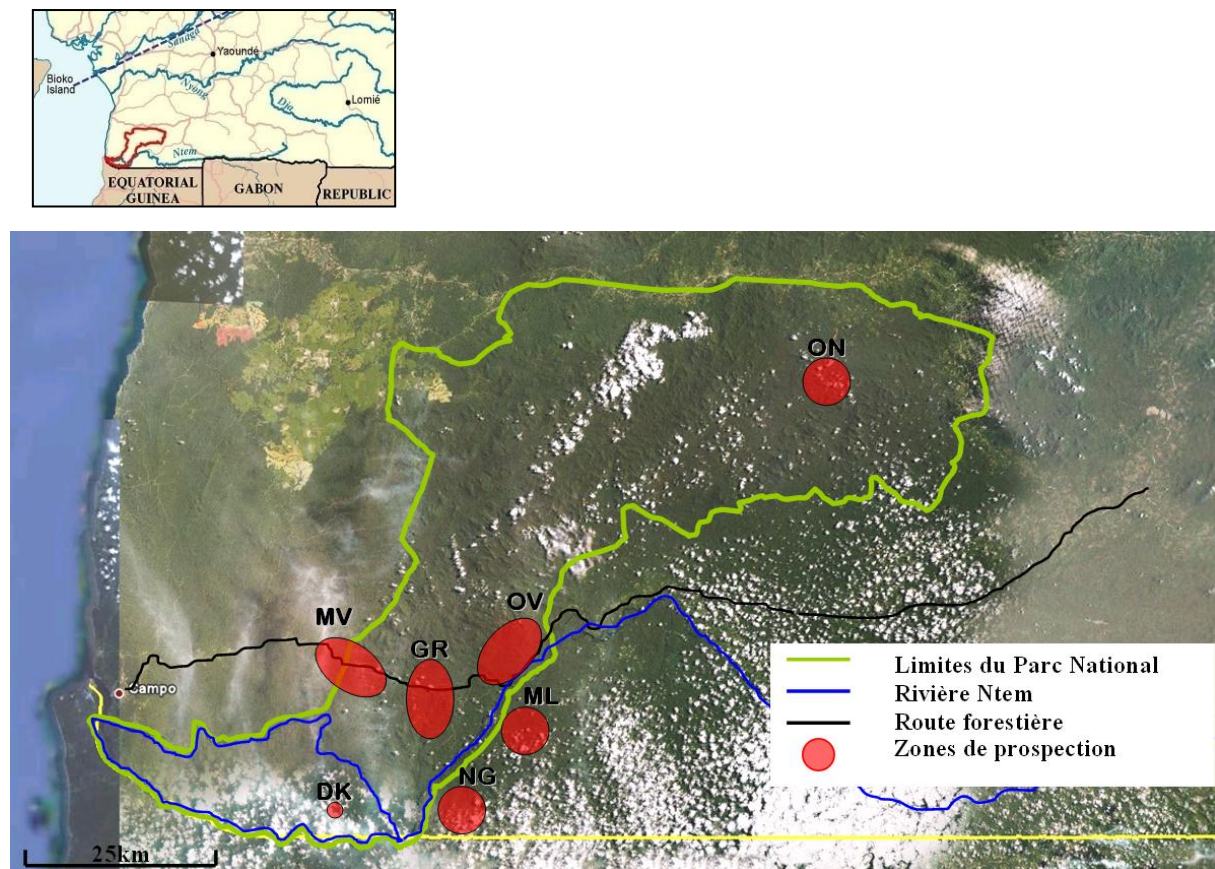


Figure 32 : Les différentes zones de prospection dans le site de Campo Ma'an

A l'exception de NG, les autres zones du Parc ont fait l'objet de plusieurs prospections. La surface d'échantillonnage a été estimée par les points GPS (tableau 12).

Lieu	Description	Surface approximative de prospection	Nombre de missions	Dates de prospection
CP	Parc national (GR/ON/DK)	-	-	2004
CP-GR	Zone protégée	50 km ²	3	02/06 - 04/06 - 02/07
CP-ML	UFA 09.024	35 km ²	2	12/07 - 02/08
CP-MV	Entrée ouest du Parc et zone de village	55 km ²	3	12/06 - 08/07 - 04/08
CP-NG	UFA 09.024 frontière avec la Guinée Equatoriale.	40 km ²	1	08/08
CP-ON	Zone protégée	30 km ²	2	09/07 - 09/08
CP-OV	Entrée est du Parc et zone de village	40 km ²	2	11/07 - 05/08

Tableau 12 : Description des six zones de prospection dans le site de Campo Ma'an

Les premiers échantillons positifs découverts en 2004 étaient situés dans la zone CP-GR. Nous avons donc organisé des nouvelles missions dans cette même zone, en élargissant un peu la surface de prospection. En effet, ces premiers échantillons avaient été trouvés sur des traces et non sur un site de nids et il était donc intéressant d'essayer de retrouver ce groupe afin de vérifier si d'autres individus étaient infectés. Nous avons choisi d'échantillonner une zone située autour du premier échantillon. Avec cet objectif, et avec les estimations de domaines vitaux pour les gorilles des plaines de l'Ouest, qui varient généralement entre 7 et 14 km², nous avons prospecté une surface d'environ 50km².

D'autres zones ont également été étudiées, à une dizaine de kilomètres à l'Est (CP-MV) et à l'Ouest (CP-OV) de CP-GR dans le but d'évaluer si l'infection touchait les gorilles aux deux points d'entrée dans le Parc, c'est-à-dire au niveau des villages. Le site de CP-ON se trouve à environ 50km et a été choisi car la présence de plusieurs groupes de gorilles avait été signalée lors de l'inventaire des grands mammifères dans le parc en 2004 et c'est à cet endroit que le plus grand nombre de traces avaient été observées à cette époque.

De plus, nous avons également organisé des missions de l'autre côté de la rivière Ntem qui représente une barrière infranchissable pour les grands singes (CP-ML et CP-NG). Ces zones sont dans une unité d'aménagement forestière (UFA) qui, au sud, matérialise la frontière avec la Guinée Equatoriale.

2.3.1.2 Djoum

Dans le site de Djoum, nous avons prospecté dans un premier temps à la périphérie sud de la réserve du Dja, le long de la rivière où nous n'avons trouvé aucun échantillon. Le camp a donc été déplacé au sud de la route partant de Djoum pour l'Est du pays.

Les trois missions ont ensuite pris place dans la même zone, d'une surface d'environ 100 km². Nous avons effectué trois missions différentes en évoluant dans la même zone qui se

situé entre la route et jusqu'à 13km au sud. Les missions ont eu lieu en mai 2008, puis un an plus tard à deux mois d'intervalle (début avril 2009, fin mai 2009).

2.3.2 Analyse des microsatellites et définition des groupes

Suivant les données récoltées sur le terrain, nous étions capables de définir les individus appartenant au même groupe lorsque les échantillons avaient été collectés autour des sites de nids. L'identification des individus comme appartenant au même groupe ne peut se faire que si les échantillons ont été collectés autour du même site de nids. Le comptage du nombre de nids appartenant au même groupe donne une estimation du nombre d'individus appartenant à ce groupe. En effet, il a été montré que dans quelques cas, certains gorilles pouvaient faire plusieurs nids par nuit [171]. De même, il peut arriver que certains gorilles ne fassent pas de nid et dorment à même le sol, dans ce cas, il est possible de sous-estimer le nombre d'individus dans le groupe car ces nids sont plus difficiles à repérer [172-173]. Ces deux cas de figure ne concernent pas la majorité des individus présents dans le groupe. Le comptage des nids reste donc une bonne estimation du nombre d'individus présents dans un groupe. Nous estimons également la catégorie des nids dans un groupe, c'est-à-dire le moment où ils ont été construits par les gorilles. Comme nous collectons des fèces fraîches, les deux catégories intéressantes sont la catégorie 1 (nids de la veille) et 2 (nids de 2 à 3 jours). Ont donc été considérés comme des échantillons appartenant au même groupe de gorilles, ceux collectés autour d'un site de nidification, où tous les nids ont été construits le même jour et ne sont pas éloignés de plus de vingt mètres les uns des autres.

L'identification par l'analyse des microsatellites nous donne le nombre d'individus collectés dans le groupe puisqu'il est possible que la collecte des échantillons ne concerne pas l'intégralité des individus du groupe. Certaines fèces peuvent être dégradées, par exemple par la pluie ou le soleil si elles sont exposées ; pour d'autres, les gorilles ont pu déféquer dans un autre endroit, etc... Dans ce cas, nous pouvons avec certitude identifier le nombre minimal d'individus présents dans le groupe. L'analyse des microsatellites ne s'est pas limitée aux seuls échantillons positifs. Nous avons donc également procédé aux analyses pour les échantillons négatifs dans les groupes où des positifs ont été trouvés.

Le calcul de prévalence se fait donc en fonction du nombre de nids et du nombre d'individus collectés.

Les probabilités d'identification ont été calculées avec le logiciel GeneCap 3.1 [161] dont l'avantage est de prendre en compte les allèles manquants que nous n'avons pas réussi à

amplifier. Il permet de regrouper les individus en fonction des génotypes amplifiés et calcule les probabilités pour qu'un génotype soit identique sur le nombre d'allèles amplifiés, chez deux individus différents. Deux méthodes de calcul sont disponibles. La première pose comme hypothèse de départ que l'équilibre de Hardy–Weinberg est respecté, et que les accouplements, ainsi que l'échantillonnage, sont réalisés au hasard. Les probabilités d'identité sont alors calculées à partir de l'équation suivante :

$$HW P(ID) = \sum_i p_i^4 + \sum_i \sum_{j>i} (2p_i p_j)^2 \text{ où } p_i \text{ et } p_j \text{ représentent les fréquences d'apparition des}$$

allèles i et j.

Cependant, cette méthode introduit des biais, notamment en fonction de la structure sociale des individus à identifier. Dans notre cas, les gorilles dans un groupe social ont des liens de parenté entre eux et les collectes sont donc orientées sur des familles, ne représentant pas obligatoirement la structure génétique de la population dans son ensemble. Pour pallier ces biais, nous avons utilisé la seconde méthode de calcul, basée sur l'équation suivante :

$$P(ID)_{sib} = 0.25 + (0.5 \sum p_i^2) + [0.5(\sum p_i^2)^2] - (0.25 \sum p_i^4), \text{ qui prend en compte les relations de parentés entre les individus échantillonnés (parents - enfants / frères et sœurs, etc...)}$$

[174-175]

2- RESULTATS

2.1 Campo Ma'an

2.1.1 Localisation des échantillons positifs

Durant les différentes missions dans le site du Parc de Campo Ma'an, nous avons collecté depuis 2004, 525 échantillons de gorilles et 230 de chimpanzés. Ceux de 2004, récoltés lors d'un inventaire de faune, provenaient de trois endroits différents à l'intérieur du parc. Seules deux de ces zones ont été prospectées par la suite (CP-GR, CP-ON). Les trois échantillons de chimpanzés trouvés à CP-DK ne sont pas inclus dans l'analyse car leur nombre est trop faible pour apporter des informations sur les prévalences de l'infection dans cette zone particulière. Dans cette analyse sont donc pris en compte, 525 et 227 échantillons de gorilles et de chimpanzés collectés dans le site de CP.

Au total, nous avons découvert 34 échantillons positifs de gorilles et 9 échantillons de chimpanzés. Les individus positifs ne sont pas uniformément répartis à l'intérieur du site. La plupart des gorilles positifs sont concentrés dans la zone de CP-GR, mais nous avons

également trouvé des échantillons positifs aux entrées ouest (CP-OV) et est (CP-MV) de l'ancienne route forestière traversant le parc. Par contre, dans les deux sites situés de l'autre côté de la rivière Ntem, ainsi que dans le site CP-ON, aucun individu positif n'a été découvert.

Les échantillons de chimpanzés SIVcpz positifs ont été collectés à CP-MV et aucun autre échantillon positif n'a été trouvé dans les autres zones de prospection. Il semble donc que la distribution du SIVcpz soit hétérogène dans le Parc.

Lieu de collecte	Année de collecte	Nb d'éch. de gorilles	Nb d'éch. De gorilles positifs	Nb de gorilles positifs	Nb d'éch. de chimpanzés	Nb d'éch. De chimpanzés positifs	Nb de chimpanzés positifs
CP-GR	2004	9	3	2	3	0	0
	2006	36	2	1	41	0	0
	2007	111	21	8	5	0	0
CP-OV	2007	24	0	0	14	0	0
	2008	59	5	1	1	0	0
CP-MV	2006	32	0	0	19	2	1
	2007	33	0	0	58	7	1
	2008	54	3	2	18	0	0
CP-ML	2007	1	0	0	14	0	0
	2008	6	0	0	35	0	0
CP-ON	2004	7	0	0	3	0	0
	2007	0	0	0	3	0	0
	2008	116	0	0	9	0	0
CP-NG	2008	37	0	0	4	0	0
Total		525	34	14	227	9	2

Tableau 13 : Nombre d'échantillons de gorilles et de chimpanzés collectés à Campo Ma'an, par année et par zone de collecte.

2.1.2 Prévalence de l'infection dans les groupes

2.1.2.1 Identification des individus

Dans un premier temps, nous avons repris l'analyse génétique des échantillons positifs précédemment identifiés. En effet, certains échantillons avaient été identifiés par nos collaborateurs à l'Université d'Alabama (USA) et l'analyse des microsatellites peut donner des résultats sensiblement différents sur des séquenceurs différents. Afin de pouvoir comparer les échantillons entre eux, il était donc nécessaire que chaque échantillon soit traité de manière identique avec le même matériel et sur le même séquenceur.

Ces nouvelles comparaisons ont fait apparaître dans un premier temps que les trois échantillons positifs collectés en 2004 n'appartenaient pas à une seule femelle gorille, mais à deux différentes. Nous avons appelé la première femelle collectée CPg-ID0 pour rester

cohérents avec les identifications précédentes. Nous avons donc collecté à Campo, 34 échantillons positifs de gorilles, correspondant à 14 individus et 9 échantillons de chimpanzés, correspondant à 2 individus. Les 26 échantillons positifs de gorilles à CP-GR ont été prélevés sur 11 individus. Les trois échantillons positifs collectés à CP-MV et les cinq de CP-OV correspondent respectivement à deux et un gorilles.

Nous avons également identifié, par l'analyse des microsatellites, les échantillons négatifs appartenant aux groupes de gorilles dans lesquels des échantillons SIVgor positifs étaient présents. Nous avons donc restreint nos analyses à la zone de CP-GR où le plus grand nombre de gorilles positifs a été découvert. Pour l'un d'entre eux (CP1432), le génotype correspond à une femelle gorille positive (CP1434 et CP1436), suggérant à nouveau que les tests de sérologie ne sont pas optimaux pour la détection de l'infection SIVgor sur des fèces. Certains échantillons, malgré de nombreux essais, n'ont pas pu être identifiés car l'ADN était trop dégradé, et ont donc été exclus de l'analyse. Nous avons amplifié et analysé les génotypes de 35 échantillons négatifs et 26 positifs dans la zone de CP-GR.

N° Ech.	Statut SIV	Date de collecte	groupe	N° Labo	Locus D18S536	Locus D4S243	Locus D10S676	Locus D9S922	Locus D2S1326	Locus D2S1333	Locus D4S1627	Locus D9S905	Locus Amelogenin	p sib (ID)
CP 456	pos	18/04/2004	traces	CPg-ID0	146/-	-	-/192	264/264	251/271	-/306	236/236	274/278	F	
CP 684	pos	18/04/2004	traces	CPg-ID1	142/146	185/193	180/192	280/280	251/263	298/318	232/232	274/278	F	
CP 685	pos	19/04/2004			142/146	185/193	180/192	280/280	251/263	298/318	232/232	274/278	F	0.001
CP 1426	neg	31/03/2006	E	CPg-ID27	150/150	181/181	188/192	264/280	251/255	318/326	240/244	278/278	F	
CP 1427	neg	31/03/2006	E	CPg-ID28	146/150	173/173	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M	
CP 1428	neg	31/03/2006			146/150	173/173	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M	0.001
CP 1429	neg	31/03/2006			146/150	173/173	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M	0.001
CP 1430	neg	31/03/2006			146/150	173/173	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M	0.001
CP 1431	neg	31/03/2006			146/150	173/173	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M	0.001
CP 1433	neg	31/03/2006			146/150	173/173	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M	0.001
CP 1435	neg	31/03/2006	E	CPg-ID29	146/154	173/193	192/196	280/288	251/255	326/334	240/244	278/278	F	
CP 1432	neg	31/03/2006	E	CPgID2	146/154	181/193	196/200	276/280	255/267	298/298	232/244	278/278	F	
CP 1434	pos	31/03/2006		CPgID2	146/154	-/193	196/200	276/280	255/267	298/298	232/244	278/278	F	0.004
CP 1436	pos	31/03/2006			146/154	-/193	-/200	276/280	255/267	298/298	232/244	278/278	F	0.009
CP 2071	pos	10/02/2007	traces	CPg-ID3	146/150	181/193	196/200	268/280	-	314/334	236/240	278/278	F	
CP 2072	pos	10/02/2007	D=A	CPg-ID4	146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	-	F	
CP 2074	pos	11/02/2007		CPg-ID4	146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	-	-	F	0.006
CP 2109	pos	11/02/2007			146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	274/278	F	0.002
CP 2117	pos	11/02/2007			146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	-	F	0.002
CP 2118	pos	11/02/2007			146/146	185/193	196/200	268/268	267/275	322/334	232/232	274/278	F	0.002
CP 2110	pos	11/02/2007	A	CPg-ID5	146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F	
CP 2111	pos	11/02/2007			146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F	0.001
CP 2119	pos	11/02/2007			146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F	0.001
CP 2123	pos	11/02/2007			146/150	177/185	192/200	260/280	251/267	322/326	232/244	278/278	F	0.001

CP 2103	neg	11/02/2007	A	CPg-ID14	146/146	-	196/196	268/276	263/275	330/330	244/244	-	F	
CP 2104	neg	11/02/2007	A	CPg-ID15	146/150	185/193	192/192	268/280	-	-	228/228	-	M	
CP 2105	neg	11/02/2007		CPg-ID16	146/154	-	196/200	280/280	-	334/334	232/232	-	F	
CP 2108	neg	11/02/2007	A		146/154	-	196/200	280/280	-	334/334	232/232	-	F	0.023
CP 2106	neg	11/02/2007	A	CPg-ID17	146/154	193/193	192/196	280/284	255/271	314/326	244/244	278/278	F	
CP 2112	neg	11/02/2007			146/154	193/193	192/196	280/284	255/271	314/326	244/244	278/278	F	0.002
CP 2114	neg	11/02/2007			146/154	193/193	192/196	280/284	255/271	314/326	244/244	278/278	F	0.002
CP 2107	neg	11/02/2007	A	CPg-ID18	146/154	193/193	196/200	280/280	251/255	314/322	236/248	278/278	M	
CP 2113	neg	11/02/2007			146/154	193/193	196/200	280/280	251/255	314/322	236/248	278/278	-	0.002
CP 2115	neg	11/02/2007			146/154	193/193	196/200	280/280	251/255	314/322	236/248	278/278	M	0.002
CP 2122	neg	11/02/2007	A		146/154	193/193	196/200	280/280	-	314/322	236/248	278/278	M	0.004
CP 2120	neg	11/02/2007	A	CPg-ID19	146/154	181/185	192/196	-	259/271	318/318	244/244	278/278	F	
CP 2121	neg	11/02/2007			146/154	181/185	192/196	-	259/271	318/318	244/244	278/278	F	0.003
CP 2094	pos	11/02/2007	B	CPg-ID6	146/150	-	196/200	268/280	267/275	322/334	244/-	278/278	F	
CP 2095	pos	11/02/2007			146/150	-	196/200	268/280	267/275	322/334	-	-	-	0.013
CP 2098	pos	11/02/2007	B	CPg-ID7	146/150	185/185	196/200	-	251/-	-	240/244	278/278	F	
CP 2087	pos	11/02/2007	B	CPg-ID8	146/150	-	196/200	-	267/271	354/374	232/236	278/278	-	
CP 2139	pos	11/02/2007	C	CPg-ID9	146/146	177/189	192/200	276/280	251/271	318/334	228/240	278/278	F	
CP 2131	neg	11/02/2007	C	CPg-ID20	146/146	177/189	192/200	276/280	251/271	318/334	244/244	278/278	F	
CP 2140	neg				146/146	177/189	192/200	276/280	251/271	318/334	244/244	278/278	F	0.003
CP 2126	pos	11/02/2007	C	CPg-ID10	146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F	
CP 2132	pos	11/02/2007			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F	0.001
CP 2133	pos	11/02/2007			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F	0.001
CP 2134	pos	11/02/2007			146/154	173/193	180/180	280/280	255/271	298/322	228/232	-	F	0.001
CP 2135	pos	11/02/2007			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322	228/232	278/278	F	0.001
CP 2141	pos	11/02/2007			146/154	173/193	180/180	276/280	255/271	298/322		278/278	F	0.002
CP 2124	neg	11/02/2007	C	CPg-ID21	-	185/185	192/200	-	254/271	334/334	232/232	274/274	F	
CP 2128	neg	11/02/2007			146/154	185/185	192/200	-	254/271	-	232/232	274/274	F	0.009

CP 2125	neg	11/02/2007	C	CPg-ID22	146/154	181/185	196/196	268/280	251/267	-	232/232	274/274	F	
CP 2127	neg	11/02/2007			146/154	-/185	192/196	268/280	251/267	-/318	-	-	F	0.014
CP 2129	neg	11/02/2007	C	CPg-ID23	146/154	177/189	192/200	268/276	271/275	-	236/244	278/278	F	
CP 2136	neg	11/02/2007			146/154	177/189	192/200	268/276	271/275	310/318	236/244	278/278	F	0.003
CP 2142	neg	11/02/2007			146/154	-/189	192/200	268/276	-	310/318	236/244	278/278	F	0.027
CP 2143	neg	11/02/2007			146/154	-/189	192/200	268/276	271/275	310/318	236/244	278/278	F	0.010
CP 2130	neg	11/02/2007	C	CPg-ID24	146/146	189/193	180/192	-/280	255/275	318/-	232/244	278/278	M	
CP 2137	neg	11/02/2007	C	CPg-ID25	146/154	177/185	192/196	-	255/271	-	232/244	274/274	F	
CP 2138	neg	11/02/2007	C	CPg-ID26	146/154	185/189	180/200	268/280	255/271	334/334	232/244	278/278	M	

Tableau 14 : Identification des différents gorilles échantillonnés. Pour chaque échantillon, le statut sérologique SIVgor est mentionné, ainsi que la date de collecte, le groupe d'appartenance et le numéro d'individu. La probabilité d'identité est également calculée Psib (ID), en fonction des huit allèles amplifiés et du genre.

2.1.2.2 Identification des différents groupes infectés

A Campo, dans la zone de CP-GR, tous les échantillons collectés en 2004 l'ont été sur des traces. Ceux, positifs, de 2006 ont été prélevés autour d'un site de nids dont le nombre n'a pas été relevé (groupe E).

Les échantillons de 2007 étaient situés autour de six groupes de nids, dont quatre incluaient des positifs. Les autres échantillons ont été prélevés sur des traces. Les données de terrain ont montré que deux de ces groupes de nids appartenaient à deux groupes de gorilles différents (groupe A et B) puisqu'ils avaient été construits le même soir (la veille, nids de catégorie 1), à deux kilomètres de distance. Les analyses microsatellites ont confirmé ce résultat et aucun des individus trouvés dans un groupe n'appartenait à l'autre. Ces deux groupes contenaient chacun 12 nids.

Les analyses de l'ADN des hôtes d'un troisième site de nids ont montré que celui-ci appartenait à un groupe de gorilles différent (groupe C). Quant au dernier groupe de nids dans lequel un positif a été trouvé, un individu était identique à un membre du groupe A. Il semble donc que les groupes de nids A et D aient été construits par le même groupe de gorilles. L'analyse de l'ADN n'a cependant pas pu être finalisée sur les échantillons négatifs qui étaient trop dégradés.

Dans les 2 autres groupes de nids, nous n'avons pas trouvé de fèces positives.

Il semble donc que la zone de CP-GR soit une surface de chevauchement des domaines vitaux de plusieurs groupes de gorilles, dont au moins trois sont infectés par le virus SIVgor.

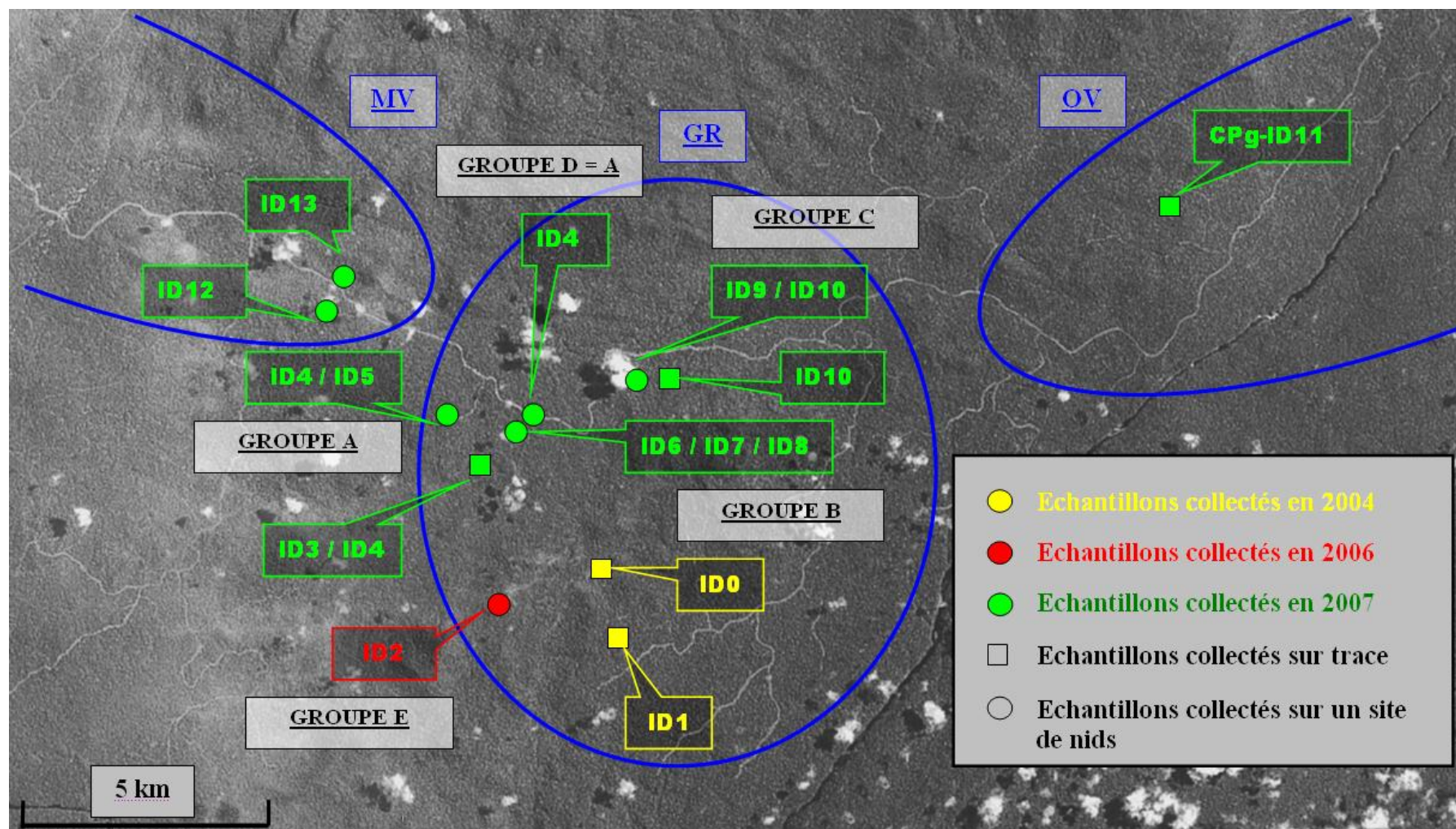


Figure 33 : Localisation sur une carte satellite, des échantillons positifs et des différents groupes de nids de gorilles collectés dans le site de Campo Ma'an de 2004 à 2007. Les différents individus sont numérotés de ID0 à ID13.

2.1.2.3 Prévalence à l'échelle des groupes

Dans le groupe A, huit individus ont été échantillonnés, dont deux sont positifs indiquant une prévalence de 25%. Le nombre de nids, douze, indique cependant que jusqu'à quatre individus ont pu ne pas être collectés. Dans ce cas, et si les individus non collectés ne sont pas infectés par le SIVgor, la prévalence dans le groupe A est au moins égale à 17% (2/12).

Dans le second groupe B, trois gorilles étaient positifs sur douze nids, indiquant une prévalence minimale de 25%. Dans ce groupe, l'ADN était trop dégradé pour permettre une identification des différents individus présents dans le groupe.

Enfin, dans le groupe C, nous avons échantillonné neuf individus différents dont deux étaient positifs, suggérant que jusqu'à 22% des gorilles de ce groupe pouvaient être infectés. Dans ce groupe, le nombre de nids n'a pas été compté.

Nous avons également effectué l'analyse des microsatellites sur les échantillons collectés en 2006 (Groupe E). Bien que le nombre de nids n'ait pas été noté, le nombre d'individus collectés dans ce groupe est de cinq dont un seul est positif. La prévalence dans ce groupe est donc de 20%.

Groupe	Nombre de nids	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs	Nombre d'individus positifs	Nombre d'individus collectés	Prévalence A	Prévalence B
CP-E	n/a	11	2	1	5	-	20 %
CP-A	12	21	7	2	8	17 %	25 %
CP-B	12	22	4	3	n/a	25 %	-
CP-C	n/a	20	7	2	9	-	22 %
CP-D = CP-A	n/a	8	1	1	n/a	-	-

Tableau 15 : Calcul de la prévalence à l'échelle des groupes, en fonction du nombre de gorilles positifs identifiés dans chaque groupe, du nombre de nids présents dans ce groupe et/ou du nombre d'individus négatifs identifiés par analyse des microsatellites. La prévalence A est calculée en fonction du nombre d'individus positifs et du nombre de nids ; la prévalence B est calculée en fonction du nombre d'individus identifiés et du nombre total d'individus collectés.

Si la prévalence globale calculée pour le site de Campo a été estimée à 4,6 % (Cf. chapitre précédent), il apparaît que la zone de CP-GR est un foyer d'infection. Nous avons collecté 156 échantillons dans cette zone de 2004 à 2007. Avec les analyses ADN de 61 échantillons (35 négatifs et 26 positifs) dans cette zone, nous avons pu calculer le nombre moyen d'échantillons collectés par individu à CP. Ces 61 échantillons correspondent à 27 gorilles différents, ce qui nous donne une moyenne de 2,26 échantillons collectés par individu. Cette moyenne est plus élevée que les calculs précédents basés sur l'ensemble des gorilles collectés.

Nous avons trouvé 11 gorilles positifs, nous avons donc localement à CP-GR, une prévalence de 17,6% (Cf. calculs décrits page 108) et des prévalences pouvant dépasser 25% des individus à l'intérieur d'un même groupe social de gorilles.

Les autres échantillons positifs ont été collectés sur des traces, et dans certains cas, le groupe d'appartenance de l'individu positif n'a pas pu être défini. Par deux fois, nous avons retrouvé sur les traces, des individus précédemment identifiés dans des sites de nids (ID4 et ID10), et qui appartiennent donc à l'un des groupes.

Pour les échantillons de CP-OV, découverts sur des traces d'alimentation, il ne peut être exclu que plusieurs groupes soient venus se nourrir au même endroit, le calcul de prévalence par groupe de gorilles n'est donc pas possible.

2.2- Résultat de Djoum

2.2.1 Localisation des échantillons

Dans le site de Djoum, nous avons, lors de la première mission en mai 2008, prospecté une zone à la périphérie sud de la réserve du Dja où nous avons collecté seulement deux échantillons de chimpanzés après quatre jours de prospection. Ces deux échantillons étaient négatifs. Le camp a par la suite été déplacé à plus de 25km au sud. Dans l'analyse, ces deux échantillons ne sont pas pris en compte puisqu'ils se situent assez loin de la zone de prospection. Les deux missions suivantes ont pris place dans la même zone, couvrant au total environ 100km², en avril et mai 2009. Au total, les collectes ont permis de tester 206 échantillons de gorilles et 17 de chimpanzés.

Durant la première mission, quatre échantillons de chimpanzés sur les douze collectés et un échantillon de gorille sur trente-deux, ont été diagnostiqués positifs pour le SIVcpz et SIVgor respectivement. Ils ont été collectés à huit kilomètres l'un de l'autre. En avril 2009, nous avons découverts 4/83 échantillons de gorilles positifs et n'avons pas trouvé de fèces de chimpanzés. Pendant la dernière mission, 8/91 fèces de gorilles étaient positives au SIVgor et aucun des cinq échantillons de chimpanzés n'était positif pour le SIVcpz.

Au total, nous avons donc 13 échantillons de gorilles et un échantillon de chimpanzé positifs. Les échantillons de gorilles positifs dans le site de Djoum ont tous été découverts sur une surface très réduite couvrant environ 6 km².

Lieu de collecte	Date de collecte	Nombre d'échantillons de gorilles	Nombre d'échantillons de gorilles positifs	Nombre de gorilles positifs	Nombre d'échantillons de chimpanzés	Nombre d'échantillons de chimpanzés positifs	Nombre de chimpanzés positifs
DJ	Mai 2008	32	1	1	12	4	1
	Avril 2009	83	4	3*	0	0	0
	Mai 2009	91	8	2*	5	0	0
Total		206	13	5	17	4	1

Tableau 16 : Nombre d'échantillons et d'individus identifiés à Djoum durant les trois missions effectuées. * un même individu prélevé à l'occasion des 2 missions

2.2.2 Prévalence de l'infection dans les groupes à Djoum

2.2.2.1 Identification des individus infectés et de leur groupe d'appartenance.

Dans la zone de Djoum, nous avons identifié uniquement les individus positifs par analyses de l'ADN. Les quatre échantillons positifs de chimpanzés ne représentent qu'un seul individu, les treize échantillons positifs de gorilles proviennent de cinq individus. Cependant, l'un des individus a été collecté en avril 2009 et à nouveau en mai 2009. Toutes les fèces de gorilles positifs ont été prélevées autour de sites de nidification.

A Djoum, nous avons collecté tous les échantillons positifs de gorilles autour de sites de nids. L'un des sites ne comptait cependant que deux nids. Nous n'avons pas trouvé de fèces positifs en suivant des traces. L'une des femelles positives (DJg-ID2) semble avoir été échantillonnée en trois occasions différentes, d'abord en avril 2009, puis dans deux sites de nids différents en mai 2009.

N° Ech.	Date de collecte	Groupe de nids	N° Labo	Locus D18S536	Locus D4S243	Locus D10S676	Locus D9S922	Locus D2S1326	Locus D2S1333	Locus D4S1627	Locus D9S905	Locus Amelogenin	p sib (ID)
DJ3795	28/05/2008	A	DJg-ID1	146/146	-	200/200	-	271/279	318/318	236/236	294/294	F	
DJ4099	09/04/2009	?	DJg-ID2	146/-	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	
DJ4229	30/05/2009	B		146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	0.007
DJ4230	30/05/2009	B		146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	0.007
DJ4237	30/05/2009	B		146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	0.007
DJ4240	30/05/2009	B		146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	0.007
DJ4258	30/05/2009	B		146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	0.007
DJ4259	31/05/2009	C (=B ?)		146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	0.007
DJ4273	31/05/2009	C (=B ?)		146/146	185/189	196/204	272/280	271/275	318/322	232/244	278/278	F	0.007
DJ4257	30/05/2009	B	DJg-ID5	146/146	189/193	196/204	264/280	271/275	318/318	232/240	278/278	F	
DJ4102	09/04/2009	D	DJg-ID3	146/146	189/193	196/204	264/280	271/275	293/318	232/244	278/278	M	
DJ4112	09/04/2009	D	DJg-ID3	146/146	189/193	196/204	264/280	271/275	293/318	-	278/278	-	0.022
DJ4114	09/04/2009	D	DJg-ID4	146/146	-	192/200	280/280	275/275	298/314	-	282/282	M	

Tableau 17 : Identification des différents gorilles positifs échantillonnés. Pour chaque échantillon, la date de collecte est mentionnée, ainsi que le groupe d'appartenance et le numéro d'individu. La probabilité d'identité est également calculée.

Durant la première mission, une femelle gorille positive (DJg-ID1) a été identifiée dans un groupe de 12 nids (Groupe A). En avril 2009, les échantillons positifs appartenaient à un site de deux nids, que nous n'avons pas considéré comme un groupe, et un autre de 14 (Groupe D). En mai 2009, ils ont été prélevés autour d'un site de 12 nids (Groupe B) et un autre de 17 (Groupe C). Dans ce second groupe de nids, nous avons retrouvé une femelle du groupe B (DJg-ID2).

DJg-ID2 a été retrouvée dans un site de deux nids pendant la seconde mission, puis dans deux sites de 12 (groupe B) et 17 nids (groupe C) respectivement, à un jour d'intervalle, durant la dernière mission. Il est possible que des sous-groupes de gorilles se forment pour la nuit, pouvant expliquer que des groupes de nids de tailles différentes appartiennent au même groupe social de gorilles, ou encore que cette femelle ait pu transférer d'un groupe à l'autre. Cependant, nous n'avons pas analysé beaucoup d'échantillons dans ce site pour avoir des résultats d'identification définitifs.

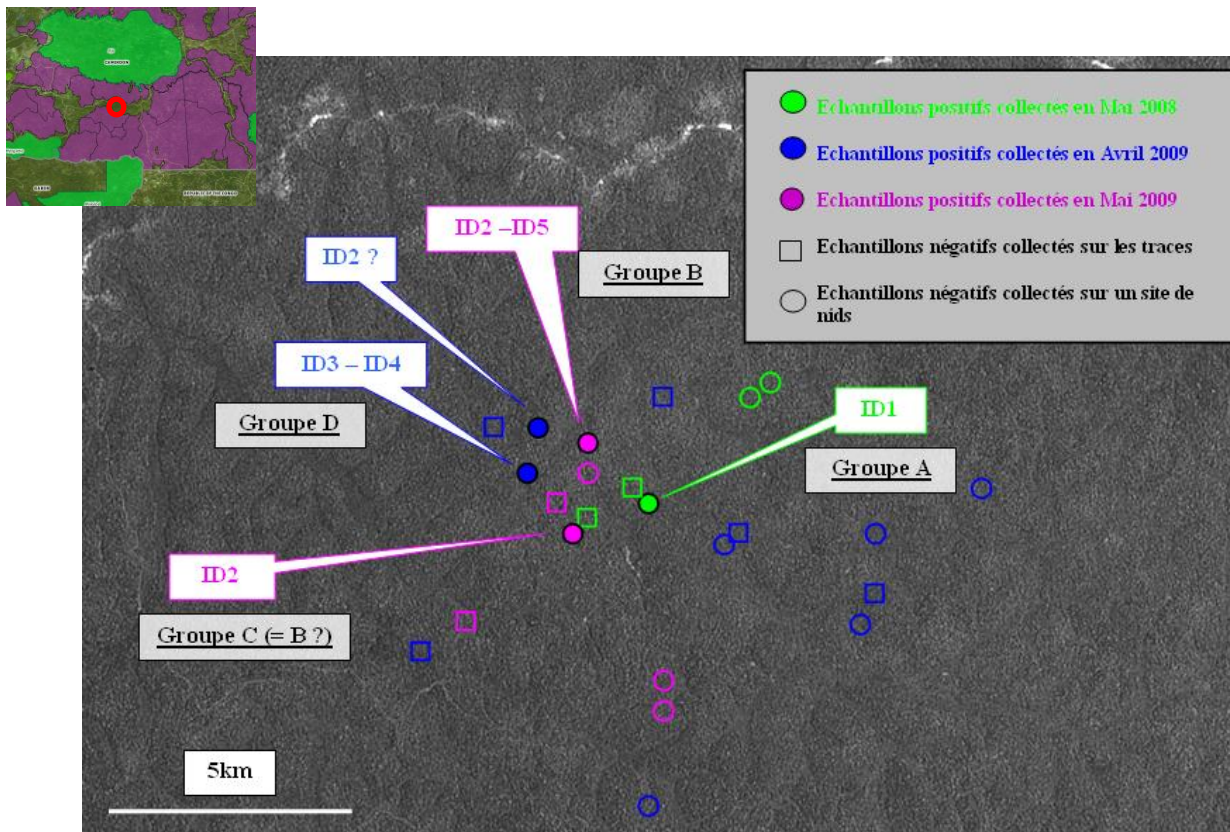


Figure 34 : Localisation des gorilles positifs et des groupes de nids contenant des individus positifs dans le site de Djoum. La position des échantillons négatifs sont également représentés.

Les échantillons positifs ont été collectés lors des trois missions dans la même zone d'environ 6km². On observe, comme à Campo un foyer d'infection sur une zone réduite.

2.2.2.2. Prévalence de l'infection dans les groupes

L'analyse des microsatellites n'a été faite que sur les échantillons positifs dans ce site. Dans ce contexte, il est difficile de distinguer les différents groupes de gorilles vivants dans la zone. Nous avons donc travaillé sur les différents groupes de nids identifiés, sans pouvoir dire s'ils appartenaient à différents groupes sociaux de gorilles. Les groupes de nids dans lesquels des échantillons positifs ont été collectés comprenaient entre 12 et 17 nids.

Il est possible de donner des estimations de l'infection par groupe collecté en fonction du nombre d'individus positifs collectés et du nombre de nids appartenant à un même groupe. Le nombre d'individus positifs collectés, divisé par le nombre de nids dans le groupe, permet d'estimer la prévalence minimale.

Groupe de nids	Date de collecte	Nombre de nids	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs	Nombre d'individus positifs	prévalence
DJ-A	04/2008	12	17	1	1	8 %
DJ-D	04/2009	14	15	3	2	14 %
DJ-B	05/2009	12	31	6	2	17 %
DJ-C	05/2009	17	29	2	1	6 %

Tableau 18 : Calcul de la prévalence à l'échelle des groupes, en fonction du nombre de gorilles positifs identifiés dans chaque groupe, et du nombre de nids présents dans ce groupe.

Dans les groupes de nids trouvés à Djoum, la prévalence minimale, basée sur le nombre de nids et le nombre d'individus positifs collectés, varie entre 8% et 17 %. Cette prévalence pourrait cependant s'avérer plus importante lors de l'analyse des microsatellites des individus négatifs. En effet, d'après nos résultats de Campo, nous ne collectons pas tous les individus appartenant à un groupe social, comparés au nombre de nids présents. De plus, nous ne savons pas si les groupes de nids B et C appartiennent au même groupe social de gorilles. Des analyses génétiques plus détaillées sont nécessaires.

2.3 Phylogénie des virus caractérisés

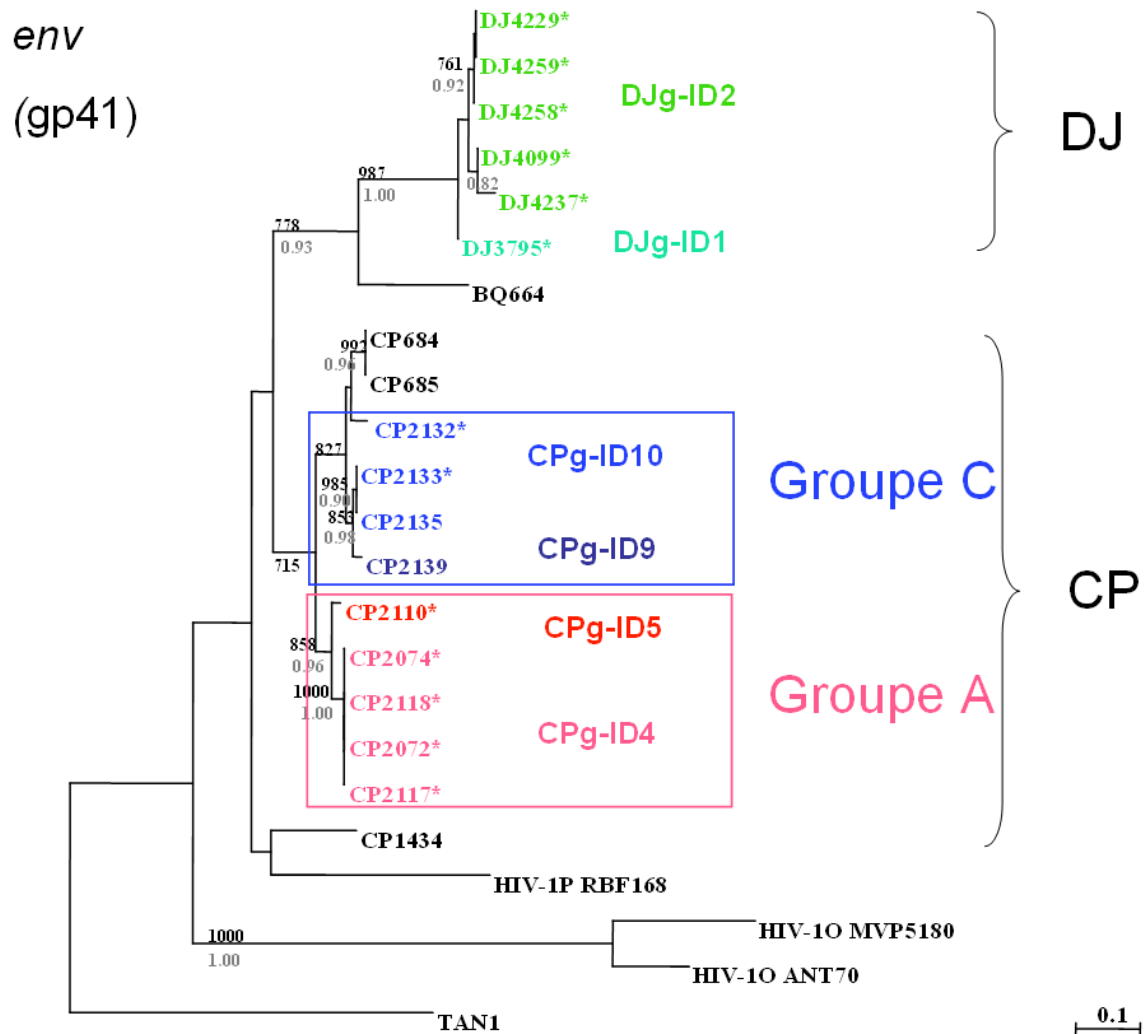


Figure 35 : Analyse phylogénétique des séquences nucléotides partielles sur le gène *env* (gp41, 266 paires de bases) des nouvelles souches de SIVgor.

A Campo, nous avons pu amplifier des fragments de SIVgor chez des individus appartenant au même groupe social (groupe A) et les comparer avec ceux d'un autre groupe social de gorilles (Groupe C) sur l'enveloppe (*gp41*). A Djoum, nous avons amplifié des fragments de *gp41* dans les fèces appartenant principalement à un seul individu (DJg-ID2) que nous avons collecté huit fois, ainsi que pour DJg-ID1.

Nous avons montré lors de l'étude de prévalence globale que les virus formaient des clusters en fonction du site où ils ont été collectés. De la même manière, l'analyse phylogénétique des SIVgor d'un même site, montre que les virus appartenant aux individus d'un même groupe de gorilles forment des clusters séparés. Il existe donc un lien

épidémiologique entre les virus des gorilles vivant dans le même groupe, montrant des transmissions intragroupes.

On observe également, pour un individu de CP (CPg-ID10) et un gorille de DJ (DJg-ID2), la présence de virus relativement divergent à l'intérieur du même hôte. Cependant, chez un autre individu (CPc-ID4), collecté plusieurs fois, le virus reste identique dans les différents échantillons. La diversité des virus retrouvés au sein d'un même gorille est due à la pression du système immunitaire de l'hôte, entraînant différentes mutations chez le virus. En effet, chez l'Homme, la variabilité du virus augmente quelque temps après l'infection puis atteint un plateau par sélection naturelle. Il ne peut cependant être exclu que cette diversité soit le résultat d'une co-infection.

Suite à la caractérisation de nouveaux SIVgor, le virus découvert à Campo en 2006 chez une femelle (CP1434) apparaît assez divergent par rapport aux autres virus caractérisés chez les gorilles de cette population.

3- DISCUSSION

A Campo GR, on observe donc que la prévalence à l'intérieur des groupes de gorilles est très importante et peut dépasser 25% des individus appartenant au même groupe. Sur une surface de prospection où différents groupes de gorilles infectés évoluent, la prévalence atteint 17,6 %. Plusieurs groupes sociaux sont infectés. Ces résultats sont beaucoup plus importants que ceux attendus par l'étude à l'échelle du Cameroun. La distance maximale entre les gorilles infectés est égale à environ 15km (CP-MV et CP-OV). De l'autre côté de la rivière Ntem, ainsi que dans la zone de prospection située à 50km à l'ouest, aucun gorille positif n'a été collecté. Il existe donc un foyer d'infection qui semble toucher une population de gorilles restreinte, mais de nombreux individus. L'infection n'a pas été détectée chez les autres populations séparées par la rivière et/ou la distance, indiquant que la propagation du virus dans les populations voisines est un phénomène rare.

A Djoum, nous avons calculé la prévalence minimale par groupe de nids, et non par groupes sociaux de gorilles, que nous n'avons pas identifiés. Ces estimations sont également toutes supérieures à la prévalence globale calculée pour le Cameroun, situées entre 6% et 17%. Tous les échantillons positifs sont regroupés sur une surface de 6km² et sont éloignés de 2km au maximum l'un de l'autre. Tous les échantillons collectés aux alentours (113), sur une surface totale d'environ 100km² sont négatifs. On observe donc également un foyer d'infection dans ce site, semblable à celui de CP-GR.

A Campo dans son ensemble, Il est également intéressant de noter que onze individus positifs sont des femelles et seulement deux sont des mâles. Pour l'un des gorilles, le genre n'a pas pu être identifié. Nous avons analysé le génotype des échantillons positifs (35) ainsi que les échantillons négatifs appartenant aux groupes A et C (26). Nous avons collecté dans le groupe A, six femelles dont deux sont positives, et deux mâles séronégatifs. Dans le groupe C sept femelles, dont deux positives pour le SIVgor, et deux mâles ont été collectés. Dans le groupe E, de 2006, nous avons trouvé trois femelles, dont une était séropositive et un seul mâle dans le groupe. Au total, nous avons donc identifié 7 mâles et 21 femelles parmi lesquels deux mâles et onze femelles sont infectés. Le nombre d'échantillons est trop faible pour voir une différence significative entre les deux sexes (Fisher's exact test, $p = 0.3$). A Djoum, les échantillons positifs appartiennent à trois femelles et deux mâles, au moins. Cependant, à cause de la structure sociale des groupes de gorilles en harem, il semble probable que plus de femelles que de mâles soient infectées dans un groupe si la transmission sexuelle est plus importante que la transmission verticale.

Chez les gorilles, les mâles comme les femelles quittent leur groupe natal, mais il a été montré que la distance parcourue par les mâles est plus importante que pour les femelles, celles-ci restant principalement dans leur zone de naissance [176]. Si plus de femelles que de mâles sont infectées par le SIVgor, cela pourrait contribuer à expliquer la présence de foyers d'infection assez localisés.

Les liens épidémiologiques entre les virus caractérisés à l'intérieur des groupes sociaux de gorilles ont été mis en évidence à Campo par leur analyse phylogénétique. Les virus appartenant à différents groupes sociaux forment des clusters distincts suggérant des transmissions intra-groupe. En utilisant les microsatellites amplifiés des échantillons, nous pouvons observer les possibilités de relations de filiation entre différents individus (résultats décrits dans la partie suivante). Lorsque deux individus sont identiques sur un allèle pour chaque locus, la relation parent/enfant entre ces gorilles ne peut être exclue. Nous n'avons pas trouvé de lien de filiation directe entre les individus positifs appartenant au même groupe. Dans le groupe A, CPg-ID4 et CPg-ID5, deux femelles, ne peuvent être mère et fille puisqu'il existe une incompatibilité entre les deux génomes. Il en est de même pour les femelles positives du groupe C (CPg-ID9 et CPg-ID10) pour lesquelles il existe trois incompatibilités. Dans ces deux cas, il n'y a donc pas eu de contamination verticale entre ces individus.

On observe également, dans ces deux groupes, que aucun échantillon de mâle positif n'a été collecté. Dans le groupe A, les deux mâles identifiés (CPg-ID15 et CPg-ID18) ne sont les pères d'aucun individu du groupe. Il en est de même pour le groupe E, concernant le seul mâle collecté (CPg-ID28). Ces informations suggèrent que les fèces du mâle dominant du groupe n'ont pas été collectées autour de ce site de nids. Dans le groupe C, seul le mâle négatif CPg-ID26 pourrait être le père d'une des femelles (CPg-ID20) séronégative. Il est donc le seul à ne pas être exclu comme mâle dominant, et donc reproducteur dans ce groupe. Ces résultats suggèrent que les échantillons des mâles reproducteurs des groupes C et E n'ont pas été collectés et que leur statut sérologique pour le SIVgor reste encore inconnu. Une autre hypothèse, cependant, serait que nous ne collectons pas les fèces des descendants de ces mâles.

PARTIE 2

**LA TRANSMISSION DU SIVgor DANS DIFFERENTS GROUPES SOCIAUX DE
GORILLES :**

ETUDE DE SUIVI SUR LE SITE DE CAMPO MA'AN

PARTIE 2 : LA TRANSMISSION DU SIVGOR DANS DIFFERENTS GROUPES SOCIAUX DE GORILLES : ETUDE DE SUIVI SUR LE SITE DE CAMPO MA'AN

1- INTRODUCTION

A la suite de la découverte de plusieurs gorilles infectés de 2004 à 2007 dans une population localisée au cœur du Parc de Campo Ma'an (CP-GR), nous avons à nouveau échantillonné la même zone en deux occasions, en 2008 et en 2009, avec pour objectif d'étudier la dynamique de l'infection dans cette population.

Nous avons, en effet, montré dans la première partie que les virus des gorilles formaient des clusters en fonction du groupe d'appartenance de leur hôte. Avec ces nouvelles collectes, l'étude phylogénétique des virus en parallèle avec l'étude indirecte des individus infectés, de leur groupe d'appartenance, et la caractérisation de leurs microsatellites sur huit loci, ont pour but d'apporter des éléments de compréhension sur la dynamique de transmission du virus chez leur hôte naturel.

La zone de 50 km² de CP-GR est une surface où évoluent plusieurs groupes de gorilles. Nous avons trouvé, en février 2007, trois groupes de gorilles infectés par le virus SIVgor et dont les nids étaient éloignés de 4km les uns des autres au maximum. Dans cette zone, il semble probable que les domaines vitaux des différents groupes de gorilles se chevauchent. Le transfert de femelles entre les différents groupes peut alors faciliter la dispersion de l'infection.

Les objectifs de cette étude de suivi sur deux années supplémentaires sont donc d'étudier l'évolution de l'infection dans cette zone en estimant la prévalence et en étudiant les éventuelles incidence de séroconversion, et de définir les modes de transmission du SIVgor intra et inter-groupes dans cette zone.

Les méthodes utilisées sont les mêmes que celles précédemment décrites.

2- RESULTATS

2.1 Campo Ma'an : les nouveaux échantillons de CP-GR collectés en 2008 et 2009

2.1.1 Les nouveaux échantillons positifs

2.1.1.1 Localisation géographique :

Les missions de terrain de suivi dans la zone de CP-GR ont eu lieu en décembre 2008, qui correspond à la saison sèche, et en septembre 2009, saison des pluies dans la région. Nous avons collecté, durant la première mission, 36 et 95 échantillons de chimpanzés et de gorilles respectivement, et 18 et 68 durant la seconde prospection.

Aucun des échantillons de chimpanzés n'a réagi positivement aux tests de sérologie SIV. Par contre, nous avons collecté 20 fèces de gorilles positives en 2008 et 11 en 2009. Tous ces échantillons se situent à moins d'un kilomètre des échantillons positifs collectés précédemment dans cette zone CP-GR.

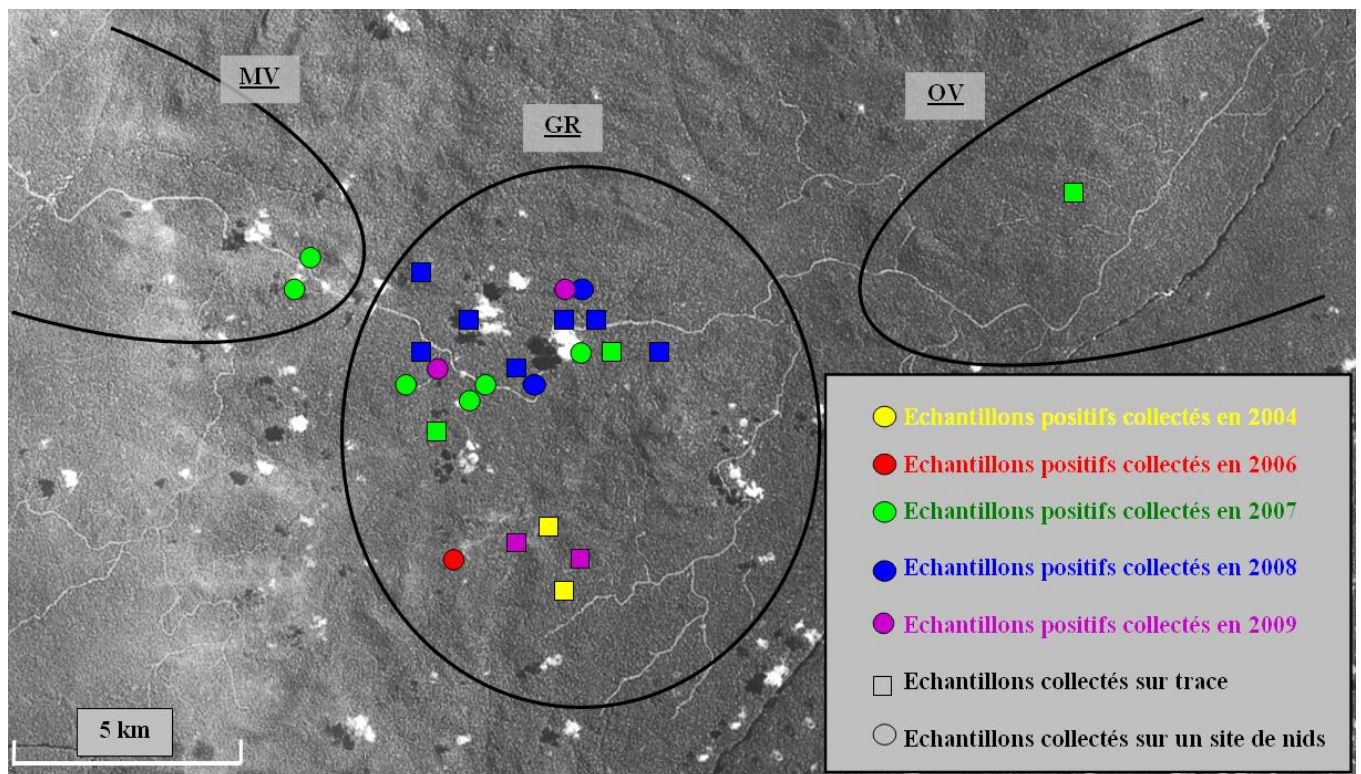


Figure 36 : Cartographie des échantillons positifs collectés à Campo de 2004 à 2009

La cartographie de tous les échantillons collectés depuis 2004, confirme la présence d'un **foyer d'infection** sur une large bande située le long de l'ancienne route forestière, au cœur du Parc. En prenant en compte les échantillons négatifs collectés, sachant que la zone de prospection s'étend à toute la surface pour le site CP-GR, le foyer semble être situé à l'endroit où la densité est la plus importante. Il s'agit de l'endroit où le plus de fèces ont été collectées. L'environnement autour de cette ancienne route, avec la présence de nombreuses plantes herbacées, est adapté à la nidification et l'alimentation des gorilles.

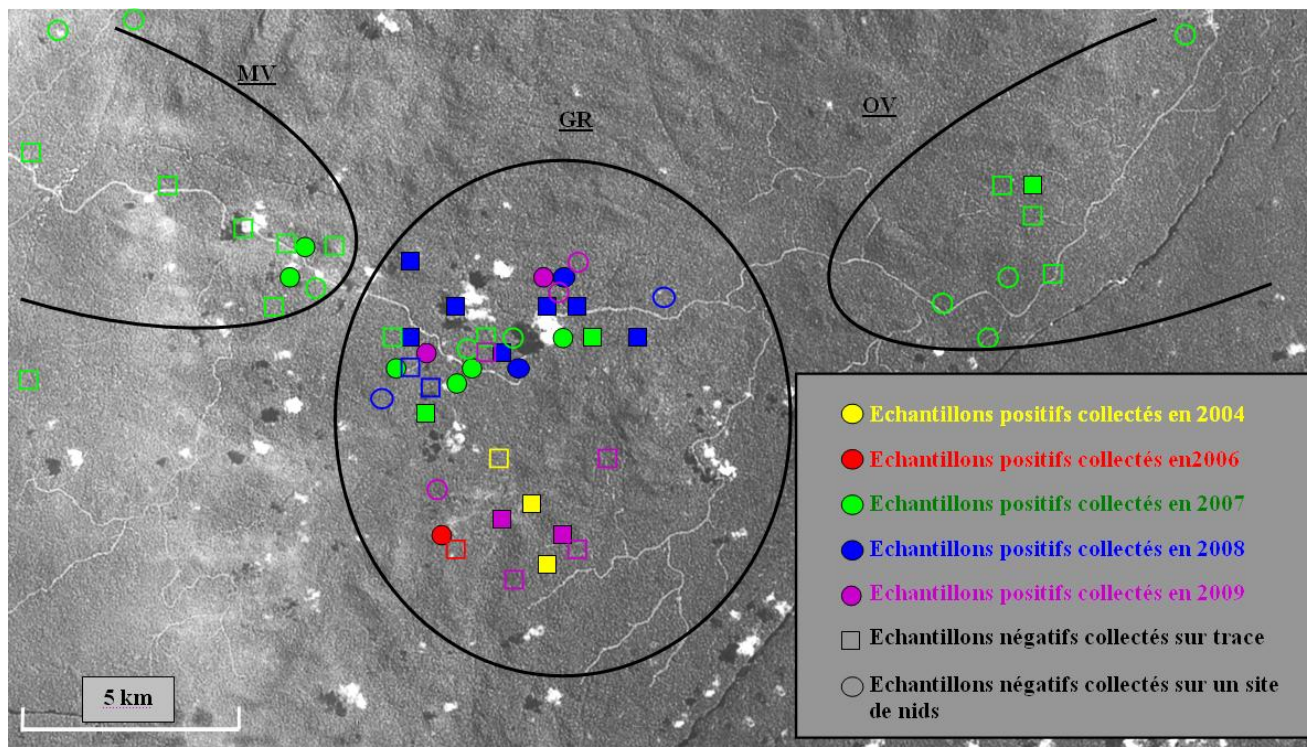


Figure 37 : Position géographique de toutes les fèces de gorilles, positives et négatives en sérologie SIV, collectées entre 2004 et 2009, à Campo

2.1.1.2 Identification des individus positifs

Les analyses microsatellites montrent que les vingt échantillons positifs trouvés en 2008 appartiennent à six individus et les dix échantillons de 2009 correspondent à quatre individus au moins. En effet, lors de la dernière collecte, l'ADN de trois des échantillons positifs était trop dégradé pour identifier les individus par l'analyse des microsatellites.

Il est apparu que l'un des individus dont nous avons collecté les fèces en 2008, était une femelle déjà échantillonnée en 2004, CPg-ID1. Au total, dans la zone de CP-GR, nous avons donc identifié vingt et un gorilles positifs différents, quatorze femelles, au moins six mâles, et

un individu dont le sexe reste indéterminé. Pour trois des échantillons positifs collectés en 2009 dans le même groupe, l'ADN était dégradé et seuls quelques loci ont pu être amplifiés. D'autres individus positifs ont également été collectés plusieurs fois dans des endroits différents et/ou à différentes dates dans une même collecte. C'est le cas pour CPg-ID30, CPg-ID31 et CPg-ID37.

Lieu de collecte	Date de collecte	Nombre d'échantillons de gorilles	Nombre d'échantillons de gorilles positifs	Nombre de gorilles positifs
CP-GR	Dec. 2008	95	20	6*
	Sept. 2009	68	11	4
Total		206	31	10

Tableau 19 : Nombre d'échantillons de gorilles collectés et nombre de gorilles positifs en 2008 et 2009. *un individu a été collecté précédemment en 2004.

En 2008, les fèces positives ont été collectées sur deux sites de nids (groupe F, trois nids et G, cinq nids) et sept traces. En 2009, nous avons trouvé des gorilles positifs dans deux sites de nids (groupe H, de trois nids et I, de six nids) et en deux occasions lors du suivi des traces. Nous avons identifié les individus négatifs autour des groupes de nids où des fèces positives ont été collectées. Cependant, dans le groupe I, la plupart des échantillons étaient trop dégradés pour pouvoir tirer des conclusions sur leur appartenance. Nous avons également analysé les échantillons négatifs trouvés autour des fèces positives, même s'ils n'étaient pas collectés aux alentours d'un site de nids. Pour dix-sept échantillons, l'ADN était trop dégradé pour avoir des résultats fiables.

Nous avons également réussi à retrouver une des femelles positives (CPg-ID1) identifiée en 2004 et échantillonnée à nouveau en 2008, montrant que le suivi des gorilles infectés de manière non invasive est possible.

N° Ech.	Sérologie	N° Labo	Groupe de nids	Date de collecte	Locus D18S536	Locus D4S243	Locus D10S676	Locus D9S922	Locus D2S1326	Locus D2S1333	Locus D4S1627	Locus D9S905	Locus Amelogenin	p sib (ID)
CP3400	pos	CPg-ID30	traces	05/12/08	146/146	185/189	180/196	268/272	-	314	232/240	266/-	M	
CP3401	pos			05/12/08	146/146	185/189	180/196	268/272	-	314	232/240	266/-	M	0.007
CP3402	pos			05/12/08	146/146	185/189	180/196	268/-	-	314	232/240	266/-	M	0.007
CP3403	pos			05/12/08	146/146	185/189	180/196	268/272	-	314	232/240	-/278	M	0.007
CP3404	pos			05/12/08	146/146	185/189	180/196	268/272	-	314	232/240	-/278	M	0.007
CP3405	pos			05/12/08	146/146	-	180/196	268/272	-	314	232/240	266/-	M	
CP3406	pos	?		05/12/08	146/146	185/189	180/196	268/272	-	314	232/240	266/-	M	0.007
CP3407	pos	CPg-ID30	F	05/12/08	146/146	185/-	180/196	268/272	-	314	232/240	-	M	0.007
CP3408	pos	CPg-ID31	F	05/12/08	146/146	173/-	180/196	-/280	-	322	240/240	278/278	M	
CP3409	pos	CPg-ID31	traces	05/12/08	146/146	173/189	180/196	276/280	255/267	318/322	240	278/278	M	0.01
CP3410	pos			05/12/08	146/146	173/189	180/196	-/280	255/267	318/322	240/240	278/278	M	0.007
CP3411	pos			06/12/08	146/146	173/189	180/196	276/280	255/267	318/322	240	278/278	M	0.01
CP3414	neg	CPg-ID39	G	07/12/08	146/154	189/193	180/196	268/280	271/275	318/334	232/244	270/278	M	
CP3415	neg	CPg-ID40	G	07/12/08	146/150	177/181	196/200	264/272	271/271	334/338	232/232	278/278	F	
CP3416	pos	CPg-ID32	G	07/12/08	146/154	193/193	180/192	280/280	251/271	298/334	232/236	-/278	M	
CP3417	pos	CPg-ID1	G	07/12/08	142/146	185/193	180/192	280/280	251/263	298/318	232/232	-/278	F	
CP 3418	neg	CPg-ID41	G	07/12/08	146/150	177/193	180/196	264/280	251/271	314/326	232/236	270/278	M	
CP3425	pos	CPg-ID1	Traces (G)	07/12/08	142/146	185/193	180/192	280/280	251/263	298/318	232/232	274/278	F	0.001
CP3426	pos			07/12/08	142/146	185/193	180/192	280/280	251/263	298/318	232/232	274/278	F	0.001
CP3428	pos			07/12/08	142/146	185/193	180/192	280/280	251/263	298/318	232/232	-/278	F	0.001
CP3427	neg	CPg-ID42	Traces (G)	07/12/08	142/146	181/193	180/200	272/280	271/271	334/334	232/236	278/278	M	

CP3429	neg	CPg-ID40	Traces (G)	07/12/08	146/150	177/181	196/200	264/272	271/271	334/338	232/-	-/278	F
CP3430	neg			07/12/08	146/150	177/181	196/200	264/272	271/271	334/338	232/-	-/278	F
CP3431	neg	?	Traces (G)	07/12/08	-	177/177	-	-	-	298/-	-	-	-
CP3432	neg	?	Traces (G)	07/12/08	-	-	-	-	-/271	-/334	-/244	-	-
CP3438	neg	CPg-ID43	traces	08/12/08	150/154	-/185	192/200	-/280	251/-	298/334	-	274/-	M
CP3439	neg	CPg-ID44	traces	08/12/08	142/154	181/185	-	-	251/271	322/326	-	286/286	F
CP3440	neg	CPg-ID45	traces	08/12/08	154/154	185/185	192/200	268/280	251/	298/334	232/244	274/278	M
CP3441	neg			08/12/08	154/154	185/185	192/200	-	251/251	298/334	232/-	274/278	M
CP3442	neg	CPg-ID46	traces	08/12/08	142/154	173/193	192/-	268/280	251/271	298	232/244	278/278	M
CP3443	pos	CPg-ID33	traces	08/12/08	142/146	-/185	180/192	276/280	251/251	298/318	232/232	278/278	F
CP3444	neg	?	traces	08/12/08	-/158	-/193	-	260/260	251/275	-	-	-	M
CP3445	neg	?	traces	08/12/08	-	-/193	-	-	251/-	-	-	-	M
CP3446	neg	?	traces	08/12/08	-/158	185/-	-	264/	251/-	-	-	-	-
CP3447	neg	?	traces	08/12/08	154/-	185/-	-	-	251/275	-	-	-	-
CP 3463	neg	?	traces	10/12/08	-	-	-	-	-	-	-	-	M
CP 3464	neg	?	traces	10/12/08	-	-	-	-	-	-	-	-	F
CP 3465	neg	?	traces	10/12/08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CP 3466	neg	CPg-ID47	traces	10/12/08	146/150	181/189	180/196	272/280	251/-	298/338	236/236	-	-
CP 3467	neg	?	traces	10/12/08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CP3468	pos	CPg-ID34	traces	10/12/08	146/150	193/193	192/200	264/276	251/255	298/334	-/240	278/278	M
CP3469	pos			10/12/08	146/150	193/193	192/200	264/276	251/255	298/334	228/240	278/278	M
0.004													
CP4758	pos	CPg-ID35	traces	27/09/09	146/146	189	196/200	268/280	255/271	314/334	-	278/278	M
CP4759	pos	CPg-ID36	traces	27/09/09	146/154	185/193	192/196	268/276	247/267	322/330	-	278/278	F

CP4760	pos	CPg-ID37	traces	27/09/09	146/154	193	192/196	264/268	251/267	334/334	228/232	274/278	F	
CP4761	neg	?	H	28/09/09	154	193/193	-	-	267/267	326/326	240/248	-	-	
CP4762	pos	CPg-ID38	H	28/09/09	146/150	185/193	196/200	280/284	267/275	314/322	232/240	278/278	M	
CP4763	pos			28/09/09	146/150	185/193	196/200	280/284	267/275	-/322	232/240	278/278	M	0.004
CP4764	pos			28/09/09	146/150	185/193	196/200	280/284	267/275	-/322	232/240	278/278	M	0.004
CP4765	pos	CPg-ID37	traces	28/09/09	146/154	-	192/196	264/268	251/267	334/334	228/232	274/278	F	0.002
CP4766	pos			28/09/09	146/154	-	192/196	264/268	251/267	334/334	228/232	274/278	F	0.002
CP4767	neg	CPg-ID48	traces	28/09/09	146/-	-	-/196	-/280	-/271	318/334	-	266/278	F	
CP4768	neg			28/09/09	-/154	181/193	192/196	260/280	259/-	-/334	232/-	-/278	F	
CP4771	neg	CPg-ID49	I	29/09/09	150/154	185	192/-	268/280	251/267	298	232/240	-	M	
CP4772	neg			29/09/09	150/154	-	192/200	268/280	251/-	-	-	278/278		
CP4773	neg	CPg-ID50	I	29/09/09	146/-	-	-	-	251/-	-	232/236	278/278	-	
CP4774	neg			29/09/09	146/150	177/181	196/200	272/280	251/263	-	-/236	278/278	F	
CP4775	pos	?	I	29/09/09	150/154	-	-	268/272	-	-	236/248	278/278	M	
CP4776	pos	?	I	29/09/09	-/146	189/189	-	268/-	-	298/322	-	-	M	
CP4777		?	I	29/09/09				276/276		-/334	248	-	-	
CP4780				29/09/09		193/193	180/180	276/276				278/278	M	
CP4778	neg	?	I	29/09/09	146/-	185/185	-	-	279/279	-	240	278/278	-	
CP4779	pos	?	I	29/09/09	-/150	-	-	-	-	-/334	244/-	-	M	
CP4781	neg	CPg-ID46 ?	I	29/09/09	142/154	173/193	192/200	-/280	251/271	-	-	278/278	M	

Tableau 20 : Identification par analyse des microsatellites. En rouge sont représentés les individus qui ont été échantillonné plusieurs fois. En gras les individus positifs. Pour chaque échantillon, le statut sérologique SIVgor est mentionné, ainsi que la date de collecte, le groupe d'appartenance et le numéro d'individu. La probabilité d'identité est également calculée Psib (ID), en fonction des huit allèles amplifiés et du genre. ? : Individu non identifié.

2.1.2 Les groupes contenant des gorilles positifs

2.1.2.1 Prévalence de l'infection SIVgor dans les groupes

Dans le groupe F, deux fèces sur les deux collectées étaient positives, appartenant à deux individus différents, mais le site était composé de trois nids. La prévalence à l'intérieur de ce groupe réduit peut donc être estimée à 66%. Les deux mâles positifs (CPg-ID30, CPg-ID31) ont été échantillonnés à plusieurs reprises.

Dans le groupe G, le nombre de nids trouvés est de cinq et le nombre d'individus collectés est identique. Deux des individus sont positifs au SIVgor, d'où une prévalence de 20% dans ce groupe. Ce groupe a également été échantillonné une seconde fois durant cette collecte, mais sur des traces. Il contient une femelle positive (CPg-ID1) déjà identifiée en 2004.

En ce qui concerne les groupes de nids identifiés en 2009, dans le groupe H composé de trois nids, nous avons collecté trois échantillons positifs appartenant au même mâle (CPg-ID38) et un échantillon négatif. Le groupe de six nids (Groupe I) était positionné au même endroit que le groupe G, collecté neuf mois auparavant. Nous avons trouvé trois échantillons positifs dans ce site de nids mais nous n'avons pas pu déterminer le nombre d'individus infectés dû à la mauvaise qualité de l'ADN.

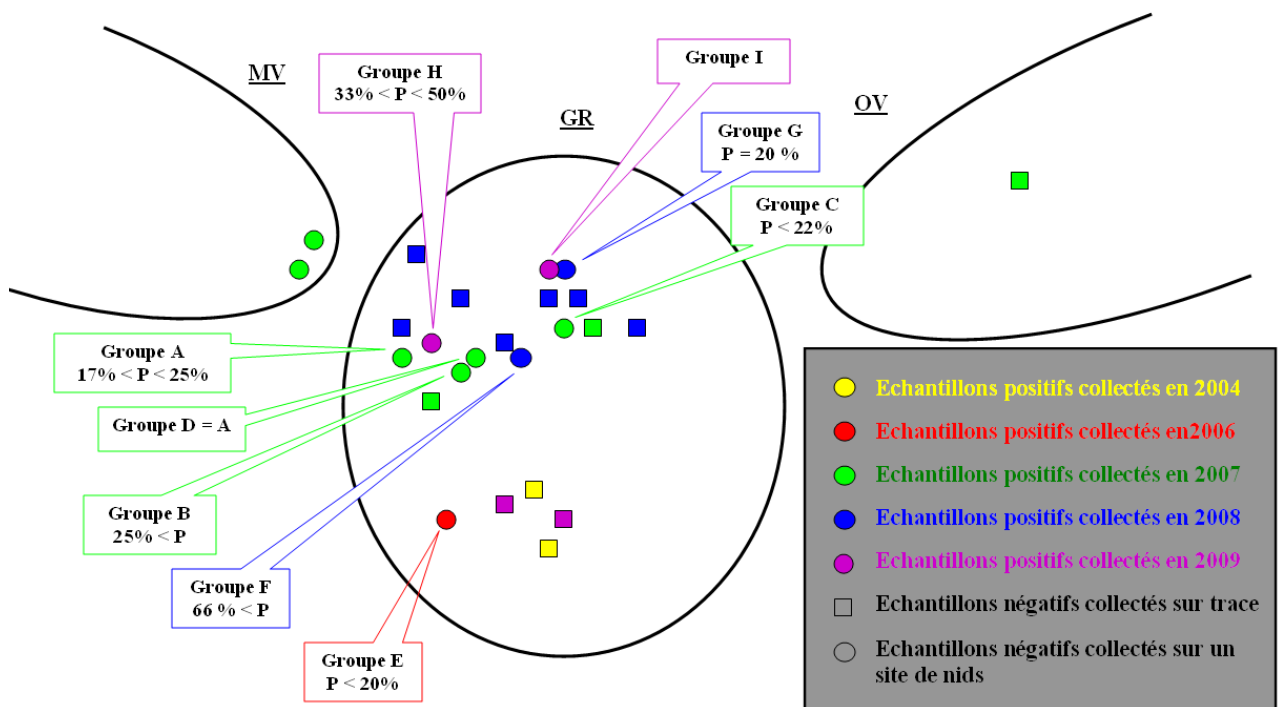


Figure 38 : Position des groupes de nids contenant des échantillons positifs et estimation de la prévalence par groupe à Campo de 2004 à 2009.

Groupe	Année de collecte	Nombre de nids	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs	Nombre d'individus positifs	Nombre d'individus collectés	Prévalence A	Prévalence B
CP-F	2008	3	2	2	1	2	66%	-
CP-G	2008	5	5	2	2	5	20%	20%
CP-H	2009	3	4	3	1	2	33%	50%
CP-I	2009	6	11	3	-	-	-	-

Tableau 21 : Identification des groupes contenant des gorilles positifs et évaluation de la prévalence en fonction du nombre de nids et des analyses des microsattellites. La prévalence A est calculée en fonction du nombre d'individus positifs identifiés et du nombre de nids comptés ; la prévalence B est calculée en fonction du nombre d'individus positifs identifiés et du nombre total d'individus collectés.

2.1.2.2 Les déplacements des groupes

Nous avons parfois collecté les groupes en plusieurs occasions, ce qui nous permet de pouvoir identifier une partie de leurs domaines vitaux (voir figure 39). C'est le cas pour le groupe G dont certains individus avaient été échantillonnés en 2004 puis en 2008 (CPg-ID1 et CPg-ID32), représenté en jaune sur la figure. D'autres individus ont été échantillonnés plusieurs fois durant la même mission, comme ceux appartenant au groupe F (CPg-ID30 et CPg-ID31) représenté en bleu. Pour la femelle CPg-ID37, les fèces ont été collectées deux fois à un jour d'intervalle mais nous n'avons pas pu définir son groupe d'appartenance puisque les collectes ont été effectuées sur des traces. Elle est cependant, dans le même groupe que les individus CPg-ID35 et CPg-ID36. Elle est représentée en violet sur la figure. Le groupe E, identifié en 2006 a également été échantillonné deux fois. Il est représenté en rouge sur la figure

Quant au groupe A, identifié en 2007, il a été à nouveau échantillonné en 2010 (L. Etienne, communication personnelle) et nous avons retrouvé les individus CPg-ID4 et CPg-ID5. Une partie du domaine vital de ce groupe est représenté en vert sur la figure.

Ces résultats confirment bien que ces groupes contenant des gorilles positifs évoluent sur la même surface et que leurs domaines vitaux se chevauchent.

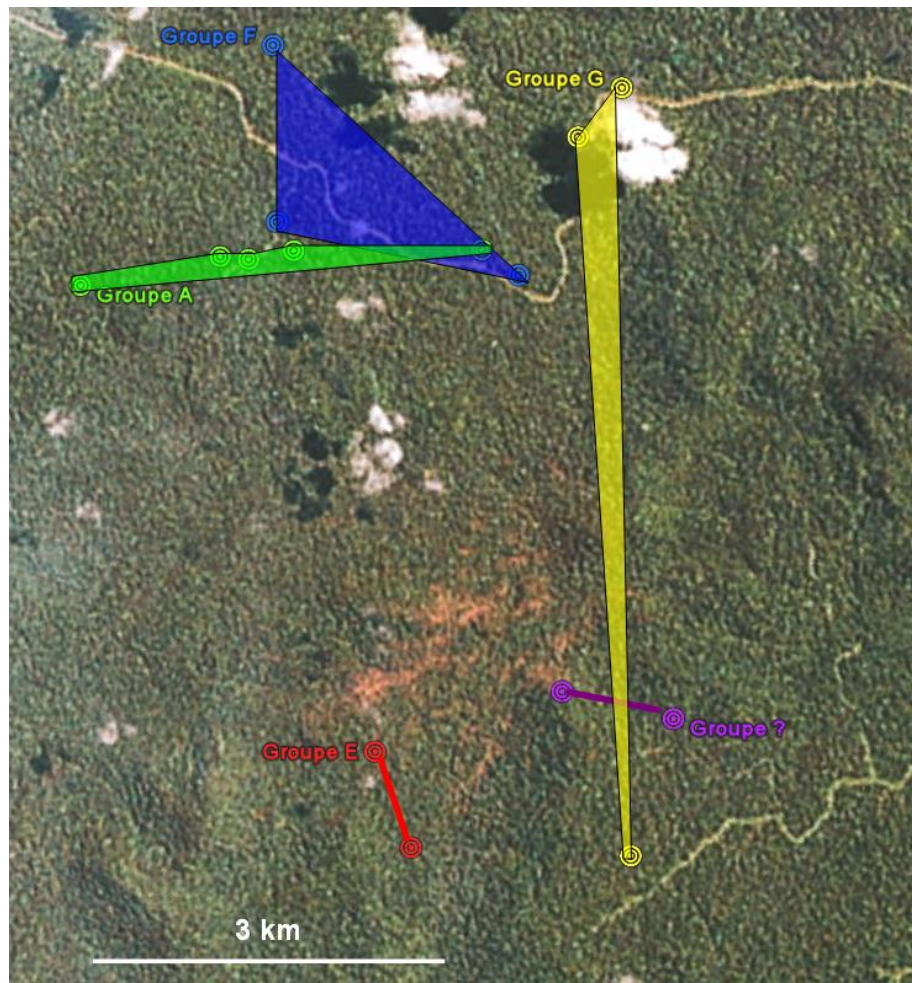
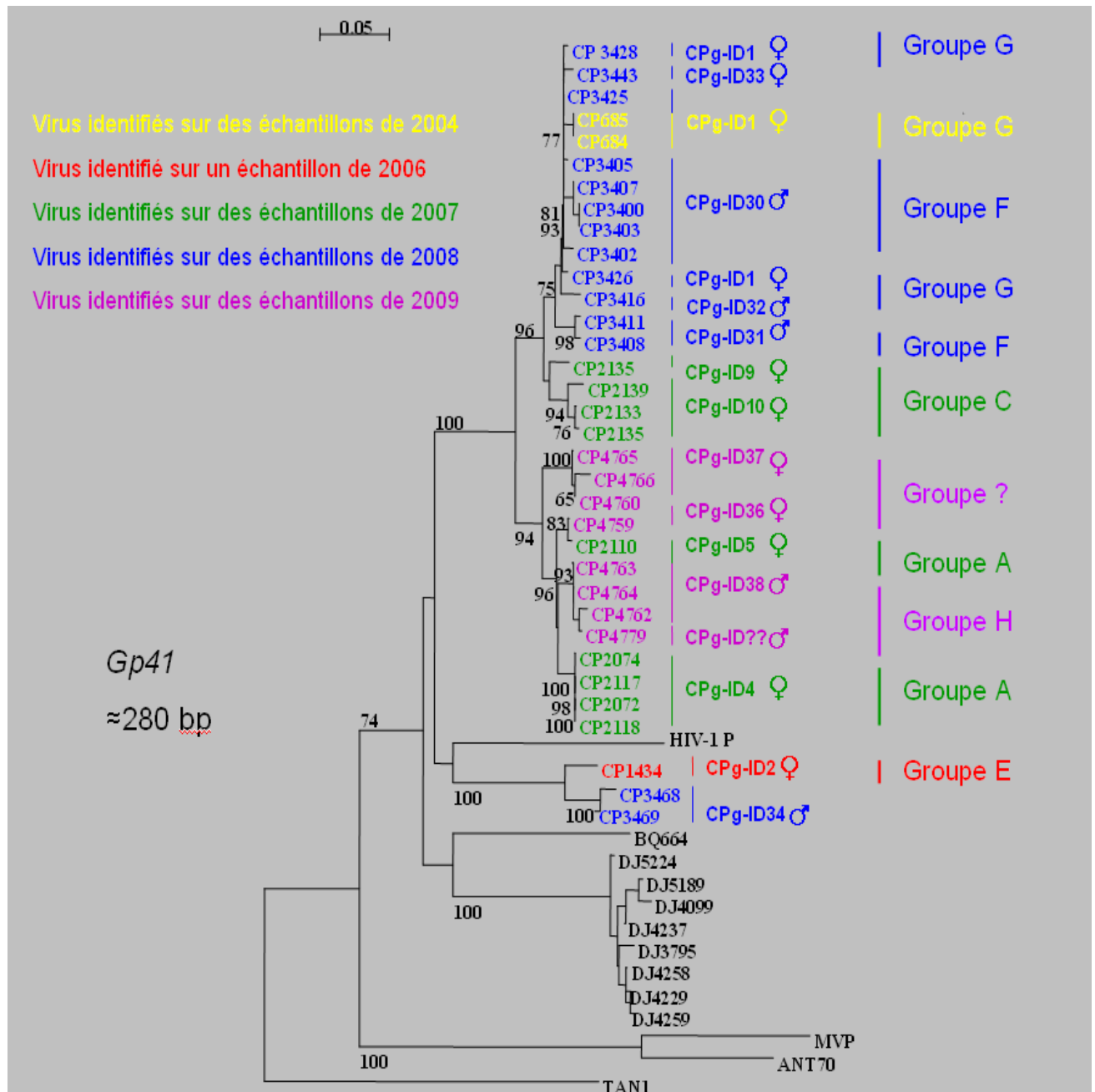


Figure 39 : Représentation d'une partie des domaines vitaux des groupes contenant des gorilles positifs et dont les individus ont été échantillonnés en différentes occasions.

2.1.3 Phylogénie des virus caractérisés

Pour vingt-deux nouveaux échantillons, correspondant à dix individus, nous avons pu caractériser les virus SIV sur la région gp41 du gène *env* (entre 300 et 700 paires de bases) et procéder à l'étude phylogénétique de ces virus afin de les comparer à ceux précédemment caractérisés. Tous les nouveaux virus caractérisés se regroupent avec les virus précédemment identifiés dans ce site (figure 35). Les échantillons collectés en 2008, représentés en bleu sur l'arbre phylogénétique, se regroupent tous autour des échantillons collectés en 2004 (CPg-ID1), à l'exception d'un individu mâle (CPg-ID34) qui possède un virus divergent, génétiquement proche de celui trouvé chez la femelle collectée en 2006 (CPg-ID2). Il existe donc un lien épidémiologique entre le virus identifié en 2004 chez une femelle (CPg-ID1) et ceux identifiés en 2008 chez trois mâles (CPg-ID30, CPg-ID31, CPg-ID32) et une autre femelle (CPg-ID33). Ces virus sont également proches de ceux retrouvés

De même, le virus du mâle CPg-ID34 possède un lien épidémiologique avec celui de la femelle découverte en 2006 (CPg-ID2). Quant aux virus identifiés en 2009 chez deux femelles (CPg-ID36, CPg-ID37) et deux mâles, CPg-ID38, et un second non identifié représentés en rose sur l'arbre phylogénétique, ils sont génétiquement proches de ceux des gorilles appartenant au groupe A (CPg-ID4, CPg-ID5).



167

2.2 Evolution de l'infection *SLVgor* à CP-GR de 2004 à 2009

2.2.1 Les cas de séroconversions

Afin de pouvoir déterminer d'éventuelles séroconversions chez les gorilles de Campo Ma'an, nous avons identifié un certain nombre de gorilles dont les fèces étaient négatives à CP-GR. L'une des femelles collectée en 2004 a en effet, été retrouvée fin 2008, nous avons donc identifié tous les individus dont les échantillons ont été collectés cette année-là. L'ADN de tous les échantillons collectés en 2006 a également été analysé. Durant la prospection de 2007, nous avons collecté des échantillons négatifs autour de deux sites de nids, cependant, pour la plupart d'entre eux, l'ADN était trop dégradé. Enfin, en 2008, les analyses des microsatellites ont porté sur les échantillons trouvés autour de trois sites de nids. A nouveau, pour deux des groupes, l'ADN était trop dégradé pour les analyses. Nous n'avons pas analysé les échantillons négatifs collectés en 2009, mis à part ceux collectés autour des échantillons positifs.

Au total, nous avons tenté d'identifier 220 échantillons dans la seule zone de CP-GR. Entre deux et six PCR ont été effectués sur les différents allèles et les échantillons ne donnant pas de résultats concordants ont été éliminés. Nous avons identifié au total 59 individus à partir de 130 échantillons exploitables.

N° Labo	Date de collecte	Identifiant ID	Locus D18S536	Locus D4S243	Locus D10S676	Locus D9S922	Locus D2S1326	Locus D2S1333	Locus D4S1627	Locus D9S905	Genre
CP 681	11/04/2004	CPg-ID51	142/146	173/181	192/196	276/280	255/271	314/330	236/240	278/278	F
CP 682	11/04/2004	CPg-ID52	150/154	181/193	196/196	268/276	259/267	334/334	232/232	278/278	F
CP 683	11/04/2004	CPg-ID53	142/146	189/189	192/196	268/268	251/271	314/314	232/244	278/278	M
CP 686	19/04/2004	CPg-ID32	146/154	193/193	180/192	280/280	251/271	298/-	232/236	278/278	M
CP 687	19/04/2004	CPg-ID54	150/-	-/-	-/-	272/284	251/271	318/318	232/236	278/278	M
CP 1440	02/04/2006	CPg-ID36	146/154	185/193	192/196	268/276	247/267	322/330	236/244	278/278	F
CP 1442	02/04/2006	CPg-ID28	146/150	173/177	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M
CP 1446	02/04/2006		146/150	173/-	196/200	276/280	251/275	306/334	236/248	278/278	M
CP 1443	02/04/2006	CPg-ID2	146/154	-/-	196/200	276/280	255/267	298/318	236/244	278/278	F
CP 1444	02/04/2006	CPg-ID55	150/150	181/185	192/196	268/280	251/259	318/326	240/244	278/278	F
CP 1445	02/04/2006	CPg-ID56	146/146	181/193	192/196	280/280	251/259	314/-	232/244	278/278	F
CP 1447	02/04/2006		146/146	181/193	192/196	280/280	251/259	314/326	232/244	278/278	F
CP 3375	05/12/2008	CPg-ID43	150/154	181/185	192/200	-/-	251/251	298/334	232/244	274/278	M
CP 3377	05/12/2008		150/154	181/185	192/200	268/280	251/251	298/334	232/-	274/278	M
CP 3378	05/12/2008		150/154	181/185	192/200	268/280	251/251	298/334	232/244	274/278	M
CP 3379	05/12/2008		150/154	181/185	192/200	268/280	251/251	298/334	232/-	274/278	M
CP 3376	05/12/2008	CPg-ID46	142/154	173/-	192/200	268/280	251/271	298/334	232/244	278/278	M
CP 3380	05/12/2008		142/154	173/193	192/-	268/280	251/271	298/334	232/-	278/278	M
CP 3381	05/12/2008	CPg-ID57	142/154	185/185	192/192	268/268	251/271	-/322	248/248	278/278	F
CP 3382	05/12/2008	CPg-ID58	142/150	193/193	192/192	-/280	251/259	326/334	-/-	278/278	M
CP 3383	05/12/2008		142/150	193/193	192/192	268/-	251/-	-/334	-/-	278/278	M
CP 3384	05/12/2008	CPg-ID59	154/154	173/185	192/200	264/268	251/271	298/334	240/244	278/278	M
CP 3385	05/12/2008		154/154	173/185	192/200	264/268	251/271	298/334	-/-	278/278	M
CP 3386	05/12/2008		154/154	173/185	192/200	264/268	251/271	298/334	-/244	278/278	M

Tableau 22 : Identification des individus négatifs de 2004 et 2006. En 2008, seul un groupe de gorilles, tous séronégatifs a pu être identifié. En rouge sont représentés les individus qui ont été collectés plus d'une fois. En gris sont les individus négatifs séroconvertis par la suite

En comparant les échantillons négatifs que nous avons collectés avec les positifs, nous avons pu identifier deux cas de séroconversions. Il s'agit d'une part de CPg-ID32 (CP686), un mâle dont les fèces ont été collectées précédemment avec celle de la femelle positive CPg-ID1 (CP684 et CP685). En 2004, les analyses sérologiques de CP686 étaient négatives. En 2008, ce mâle a été de nouveau échantillonné (CP3417), avec la même femelle positive, et cette fois-ci, les tests sérologiques étaient positifs.

D'autre part, la femelle CPg-ID36, positive en 2009 (CP4759) avait été déjà échantillonnée en 2006 (CP1440). A ce moment-là, les tests de sérologie étaient négatifs. Il s'agit donc également d'une autre séroconversion. CPg-ID36 était, en 2006, avec la femelle positive CPg-ID2, dont nous n'avons pas retrouvé la trace par la suite et faisait donc partie du groupe E.

Se pose cependant le problème de la sensibilité des tests de sérologie. Nous avons donc procédé à des essais d'amplification d'ARNv sur ces échantillons négatifs (CP686 et CP1440), qui ont tous donné des résultats négatifs.

Aucune autre séroconversion n'a été découverte mais de nombreux échantillons négatifs n'ont pu être identifiés avec certitude.

2.2.2 Evolution de la prévalence à CP-GR de 2004 à 2009

Dans le site de CP-GR, nous avons identifié 59 individus différents. Ces individus identifiés proviennent de 130 échantillons dont l'ADN n'était pas dégradé. Ces résultats nous donnent une moyenne de 2,20 échantillons collectés par individu, ce qui nous permet de faire une estimation du nombre total d'individus collectés et donc de la prévalence par année de collecte.

En 2004, seuls huit échantillons ont été collectés et ils ont tous été identifiés comme appartenant à sept individus différents. L'estimation du nombre d'échantillons par individu n'a donc pas été utilisée pour cette année. D'autre part, le nombre d'échantillons collectés est trop faible pour un calcul de prévalence.

Pour les autres estimations de prévalence, nous avons utilisé l'équation décrite dans le chapitre précédent (page 108) qui permet d'ajuster le nombre d'individus collectés à partir du nombre d'échantillons en prenant en compte les moyennes des échantillons dégradés et des erreurs d'identification d'espèces.

Année de Collecte	Echantillons collectés	Echantillons contenant des IgG	Echantillons contenant des IgG dont l'espèce a été bien identifiée	Estimation du nombre total de gorilles collectés	Echantillons positifs en sérologie pour le SIVgor	Nombre de gorilles SIVgor positifs	Prévalence du SIVgor en % (95% I.C.)
2004	8	7	7	7	3	2	28.6% (8-64)
2006	22	20	20	9	2	1	11.0% (1-43)
2007	125	116	113	52	21	8	15.5% (8-27)
2008	95	88	86	39	20	6	15.3% (7-30)
2009	68	63	62	28	10	4	14.3% (6-31)*

Tableau 23: Prévalence de l'infection SIVgor à CP-GR de 2004 à 2009

* : prévalence minimale, trois échantillons positifs n'ont pas pu être identifiés

En 2004, le nombre d'échantillons collecté est faible, la prévalence est donc probablement surestimée cette année.

Ces résultats montrent que la prévalence de 2006 à 2009 est relativement constante. Il n'y a pas de différence significative entre les prévalences estimées de ces quatre années ($\chi^2 = 0,93$; $df=3$; $p>0,1$) ni d'augmentation ou de diminution régulière des estimations ($R^2 = 0,36$; $df=2$; $p=0,4$ two-tailed).

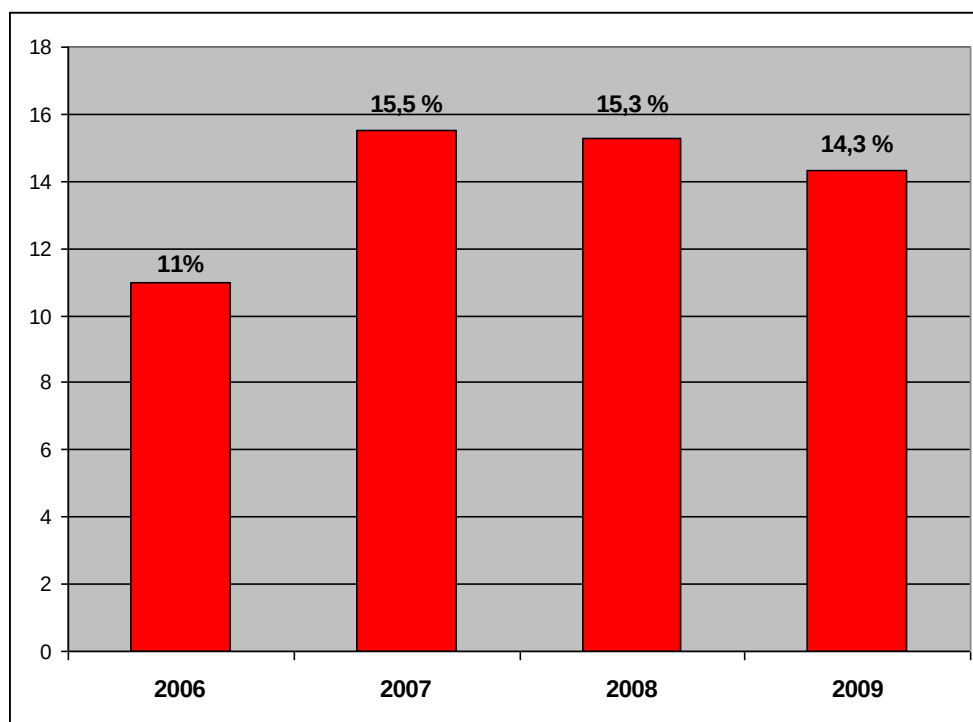


Figure 41 : Estimation de la prévalence du SIVgor à CP-GR de 2006 à 2009

2.2.3 L'infection comparée chez les mâles et les femelles

Pour chaque année de collecte, un certain nombre d'individus ont été identifiés. D'autres n'ont pas pu l'être puisque l'ADN était trop dégradé. Les nombres de mâles et de femelles infectés ont été ajustés en fonction du nombre d'individus identifiés et de leur genre. Au total, nous avons collecté à CP-GR, quatorze femelles positives (l'une d'entre elle ayant été collectée en 2004 et à nouveau en 2008), six mâles positifs, un individu dont le sexe n'a pas pu être défini, et trois échantillons qui n'ont pas pu être identifiés, mais leur genre a pu être défini comme des mâles.

Dans les calculs suivants, chaque année est considérée comme indépendante. Seuls les individus identifiés sont pris en compte et les ré-échantillonnages d'une année sur l'autre sont inclus dans les calculs.

Année de collecte	Nombre de femelles gorilles collectées et identifiées		Ratio Nb de femelles SIVgor pos/ Nb de femelles collectées identifiées	Nombre de mâles gorilles collectés et identifiés		Ratio Nb de mâles SIVgor pos/ Nb de mâles collectés identifiés
	Femelles SIVgor positives	Femelles SIVgor négatives		Mâles SIVgor positifs	Mâles SIVgor négatifs	
2004	2	2	0.5	0	3	0
2006	1	5	0.17	0	2	0
2007	7	9	0.44	0	4	0
2008	2	3	0.4	4	8	0.33
2009	3	1	0.75	2	2	0.5

Tableau 24: Nombre de femelles et de mâles gorilles positifs collectés de 2004 à 2009 et calcul du ratio pour chaque genre à CP-GR.

Chez les gorilles, nos résultats montrent que le nombre de femelles infectées est significativement plus important que le nombre de mâles ($p=0.05$; Wilcoxon signed ranks test).

Afin de comparer si ce résultat est identique chez les chimpanzés, nous avons pris en compte les individus positifs pour le SIVcpz, identifiés dans les études précédentes au Cameroun [109] et à Gombé [118]. Ces résultats sont organisés en sites de collecte, chaque site étant indépendant (tableau 25).

site de collecte (sous-espèce)	Nombre de femelles chimpanzés collectées et identifiées		Ratio Nb de femelles SIVcpz pos/ Nb de femelles collectées identifiées	Nombre de mâles chimpanzés collectés et identifiés		Ratio Nb de mâles SIVcpz pos/ Nb de mâles collectés identifiés
	Femelles SIVcpz positives	Femelles SIVcpz négatives		Mâles SIVcpz positifs	Mâles SIVcpz négatifs	
DP (Ptt)	2	32	0.06	0	12	0
EK (Ptt)	1	10	0.09	3	1	0.75
MB (Ptt)	5	5	0.5	1	7	0.12
LB (Ptt)	1	2	0.33	1	5	0.17
KK (Pts)	9	33	0.21	4	23	0.15
MT (Pts)	1	13	0.07	3	8	0.27

Tableau 25 Nombre de femelles et de mâles chimpanzés positifs collectés de 2004 à 2009, et calcul du ratio pour chaque genre pour 6 sites de collectes.

Le nombre de femelles chimpanzés infectées dans les différents sites n'est pas significativement plus important que le nombre de mâles infectés ($p > 0.05$; Wilcoxon signed ranks test).

2.3 Relations entre les hôtes et transmission du SIV

Les relations entre les individus infectés peuvent être inférées par l'identification des différents groupes, ce qui permet dans un premier temps de savoir si ces gorilles font, ou ont fait, partie du même groupe social. Les relations de parenté entre les différents individus sont difficiles à établir avec ce nombre restreint de loci. Il est tout de même possible d'exclure des liens de filiation lorsqu'il existe des incompatibilités entre les allèles des parents potentiels et de leur descendance.

Les liens épidémiologiques existant entre les différents virus identifiés et analysés phylogénétiquement apportent également des informations. Les virus génétiquement proches les uns des autres reflètent une histoire épidémiologique commune et les transmissions entre les hôtes. Nous avons en effet montré dans le chapitre précédent, grâce à une approche multidisciplinaire, que les virus infectant les gorilles qui appartiennent au même groupe social sont génétiquement proches.

Afin d'étudier ces relations, nous avons utilisé le génotype consensus de chaque individu identifié. En effet, lorsque plusieurs échantillons appartenaient au même individu, nous avons utilisé tous les allèles amplifiés, même s'ils ont été amplifiés sur différents échantillons du même gorille.

2.3.1 Les possibilités de transmissions verticales mère-enfant

La transmission verticale du virus SIV de la mère à l'enfant est possible si la mère est infectée. C'est le cas chez les chimpanzés et chez l'homme [118] Les virus des deux individus seront alors phylogénétiquement proches. Les possibilités de filiation entre une femelle positive et les autres individus positifs ont été étudiées et sont résumées dans la figure 45.

Lorsque la possibilité d'une filiation entre une femelle positive et un autre gorille positif ne peut être exclue, nous avons vérifié si les virus de ces individus sont génétiquement proches. C'est le cas pour les virus de CPg-ID1 et CPg-ID33 (croix rouge sur la figure 39), ainsi que pour les virus retrouvés chez CPg-ID4 et CPg-ID36 / CPg-ID37, et enfin ceux identifiés chez CPg-ID5 et CPg-ID38.

Concernant les individus CPg-ID1 et CPg-ID32 (en bleu sur la figure 39) qui appartiennent au même groupe depuis 2004, il ne peut être exclu que CPg-ID1 soit la mère de CPg-ID32, et leurs virus sont phylogénétiquement proches l'un de l'autre.

		Femelles SIVgor positives												
		CPG-ID0	CPG-ID1	CPG-ID2	CPG-ID3	CPG-ID4	CPG-ID5	CPG-ID6	CPG-ID7	CPG-ID9	CPG-ID10	CPG-ID33	CPG-ID36	CPG-ID37
Individus SIVgor positifs	CPg-ID0													
	CPg-ID1											X		
	CPg-ID32		X								X	X		
	CPg-ID2								X		X			
	CPg-ID3							X						
	CPg-ID4							X					X	X
	CPg-ID5							X	X					
	CPg-ID6				X	X	X		X				X	X
	CPg-ID7			X			X	X					X	
	CPg-ID8	X												
	CPg-ID9													
	CPg-ID10			X										
	CPg-ID30					X		X	X				X	X
	CPg-ID31							X						
	CPg-ID33		X											
	CPg-ID34													X
	CPg-ID35				X				X	X				
	CPg-ID36					X		X	X					
CPg-ID37					X		X							
CPg-ID38				X		X	X	X						

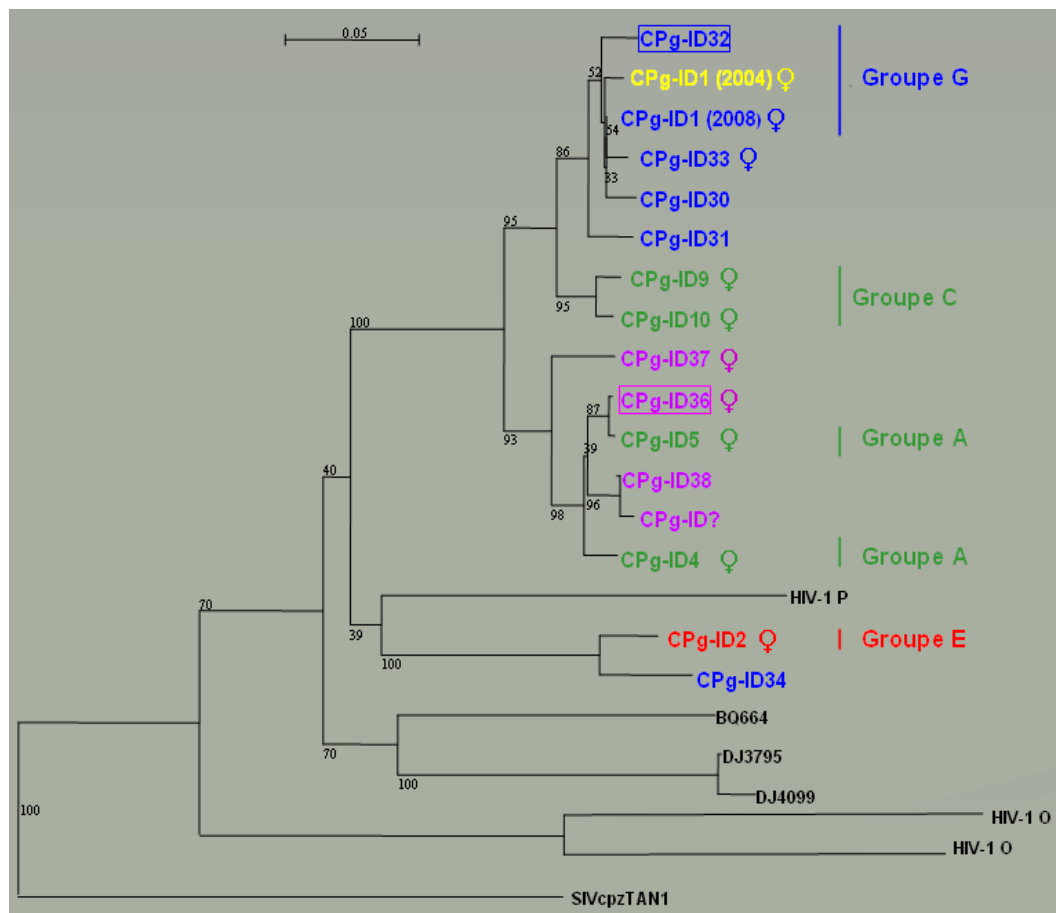


Figure 39 : En haut : Les compatibilités de génotype pour des relations de filiation mère/enfant sont représentées par des croix ; En rouge sont identifiés les virus génétiquement proches. En bas : Arbre phylogénétique des virus identifiés chez les gorilles de CP-GR et leur appartenance à un groupe social. CPg-ID32 et CPgID36 sont séroconvertis

2.3.2 Les possibilités de transmissions horizontales

Les transmissions horizontales sont possibles dans le cas de relations sexuelles ou lors de comportements spécifiques pouvant entraîner un contact avec le sang.

Pour les individus infectés appartenant au même groupe social au moment de la collecte, certains virus forment des clusters, comme ceux du groupe A (CPg-ID4 et CPg-ID5) et ceux du groupe C (CPg-ID9 et CPg-ID10). Dans ces deux groupes, les gorilles infectés sont des femelles qui ne peuvent pas être mère et filles puisque les analyses des microsatellites montrent des incompatibilités sur deux et trois allèles respectivement (cf tableau 14). Ces résultats suggèrent donc une transmission horizontale du virus, avec ou sans intermédiaire. Dans ces deux groupes collectés en 2007, nous n'avions pas trouvé de mâle séropositif. Il est donc possible que les mâles dominants et reproducteurs de ces groupes n'aient pas été collectés.

Dans le groupe C (2007), aucun nouveau virus identifié en 2008 et 2009 n'est génétiquement très proche de ceux retrouvés chez CPg-ID4 et CPg-ID5. Par contre, les virus identifiés en 2009 forment un cluster avec ceux du groupe A (CPg-ID36, CPg-ID37, CPg-ID38 et un autre individu qu'il n'a pas été possible d'identifier par l'analyse des microsatellites).

Le gorille CPg-ID36 est une femelle séroconvertie portant un virus très proche de celui infectant la femelle CPg-ID5. Ces deux femelles n'ont pas pourtant de lien de parenté direct, et n'ont également pas été retrouvées ensemble. Ce résultat laisse donc supposer une transmission horizontale ou un lien épidémiologique indirect, par l'intermédiaire d'un mâle dominant, par exemple. CPg-ID36 était en 2006 dans un groupe de gorilles dont une femelle (CPg-ID2) porte un virus très divergent. En 2009, CPg-ID36 a été échantillonné avec CPg-ID37 (femelle positive), CPg-ID35 (mâle positif), et CPg-ID48 (femelle négative) mais aucun lien de filiation n'existe entre ces individus. La femelle CPg-ID36 semble donc avoir été contaminée après un transfert de groupe.

Deux des virus sont très divergents par rapport aux autres identifiés sur le site de CP-GR, il s'agit de ceux portés par les gorilles CPg-ID2 et CPg-ID34. La femelle identifiée en 2004 et le mâle dont l'échantillon a été collecté en 2006, n'ont pas de lien de parenté direct. Ceci suggère également une transmission horizontale de ce virus divergent.

L'un des clusters de virus, contenant celui de la femelle CPg-ID1, identifié en 2004 et à nouveau en 2008, regroupe les virus de cinq individus différents, montrant des liens épidémiologiques. Les deux mâles CPg-ID30 et CPg-ID31 ont été collectés ensemble, mais les autres individus de leur groupe (F) n'ont pas pu être identifiés. CPg-ID1 et CPg-ID32 sont une femelle et un mâle appartenant au même groupe (G) depuis 2004. Il est alors possible que les groupes de nids identifiés comme F et G appartiennent en réalité au même groupe social de gorilles. CPg-ID30 et CPg-ID31 n'ont aucun lien de parenté avec les autres individus, laissant supposer une transmission horizontale du virus. CPg-ID33 est une femelle appartenant à un groupe différent.

3- DISCUSSION

3.1 La prévalence de l'infection SIVgor de 2004 à 2009 à CP-GR

Grâce à la méthode de suivi non invasive mise en place sur le terrain, associée à des études génétiques et virologiques, un suivi des gorilles infectés en milieu naturel a pu être possible. Cette étude a permis de montrer qu'il existe un foyer d'infection SIVgor chez les gorilles dans le Parc de Campo Ma'an. La zone CP-GR couvre environ une surface de 50km², mais la prévalence la plus importante est concentrée le long de l'ancienne route forestière. Cette zone est devenue, après la fermeture de la route, un lieu attractif pour les gorilles où poussent en abondance des marantacées et zingibéracées, indispensables à leur nutrition et nidification. De plus, la difficulté de son accès limite désormais la présence de l'Homme. Cette zone représente l'une des seules opportunités, avec le site de Djoum, d'étudier le SIVgor chez son hôte et en milieu naturel.

Si la découverte du virus chez les gorilles s'est faite en 2004 à CP-GR, le nombre d'individus collectés cette année-là était trop faible pour donner des conclusions sur la prévalence de l'infection. Par la suite, les cinq collectes successives de 2006 à 2009 ont montré que la prévalence à l'intérieur de cette zone d'environ 50 km² restait relativement stable, variant entre 11% et 15,5%. Cette stabilité suggère un **équilibre endémique** du SIVgor dans ce site, sur ces quatre ans. Seuls deux cas de **séroconversions** ont été identifiés chez un mâle et une femelle. Il ne peut cependant pas être exclu que les premiers échantillons n'aient pas réagi aux tests sérologiques. Ces individus ont été collectés, pour le mâle en 2004 puis en 2008, et pour la femelle en 2006 et en 2009. Ces deux cas ne permettent pas de calculer l'incidence de séroconversion chez cette population de gorilles, mais montrent que le virus continue à se transmettre entre les individus. De plus, une femelle positive a également été

échantillonnée en 2004 et 2008, montrant que les **gorilles infectés peuvent vivre au moins 5 ans avec le virus.**

La prévalence stable dans cette zone pourrait être due au fait que les gorilles infectés meurent prématurément, comparés aux individus non infectés, ce qui expliquerait que la prévalence de l'infection n'augmente pas de manière exponentielle, malgré les nouvelles infections. Il a, en effet, été démontré chez les chimpanzés *Pan troglodytes schweinfurthii* de Gombé, que les individus infectés mourraient plus jeunes que les chimpanzés non infectés. Cette hypothèse, cependant, reste à confirmer et aucune étude n'a encore été réalisée sur la pathogénicité du SIVgor chez les gorilles. L'identification de tous les individus collectés dans cette zone est nécessaire afin de définir le taux d'incidence de séroconversion d'une part, ainsi que le pourcentage de ré-échantillonnage des mêmes individus d'une année sur l'autre d'autre part. En effet, si les individus collectés d'une année sur l'autre sont différents, cela peut également suggérer que de nouveaux gorilles séronégatifs immigrent dans cette zone, ou naissent sans être contaminés, et compensent le nombre de séroconversions, expliquant ainsi la stabilité de la prévalence.

Les derniers inventaires fauniques du Parc de Campo Ma'an montrent une présence des gorilles importante dans la zone de CP-GR. Ces estimations sont basées sur les IKA (Indices kilométrique d'abondance) et non sur des estimations de densité [177]. Cependant, toute la surface du parc a été prospectée, permettant une comparaison entre les différentes zones. En toute logique, les indices d'activités humaines sont situés sur la périphérie du parc et ne se superposent que peu avec les indices de présence des gorilles. Ces résultats datent de 2009. En 2004, lorsque la route au centre du Parc était ouverte et utilisée, les gorilles étaient beaucoup moins présents dans cette zone, les études de densité avaient alors montré que cette zone était significativement moins peuplée par les gorilles que les autres sites prospectés. La route a été fermée en 2006 et la végétation s'est alors installée. Les gorilles ont tendance à repeupler les zones exploitées par l'Homme, lorsque les activités ont cessé, après six mois pour atteindre son maximum deux à trois ans plus tard [149, 178]. On peut donc penser que la densité des gorilles à CP-GR a régulièrement augmenté de 2006 à 2009. Ceci pourrait expliquer en partie la prévalence SIVgor constante durant ces années, les nouvelles séroconversions étant alors compensées par les nouveaux groupes de gorilles dans la zone. Cela peut également expliquer le fait que les gorilles positifs ne soient pas ré-échantillonnés, à une exception près.

Cependant seul un suivi plus rapproché dans le temps, et plus régulier pourrait permettre de confirmer cette hypothèse.

3.2 La transmission du virus SIVgor chez les gorilles

A l'intérieur de cette zone, plusieurs groupes de gorilles évoluent et certains ont été identifiés par observation des sites de nidification et analyses des microsatellites. Dans certains de ces groupes, plusieurs gorilles sont porteurs de SIVgor et la prévalence de l'infection intra-groupe peut atteindre, voire dépasser 25%. Au moins trois groupes distincts infectés ont été identifiés en 2007. Les années suivantes, la plupart des groupes de gorilles n'ont pas pu être définis, l'ADN étant plus dégradé. L'un d'entre eux, cependant, correspond en 2008 à des individus collectés en 2004 (groupe G). Ces groupes de gorilles vivent au moins sur une surface d'environ 50 km², laissant supposer que leurs domaines vitaux se chevauchent largement.

3.2.1 Les transmissions intra-groupe

Des transmissions intra-groupe ont été mises en évidence dans plusieurs cas. D'une part, la femelle positive CPg-ID1 découverte en 2004 dans le même groupe que le mâle CPg-ID32, négatif à cette époque, a été échantillonnée à nouveau avec le même mâle, séropositif en 2008. Ce cas de transmission pourrait être vertical. Dans ces conditions, si CPg-ID32 est l'enfant de CPg-ID1, il aurait séroconverti lors de l'allaitement, et serait encore vivant à l'âge minimum de 5 ans. Cependant, chez les chimpanzés de l'Afrique de l'Est, il a été montré que les femelles infectées étaient moins fertiles et que les enfants portant le SIVcpz mouraient prématurément (avant un an, n=4) [118]. L'analyse génétique plus poussée de ces deux individus pourrait permettre de définir leurs éventuels liens de parenté.

Dans d'autres groupes (A et C), les femelles SIVgor positives ont des virus très proches mais n'ont pas de lien de parenté, laissant supposer que le virus dans ces groupes se transmet de manière horizontale. Il en est de même pour les individus CPg-ID34 et CPg-ID37. La structure sociale en harem des gorilles favorise la transmission sexuelle du virus à l'intérieur des groupes puisqu'un seul mâle est sexuellement actif pour plusieurs femelles. De par leur structure sociale, tous les adultes d'un groupe sont exposés au SIVgor à partir du moment où le mâle dominant est infecté.

Nous avons constaté que le nombre de femelles infectées par le SIVgor était significativement plus important que le nombre de mâles infectés. De plus, le nombre de femelles infectées à l'intérieur des groupes identifiés est également plus important que le nombre de mâles infectés. Ce résultat soutient l'hypothèse que le moyen de transmission intra-groupe privilégié chez les gorilles pourrait être la transmission horizontale par voie sexuelle.

De plus, Il est également important de noter que des études récentes montrent que les gorilles femelles peuvent avoir des relations sexuelles avec le mâle dominant, même en période de gestation, à partir du moment où l'une des femelles est en ovulation [179]. Les relations sexuelles sont donc plus fréquentes que pour la seule conception, ce qui augmente le risque de transmission de maladies sexuellement transmissibles à l'intérieur du groupe.

3.2.2 Les transmissions inter-groupes

Les transmissions inter-groupes sont mises en évidence lorsque des virus génétiquement très proches se retrouvent chez des individus n'appartenant pas au même groupe. C'est le cas pour la famille de virus du gorille CPg-ID1, qui montre une histoire épidémiologique commune et un transfert de virus entre les groupes, au moins avec le groupe auquel appartient la femelle CPg-ID33.

Le second cas de séroconversion est plus complexe puisqu'une femelle (CPg-ID34), négative échantillonnée en 2006 appartenait au groupe de gorille E, dans lequel une autre femelle (CPg-ID2) était positive. Cependant, la contamination de CPg-ID34 ne s'est pas faite dans son groupe d'origine puisque le virus de CPg-ID2 est divergent. L'étude phylogénétique du virus de CPg-ID34, découverte comme étant positive en 2009, montre que son virus est pratiquement identique à celui identifié en 2007 chez la femelle CPg-ID5. Elle a donc probablement été contaminée après un transfert de groupe.

Les transmissions inter-groupes sont favorisées par le transfert des femelles d'un groupe à l'autre et devraient augmenter avec la concentration d'individus sur un même site. En effet, dans ces conditions, les domaines vitaux des différents groupes se chevauchent et facilitent les transferts. C'est le cas dans cette zone.

4- CONCLUSION

Cette partie de l'étude présente les premiers résultats du suivi de la transmission du virus SIVgor en milieu naturel chez les gorilles sauvages. Elle représente une étude pilote visant à tester la faisabilité de ce suivi chez des gorilles non habitués à l'Homme. Les résultats montrent la présence d'un foyer d'infection dans une zone où vivent plusieurs groupes de gorilles, dont les domaines vitaux se chevauchent. Les domaines vitaux des groupes n'ont pas pu être définis dans leur ensemble puisque nous n'avons procédé qu'à cinq collectes, mais les données montrent tout de même leur superposition. Afin de les évaluer de manière plus précise, il serait nécessaire d'effectuer des collectes plus fréquentes.

L'identification des individus et de leur groupe d'appartenance pose encore des problèmes dans notre étude mais le suivi de gorilles en milieu naturel et de manière non invasive est réalisable. Ces méthodes ont d'ailleurs été utilisées récemment avec succès afin de différencier plusieurs groupes de gorilles et de définir leur composition comme leurs domaines vitaux [180].

Nous avons également montré une prévalence stable dans cette zone et une infection qui semble être plus importante chez les femelles que chez les mâles, contrairement aux chimpanzés pour lesquels le SIV paraît toucher indifféremment les deux sexes. De plus, nous avons retrouvé une femelle SIVgor positive, cinq ans après, ainsi qu'un mâle qui s'est séroconverti durant la même période et au sein du même groupe.

Les virus identifiés dans cette zone sont tous phylogénétiquement proches et se différencient de ceux de DJ ou BQ. Leur phylogénie reflète les liens épidémiologiques pouvant exister entre les hôtes. Deux des virus sont cependant assez divergents et plus d'études virologiques sont nécessaires pour identifier la nature de cette différence (recombinant, mutations) et essayer d'en comprendre la cause.

CHAPITRE 5

Discussion Générale : infection SIV chez les
grands singes, comparaison entre les
gorilles et les chimpanzés

CHAP 5 : DISCUSSION GENERALE

1– EPIDEMIOLOGIE SIV CHEZ LES GRANDS SINGES

Notre étude a permis d'apporter des éléments de compréhension à la transmission du virus SIVgor chez leur hôte naturel. La comparaison entre les deux infections retrouvées chez les chimpanzés et chez les gorilles permet de proposer un modèle de transmission chez ces deux espèces expliquant la différence de prévalence et de sites de présence.

1.1 Epidémiologie des infections SIV des gorilles et des chimpanzés

La diversité des souches SIV est plus élevée chez les chimpanzés que chez les gorilles. Cette diversité génétique pourrait principalement être due au fait que les SIVcpz sont plus anciens et précurseurs des SIVgor. La prévalence ainsi que le nombre de sites de présence de l'infection chez ces deux sous-espèces diffèrent également. En effet, nous avons constaté la présence du SIVcpz dans neuf sites contre seulement trois pour le SIVgor. Chez les chimpanzés, dans les sites d'infection, la prévalence varie de 1,6% à 31,6%, la plus importante étant observée chez les chimpanzés porteurs du précurseur du VIH-1 groupe M, seul virus pandémique chez l'Homme. Chez les gorilles, elle varie entre 3,2% et 4,6% mais peut, localement, atteindre 17%.

De possibles facteurs intrinsèques aux virus SIVgor et SIVcpz peuvent expliquer certaines différences dans la prévalence en milieu naturel. Cependant, d'autres facteurs inhérents à la structure sociale et à des comportements distincts chez ces deux espèces interviennent, en augmentant plus ou moins le potentiel de transmission du virus d'un individu à l'autre. En effet, la transmission des SIV se fait entre les individus par voie sexuelle, par contact avec le sang d'un individu infecté, comme par exemple lors des comportements agonistiques (transmission horizontale), ou encore par une transmission mère/enfant lors de la grossesse, l'accouchement ou de l'allaitement (transmission verticale).

Ces opportunités de transmission des virus sont différentes chez les deux espèces, en fonction de leur structure sociale (nombre de partenaires sexuels, potentiel de transmission par le sang infecté, nombre de naissances, etc....)

1.1.1 Fitness des SIVgor et SIVcpz : le potentiel de contamination

Le fitness des virus se définit généralement par la virulence, la capacité d'adaptation d'un virus à son environnement et la capacité de réplication. Il dépend de nombreux facteurs, dont sa capacité de réplication et son adaptation à l'hôte (ex : ses capacités à échapper au système immunitaire et à se maintenir chez l'individu infecté).

Chez l'Homme, une différence de fitness a été mise en évidence entre les 2 types de VIH, type 1 et type 2, qui expliquerait que le VIH-2 soit en décroissance en terme de pourcentage d'infection dans le monde. Le potentiel de transmission d'un individu à un autre semble plus faible pour le VIH-2 et pourrait principalement être lié au fait que les patients infectés évoluent plus lentement vers la maladie et ont une charge virale plus faible. Le taux de transmission verticale est également moindre [181-182].

Concernant les différents virus appartenant au type 1, la quasi-totalité des infections provient du VIH-1 groupe M. Les potentiels de réplication comparés entre les virus du groupe M et du groupe O font apparaître dans certaines études, un taux bien inférieur pour le groupe O, jusqu'à 100 fois moins important que pour les virus du groupe M. Cependant, des résultats récents de comparaison mettent ces chiffres en doute et montre un potentiel de réplication comparable entre les 2 groupes. Les différences de prévalence chez l'Homme restent donc encore à éclaircir [183].

Le potentiel de réplication du SIVgor a été étudié *in vitro* dans des lymphocytes humains et de chimpanzés, en comparaison avec des VIH-1, SIVcpzPtt et SIVcpzPts. Aucune différence significative n'a été observée, ce qui fait du virus SIVgor un candidat potentiel pour une infection importante chez les gorilles comme chez l'Homme (ou le chimpanzé) en cas de transmission inter-espèces [123].

S'il existe donc des propriétés intrinsèques aux virus SIVgor et SIVcpz pouvant en partie expliquer la différence de prévalence en milieu naturel, elles sont encore à mettre en évidence.

1.1.2 Différences socio-écologiques et comportementales : Potentiel de transmission du virus chez les grands singes

Aux possibles capacités intrinsèques des différents types de virus, s'ajoutent les comportements et la structure sociale spécifique à l'hôte, et qui définit le potentiel pour une transmission entre les individus d'une même espèce, voire une transmission inter-espèces.

L'organisation sociale des gorilles et des chimpanzés diffère sur trois points principaux pouvant avoir des répercussions sur la transmission de maladies. (1) D'une part, les domaines vitaux des groupes de gorilles se chevauchent largement les uns les autres dans une même zone et les interactions entre groupes sont généralement tolérantes[140]. Les chimpanzés, au contraire, défendent vigoureusement leur territoire contre les communautés voisines. (2) D'autre part, les gorilles vivent en groupes restreints alors que les chimpanzés vivent en communautés comportant un grand nombre d'individus sur de larges territoires[184]. (3) Enfin, les individus appartenant à un groupe de gorilles se déplacent et dorment ensemble alors que les chimpanzés vivent en société dite de « fusion fission », c'est-à-dire qu'ils se déplacent en sous-groupes et les associations dépendent de différents facteurs tels que les affinités, liens de parentés etc... [185]

	GORILLES	CHIMPANZES
<u>Intra-groupe</u>		
organisation sociale	Harem	Multi Males/Femelles
Taille moyenne des groupes	10aine (2-25)	50/100 (20-150)
Ratio dans 1 groupe males : femelles	1 : 3	1 : 1
Home range	25 km ²	< 50 km ²
Maturité sexuelle males / femelles	15 / 10 ans	14 / 12 ans
longévité	45 ans	45 ans
Nombre de naissances moyen	5	4
Sevrage (intervalle entre les naissances)	4,5 ans	5,5 ans
<u>Inter-groupe</u>		
Emigration du groupe natal	Femelles et males	Femelles
Chevauchement des domaines vitaux entre groupes.	Oui	Non
Agression entre groupes	Renversement de male dominant	Attaque entre groupes males/males
Tolérance envers les groupes voisins	oui	non
<u>Inter-espèces</u>		
Chasse	Non	Oui
Sympatrie avec d'autres primates possiblement infectés	Oui	Oui

Tableau 26 : Facteurs socio-écologiques et comportementaux pouvant avoir un impact sur la transmission des SIV chez les 2 espèces, inspiré de Tutin, 2000 [137].

1.2 Potentiel de transmission chez les gorilles

1.2.1 Intra-groupe

A l'intérieur d'un même groupe, les interactions agonistiques entre les femelles sont relativement rares. Lorsqu'un conflit éclate, il semble cependant avoir tendance à être dirigé vers les femelles immigrantes et reste retenu [186]. Les interactions agressives entre le male dominant et les femelles sont très souvent modérées et consistent principalement en un « display », c'est-à-dire une démonstration de force, plutôt qu'en attaque physique. Les attaques physiques qui pourraient donc entraîner un contact avec le sang d'un individu à l'intérieur d'un même groupe sont relativement rares chez les gorilles *Ggg*.

En revanche, la structure sociale en harem augmente, le potentiel pour une transmission sexuelle du SIVgor à l'intérieur d'un groupe, à partir du moment où un individu sexuellement mature est infecté, puisque le mâle dominant copule avec toutes les femelles adultes. Cependant, le nombre d'individus infectés restera relativement petit puisqu'en moyenne un groupe compte un male adulte à dos argenté entouré de trois à cinq femelles sexuellement actives. Les résultats trouvés dans notre étude confortent cette hypothèse puisque le nombre d'individus infectés dans les groupes identifiés varie entre un et trois. Le nombre de femelles infectées est également plus important que le nombre de mâles. Ces résultats suggèrent que la transmission sexuelle à l'intérieur des groupes semble être la voie privilégiée de contamination [187].

La transmission verticale d'une mère infectée à son enfant n'a encore jamais été démontrée chez les gorilles, elle existe cependant chez les autres espèces de primates et notamment chez les chimpanzés, ce qui laisse à penser que cette voie de transmission du SIV existe aussi chez les gorilles. Pourtant, chez les chimpanzés, il a été montré que les enfants infectés n'atteignent pas la maturité sexuelle en milieu naturel, bien que l'étude n'ait porté que sur quatre cas supposés de transmissions verticales [118]. Dans notre étude, un cas de séroconversion a été démontré en retrouvant les mêmes individus 5 ans plus tard, il s'agit d'une femelle et d'un mâle, avec donc une possibilité de transmission sexuelle, mais il ne peut être exclu que ces individus aient des liens de parenté directs (mère/enfant) car ils partagent un allèle sur chaque locus étudié.

A l'intérieur d'un même groupe, les prévalences sont importantes, parfois supérieures à 25% des individus et les études des virus portés par ces gorilles montrent un lien épidémiologique, donc des transmissions intra-groupe.

1.2.2 Inter-groupes

Les différents groupes de gorilles dans une même zone ont des territoires qui se chevauchent. Cependant, ils restent très tolérants vis-à-vis des groupes voisins et les attaques sérieuses n'ont lieu en général que lorsqu'un mâle extérieur essaye de détrôner un dos argenté afin de former son propre harem avec les femelles présentes. C'est principalement dans ce contexte que des contacts avec le sang d'individus d'autres groupes ont les plus grandes chances d'avoir lieu.

Chez les gorilles, les mâles comme les femelles quittent leur groupe natal. Les femelles transfèrent entre les groupes et les mâles passent généralement par un stade solitaire avant d'essayer de former leur propre groupe. Plus rarement, des groupes de mâles se forment pour un certains temps. L'émigration de son groupe natal a lieu avant la maturité sexuelle et donc ne représente un potentiel pour la transmission du SIVgor entre groupe que si l'individu a été contaminé à sa naissance par transmission verticale et a survécu [187-190].

Les femelles effectuent également des transferts secondaires entre les groupes. Elles ont alors atteint la maturité sexuelle et peuvent déjà avoir des enfants. Elles représentent alors un potentiel pour une transmission du SIVgor entre les groupes par voie sexuelle.

Dans notre étude, un cas de transmission inter-groupes est suspecté puisque le virus d'une femelle retrouvée en 2009 est très proche de celui d'une autre femelle trouvée en 2007 mais n'appartenant pas aux mêmes groupes.

On observe des foyers d'infection dans les deux sites de collecte, (CP et DJ) qui se situent dans la zone où la densité de gorilles semble être la plus importante. A CP-GR, cette zone est également un chevauchement des domaines vitaux de plusieurs groupes de gorilles dans lesquels peuvent avoir lieu des transferts de femelles.

1.2.3 Potentiel pour une dissémination du virus sur de grandes distances à l'échelle d'une population

Dans notre étude, nous avons montré que les femelles gorilles étaient infectées en plus grand nombre que les mâles et qu'elles semblent donc être la cause principale du passage du virus entre les groupes sociaux. Les territoires des groupes de gorilles *Ggg* dépassent rarement 20 km², et les femelles transfèrent principalement dans des groupes voisins lors des rencontres. Le potentiel pour une transmission du SIVgor par l'intermédiaire des femelles peut expliquer l'observation de foyers d'infections sur des surfaces relativement réduites, comme dans nos deux sites de recherche. Par exemple, dans tout le site de Campo, la distance maximum entre les individus infectés était de 17 km.

D'un autre côté, les mâles parcourent de plus grandes distances, en passant par une phase solitaire avant d'essayer de former leur propre harem. Ils pourraient donc être à l'origine du déplacement de l'infection dans des communautés plus éloignées. Cependant, l'infection chez les mâles semble être moins importante. La propagation du virus sur des grandes distances pourrait donc être un phénomène lent.

1.3 Potentiel de transmission chez les chimpanzés

1.3.1 Intra-communautaire

La structure multi-mâles et multi-femelles des chimpanzés est complexe. Une hiérarchie existe, basée sur des affinités et des coalitions entre individus. Cette hiérarchie peut donner une priorité d'accès aux ressources disponibles et, pour les mâles, faciliter notamment la copulation avec des femelles en oestrus aux mâles de « haut rang » social. Cependant, elle est régulièrement remise en question par les individus dominés, avec pour conséquence, des comportements agonistiques pouvant aller jusqu'à des attaques entraînant des contacts directs avec le sang. Les comportements agonistiques des chimpanzés peuvent aussi concerner les femelles et augmentent donc le potentiel pour la propagation du SIV à l'intérieur de leur communauté [191].

De plus, une communauté de chimpanzés est formée sur la base de « fusion-fission » où des petits groupes se forment, se déplacent ensemble puis se déforment sur un territoire relativement grand qui peut atteindre 50 km². Le nombre d'individus présents peut dépasser une centaine d'individus. Les mâles et les femelles copulent ensemble selon leurs affinités et leurs opportunités, donc le nombre de partenaires sexuels important augmente le potentiel pour la transmission sexuelle du SIVcpz, et d'autres IST, à l'intérieur de la communauté [192].

La transmission verticale du virus SIV de la mère à l'enfant a été suggérée pour le groupe de chimpanzés de Gombé, où des enfants nés de mère positives sont suspectés d'avoir été contaminés par cette voie. Cependant, les enfants nés de mères séropositives sont tous morts avant l'âge de un an. De plus, les femelles infectées semblent être moins fertiles. La transmission verticale pourrait donc ne pas jouer un rôle essentiel dans la transmission du virus [118].

Il existe donc chez les chimpanzés, des conditions favorables à la propagation du SIV par voie sexuelle ou par contact avec le sang contaminé, expliquant les prévalences importantes retrouvées au Cameroun. Ces prévalences varient cependant entre les sites (1,6% à 33,6%) et pourrait être dépendantes de la densité d'individus dans la zone.

1.3.2 Inter-communautés

Chez les chimpanzés, les femelles quittent leur groupe natal, probablement pour éviter de se reproduire avec des membres de leur famille et rejoignent une communauté voisine. Les mâles ne quittent pas le groupe où ils sont nés. Les femelles sont donc les principaux vecteurs de transmission de SIV par voie sexuelle entre les communautés de chimpanzés. Il a également été démontré que, dans des proportions limitées, des copulations dites « furtives » peuvent avoir lieu entre les femelles d'une communauté et les mâles appartenant à une communauté voisine. Cela correspondrait à des incursions de femelles dans d'autres communautés, suivies d'un retour dans leur groupe d'appartenance, mais ces événements restent assez rares [193] .

Les mâles d'une même communauté sont très territoriaux et forment des coalitions afin de défendre leur domaine vital de l'intrusion d'autres mâles provenant de groupes voisins. Ces « patrouilles » se déplacent le long de leur frontière et attaquent, parfois très violemment, les intrus. De telles attaques peuvent parfois se conclure par la mort de mâles des communautés voisines [194-196]. Les contacts directs avec le sang sont alors inévitables et constituent un potentiel extrêmement important de transmission de virus SIV inter-communautés.

1.4 Potentialité comparée pour la dissémination du SIV chez les gorilles et les chimpanzés

Les facteurs socio-écologiques et les comportements différents chez ces 2 espèces peuvent s'ajouter aux possibles propriétés intrinsèques des virus SIVcpz et SIVgor pour expliquer la différence de prévalence et de distribution en milieu naturel.

Les voies de transmission entre individus sont d'une importance relative différente : le potentiel de transmission par contact avec le sang est plus élevé chez les chimpanzés, alors que chez les gorilles, la voie sexuelle semble être favorisée. Si les taux de contamination par ces différentes voies se rapprochent de ceux observés chez l'homme, les chimpanzés ont

donc plus de chances de propager le SIV que les gorilles. Ceci peut être l'un des facteurs expliquant la différence de prévalence chez les deux espèces.

La structure sociale des gorilles favorise une propagation du virus à l'intérieur des groupes, ce qui représente un petit nombre d'individus, et le taux de transmission entre groupes est limité aux transferts de femelles et aux conflits, plus rares que chez les chimpanzés, entre les mâles lors d'un renversement de mâle dominant. Les transferts de femelles se font entre groupes voisins, et les territoires restreints des groupes de gorilles ne facilitent pas une propagation du virus sur une grande échelle géographique. Ces résultats peuvent expliquer la présence de foyers d'infection localisés.

Chez les chimpanzés, au contraire, les partenaires sexuels multiples et les contacts plus fréquents avec le sang peuvent augmenter le taux de transmission du SIVcpz intra et inter-communautés. De plus, les territoires des groupes de chimpanzés sont beaucoup plus étendus que ceux des gorilles.

Les différences de structures sociales et de comportements entre ces deux espèces sont un des facteurs expliquant la différence de prévalence de l'infection chez les deux espèces, mais également le fait que les sites où sont présents les SIV chez les chimpanzés soient beaucoup plus répandus en milieu naturel que chez les gorilles.

2– SIVGOR : UN RISQUE POUR LES HOMMES ? UNE MENACE POUR LES GORILLES ?

2.1 La transmission inter-espèces du SIVgor

De manière générale, cette étude a montré que le virus a été transmis du chimpanzé au gorille et qu'il est devenu endémique à l'espèce. Cependant, la prévalence de l'infection à l'échelle du Cameroun est moindre par rapport à celle du chimpanzé *Ptt*. Nous avons cependant montré que la prévalence au niveau de certains sites pouvait être importante, et que cette prévalence inégale pouvait être expliquée en partie par le système social chez les gorilles des plaines de l'Ouest.

Les deux foyers d'infection SIVgor découverts au Cameroun sont importants dans la prévention de l'émergence de nouveaux virus SIV. Il faut savoir que les gorilles sont toujours chassés en Afrique, et au Cameroun, où la plus grande partie de cette étude a pris place, la viande de gorille est un mets recherché. Les petits gorilles, dont la mère est tuée, sont également gardés pour être revendus comme animaux domestiques. La découverte récente du VIH-1 groupe P, génétiquement proche du SIVgor démontre le potentiel pour des

transmissions de SIV du gorille à l'Homme. Les SIVgor identifiés jusqu'à présent ne représentent pas les précurseurs directs des VIH-1 groupe O ou P, mais ils appartiennent à la même famille de virus, suggérant que ce genre de transmission peut se reproduire.

Les deux sites identifiés dans lesquels les prévalences de l'infection sont plus importantes qu'ailleurs représentent un danger potentiel, d'une part parce que la prévalence est un facteur déterminant dans la transmission inter-espèces, mais aussi parce que dans ces deux sites, les confrontations entre les gorilles et l'Homme sont importantes.

A Djoum, le foyer de l'infection est situé à seulement 6km de la route principale le long de laquelle on retrouve de nombreux villages. Cette distance est négligeable pour les chasseurs, qui passent souvent plusieurs jours en forêt. De plus, la forêt n'ayant pas de statut particulier, même si des espèces sont totalement protégées, la lutte anti-braconnage est pratiquement inexistante. La pression de chasse dans cette zone est élevée et le braconnage des grands singes, important. La route est également en train d'être refaite afin de faciliter l'exploitation minière qui va se mettre en place plus à l'Est. Il faut donc s'attendre à un trafic routier plus soutenu et donc à un trafic de viande de brousse plus élevé. La proximité des villages et d'un axe routier augmente les risques de braconnage et donc de transmissions zoonotiques.

Dans le cas de Campo Ma'an, le statut de la zone est totalement différent puisqu'il s'agit du degré de protection le plus important dans le pays (Parc National). Le service de conservation y est donc plus actif que dans d'autres endroits. Ce Parc est cependant extrêmement menacé par la construction prochaine d'un barrage hydroélectrique à Oveng, situé à moins de 30 km de CP-GR, très proche de l'entrée est du Parc. Une telle construction est non seulement une menace réelle pour la biodiversité, mais augmentera également de manière significative les intrusions humaines dans la zone de CP-GR et les interactions entre les Hommes et les gorilles infectés.

Le site de Campo Ma'an constitue donc une zone importante pour de possibles nouvelles transmissions SIVgor à l'Homme.

2.2 Une nouvelle menace pour les gorilles infectés ?

Les gorilles *Ggg* sont une espèce en danger, classée sur la liste rouge de l'UICN (Union International pour la Conservation de la Nature) dont les principales menaces identifiées sont le braconnage, la fragmentation de leur habitat et les maladies connues pour décimer un grand nombre d'individus sur un laps de temps très court comme le virus Ebola, ou l'Anthrax [184, 197-199].

Les résultats sur les chimpanzés infectés à Gombé, montrant un taux de mortalité plus élevé chez les individus SIVcpz positifs que ceux SIVcpz négatifs, pose la question de l'impact du SIVgor chez les gorilles sauvages.

L'hypothèse de la mort prématurée des gorilles infectés a été évoquée dans notre étude comme l'une des possibles explications à une prévalence stable dans le site de CP-GR (cf chapitre 4, partie 2). Même s'il n'est pour l'instant pas possible de vérifier cette hypothèse, elle devrait être prise en compte pour la gestion du Parc. En effet, il ne peut être exclu que les gorilles infectés soient alors plus exposés aux maladies ou parasites opportunistes, notamment dans les cas de transmission inter-espèces, de l'Homme au gorille. Des études de densités régulières et focalisées dans ce site pourraient également permettre de vérifier la stabilité ou non de la population de cette zone.

CHAPITRE 6

Conclusion et Perspectives

CHAP 6 : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail présente les premiers résultats sur l'infection SIVgor chez les gorilles sauvages au Cameroun. Cette étude multidisciplinaire, basée sur la primatologie, la virologie et la génétique apporte des informations essentielles sur cette infection en milieu naturel et pose de nouvelles questions sur ce virus récemment découvert.

1- L'importance de la prospection dans toute l'aire de répartition des gorilles et de la détection du SIVgor

Dans un premier temps, nous avons montré que l'infection n'était pas uniformément répartie sur l'ensemble de l'aire de répartition des gorilles *Ggg* au Cameroun. Seuls trois sites, et un quatrième suspecté, ont montré la présence du virus SIVgor. Ces sites sont éloignés les uns des autres de plusieurs centaines de kilomètres. Le Cameroun, cependant, ne représente qu'un cinquième de l'aire de répartition de cette espèce, il est donc important de continuer à prospecter dans les pays voisins. Il faut également continuer d'échantillonner les autres sous-espèces de gorilles. Les virus identifiés dans ces trois sites forment des groupes phylogénétiques significativement distincts en fonction de leur origine géographique. Ces résultats montrent une évolution indépendante des virus dans les différents sites, mais également, au vu de la distance entre ces zones, une présence du virus dans l'espèce *Ggg* depuis de nombreuses années. Dans chacun de ces sites, nous avons observé la présence du SIVgor et du SIVcpz, mais les deux virus étaient systématiquement phylogénétiquement distincts. Si le SIVgor provient d'une transmission inter-espèces du chimpanzé au gorille, ces résultats montrent que ce genre d'événements reste relativement rare.

Tous les virus identifiés chez les gorilles forment cependant une même lignée SIVgor et aucun d'entre eux n'a pu être identifié comme étant le précurseur du groupe O ou du groupe P. Néanmoins, le groupe P reste très proche phylogénétiquement du SIVgor, laissant supposer que ce virus humain serait le résultat d'une transmission inter-espèces du gorille à l'homme. Il reste à trouver, s'il existe encore, les réservoirs de ces virus, qui pourraient se situer dans un autre pays que le Cameroun.

L'histoire de cette famille de virus reste donc encore à élucider, notamment en ce qui concerne les transmissions inter-espèces entre le chimpanzé, le gorille et l'homme. L'identification et l'analyse des virus présents chez les *Ptt* et *Ggg*, sous-espèces sympatriques, sur toute leur aire de répartition reste donc un objectif essentiel pour une meilleure compréhension de l'histoire naturelle des précurseurs du VIH-1 groupe O et P.

En ce qui concerne l'aspect diagnostique virologique, nous avons remarqué que la détection des échantillons positifs en sérologie n'était pas toujours optimale. En effet, certains échantillons appartenant au même individu peuvent parfois apparaître négatifs alors que d'autres sont positifs. Dans ce cas, il est possible que la détection des sérologies positives sur les fèces de gorilles ne soit pas optimale. Pour optimiser la sensibilité des tests de sérologie, des tests Western Blot spécifiques pourraient être développés, en utilisant des protéines spécifiques du SIVgor. Cependant, la mise en place de ce genre de diagnostic, par rapport aux tests commerciaux utilisés, requiert beaucoup de temps et les coûts sont également plus élevés.

2- La dynamique de l'infection chez son hôte naturel : amélioration des méthodes pour confirmer les résultats

Afin de définir plus précisément les paramètres expliquant la différence d'occurrence et de répartition des infections chez les deux espèces *Pan troglodytes troglodytes* et *Gorilla gorilla gorilla*, il est nécessaire d'améliorer les méthodes développées dans notre étude. Ce travail a été possible par une approche multidisciplinaire. La primatologie nous a permis d'optimiser les collectes sur le terrain et de pouvoir, dans certains cas, vérifier l'appartenance des individus à un groupe de gorilles. La virologie et l'étude phylogénétique des virus montrent les liens épidémiologiques existant entre les virus, et donc, indirectement, entre les individus infectés. Enfin, l'étude génétique par amplification et analyse des microsatellites nous a permis d'identifier les différents individus, lorsque l'ADN n'était pas dégradé.

Sur le terrain, les gorilles n'étant pas habitués à l'homme, il est impossible de reconnaître les différents groupes. Nous avons également remarqué que le nombre de nids ne correspondait pas systématiquement au nombre d'individus échantillonnés. Il est possible que certains membres des groupes ne défèquent pas sur le lieu de nidification. Il serait alors intéressant, dans les sites tels que Djoum ou Campo (CP-GR) d'essayer de suivre ces

groupes pendant quelques jours sur plusieurs lieux de nidification. Ceci permettrait d'essayer de collecter tous les individus d'un groupe et d'évaluer la méthode de comptage des nids comme estimation du nombre de gorilles dans un groupe. Cependant, la méthode de suivi de groupes non habitués d'un site de nids à l'autre, demande une grande expertise et une organisation importante, puisqu'il s'agit, d'une part de ne pas perdre les traces toute la journée, et d'autre part, de recommencer le suivi le lendemain, avant le départ des gorilles. De plus, la taille des fèces avant la collecte pourrait être estimée lorsque cela est possible. En effet, cela pourrait permettre une estimation de la taille de l'individu et, notamment, faire la différence entre les plus jeunes et les adultes. Dans ce contexte, les relations de filiation entre les individus pourraient être éclaircies. De la même manière, la position des échantillons dans les sites de nids, par exemple lorsque plusieurs échantillons sont collectés autour d'un même nid, pourrait donner des informations. En effet, si chaque gorille sevré construit son propre nid pour la nuit, les petits dorment avec leur mère dans le même nid. Dans ce cas, la position des fèces pourrait apporter des informations sur les liens de filiation.

Dans la même optique, l'aspect génétique de cette recherche pourrait également être amélioré afin de confirmer les informations de terrain sur les relations de parenté dans les groupes et entre les individus positifs identifiés. Le problème majeur rencontré a été la mauvaise qualité de l'ADN des hôtes. En effet, la collecte des échantillons se fait dans du RNA-later qui conserve bien l'ARN mais très mal l'ADN. Afin d'avoir de l'ADN mieux conservé et des résultats plus fiables, il pourrait être utile de collecter également dans de l'éthanol, suivi d'une dessiccation [200].

Estimer l'âge des individus collectés peut également apporter des informations essentielles, notamment sur la transmission verticale du virus SIV. Il est intéressant de noter que des recherches montrent que la longueur des extrémités des chromosomes (télomères) est corrélée avec l'âge [201]. Même si aucune étude n'a encore été faite sur les grands singes, évaluer la taille des télomères est une piste importante pour catégoriser les individus collectés en tranche d'âge.

Si les groupes d'appartenance des individus infectés, ainsi que leurs éventuels liens de parenté pouvaient être définis avec plus de précision, la dynamique de l'infection du SIVgor chez leur hôte naturel pourrait alors être modélisée. Ces résultats pourraient apporter des informations essentielles sur la dynamique de l'infection chez leur hôte naturel.

3- La pathogénicité du SIVgor chez son hôte naturel

En dernier lieu, la question de la pathogénicité du virus SIVgor chez les gorilles reste ouverte. Les deux foyers d'infection que nous avons pu localiser représentent aujourd'hui les seules opportunités pour des études à ce sujet. Ces gorilles n'étant pas habitués à l'homme, seules des études indirectes sont envisageables.

Au vu des nombreux individus positifs dans cette zone, il serait intéressant de travailler sur la parasitologie des gorilles dans cette zone. En effet, chez l'homme, les personnes touchées par le VIH-SIDA, sont plus réceptives que les autres aux maladies et parasites dits opportunistes. Ces études permettraient la comparaison dans une même population de gorilles, des parasites retrouvés chez les individus positifs avec ceux des SIVgor négatifs. Ces résultats pourraient apporter des éléments de réponses sur la pathogénicité du SIVgor chez son hôte naturel en vérifiant si les infections parasitaires sont plus importantes chez les gorilles infectés.

Annexe

Travaux, publications et valorisation

ANNEXE

PUBLICATIONS :

1- **Néel C**, Etienne L, Li Y, Takehisa J, Rudicell RS, Bass IN, Moudindo J, Mebenga A, Esteban A, Van Heuverswyn F, Liegeois F, Kranzusch PJ, Walsh PD, Sanz CM, Morgan DB, Ndjango JB, Plantier JC, Locatelli S, Gonder MK, Leendertz FH, Boesch C, Todd A, Delaporte E, Mpoudi-Ngole E, Hahn BH, Peeters M.

Molecular epidemiology of simian immunodeficiency virus infection in wild-living gorillas

J Virol. 2010 Feb;84(3):1464-76. Epub 2009 Nov 11.

2- Prugnotte F., Durand P., **Néel C.**, Ollomo B., Ayala F.J., Arnathau C., Etienne L., Mpoudi-Ngole E., Nkoghe D., Leroy E., Delaporte E., Peeters M., and Renaud F.

African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including Plasmodium falciparum

PNAS January 26, 2010 vol. 107 no. 4 1458-1463

3- Takehisa J, Kraus MH, Ayoub A, Bailes E, Van Heuverswyn F, Decker JM, Li Y, Rudicell RS, Learn GH, **Néel C**, Ngole EM, Shaw GM, Peeters M, Sharp PM, Hahn BH.

Origin and biology of simian immunodeficiency virus in wild-living western gorillas.

J Virol. 2009 Feb;83(4):1635-48. Epub 2008 Dec 10.

4- Liu W, Worobey M, Li Y, Keele BF, Bibollet-Ruche F, Guo Y, Goepfert PA, Santiago ML, Ndjango JB, **Néel C**, Clifford SL, Sanz C, Kamenya S, Wilson ML, Pusey AE, Gross-Camp N, Boesch C, Smith V, Zamma K, Huffman MA, Mitani JC, Watts DP, Peeters M, Shaw GM, Switzer WM, Sharp PM, Hahn BH.

Molecular ecology and natural history of simian foamy virus infection in wild-living chimpanzees.

PLoS Pathog. 2008 Jul 4;4(7)

5- Van Heuverswyn F., Li Y., Bailes E., **Néel C.**, Lafay B., Keele B., Shaw K. S., Takehisa J., Krauss M.H., Loul S., Butel C., Liegeois F., Yangda B., Sharp P.M., Mpoudi-Ngolle E., Delaporte E., H. Hahn B.H. and Peeters M..

Genetic diversity and phylogeographic clustering of SIVcpzPtt in wild chimpanzees in Cameroon

Virology. 2007 Nov 10;368(1):155-71; 2007

6- Van Heuverswyn F., Li Y., **Néel C.**, Bailes E., Keele B.F., Liu W., Loul S., Butel C., Liegeois F, Bienvenu Y, Mpoudi Ngolle E, Sharp P.M., Shaw G.M, Delaporte E., Hahn B.H.and Peeters M.

Human immunodeficiency viruses: SIV infection in wild gorillas.

Nature Volume 444 Number 7116; p164, 2006.

7- Leendertz FH, Lankester F, Guislain P, **Néel C**, Drori O, Dupain J, Speede S, Reed P, Wolfe N, Loul S, Mpoudi-Ngole E, Peeters M, Boesch C, Pauli G, Ellerbrok H, Leroy E.

Anthrax in Western and Central African great apes.

Am J Primatol. 2006 Sep;68 (9):928-33.

PRESENTATIONS ORALES:

1- L. Etienne, **C. Néel**, Y. Li, J. Takehisa, A. Esteban, R.. Rudicell, E. Delaporte, E. Mpoudi Ngole, B.Hahn, M. Peeters

Molecular epidemiology of Simian Immunodeficiency Virus Infection in wild-living gorillas in Western equatorial Africa.

Conference on Retrovirus and Opportunistic Diseases, CROI, San Francisco; Feb 2010

2- **C. Néel**, L. Etienne, F Van Heuverswy, E Mpoudi Ngole, Y Li, B Keele, F Liegeois, C Butel, E Delaporte, B Hahn, and M Peeters

Prévalence et suivi de l'infection SIVgor chez les gorilles sauvages au Cameroun

Journées Scientifiques de l'ANRS, Yaoundé ; juin 2009

3- **C. Néel**, F Van Heuverswy, E Mpoudi Ngole, Y Li, B Keele, F Liegeois, C Butel, E Delaporte, B Hahn, and M Peeters

Geographical Distribution of SIVgor

Conference on Retrovirus and Opportunistic Diseases, CROI, Boston; feb 2008

4- **C. Néel**, F. Van Heuverswyn, Y. Li, B. Keele, J. Takehisha, B. Yangda, A. Mebenga, E.I Mpoudi Ngole, E. Delaporte, B. Hahn, M. Peeters

Prevalence of SIVgor in Wild living Gorillas in Cameroon

International Primatological Society conference, Edinburgh; Août 2008

POSTERS:

1- **C. Néel**, L. Etienne, F. Van Heuverswyn, E. Mpoudi Ngole, F. Liegeois, C. Butel, E. Delaporte, M. Peeters

Infection SIV chez les grands singes : histoire et origine du HIV-1

15ème Conférence Internationale sur le Sida et les Infections Sexuellement Transmissibles en Afrique, ICASA, Dakar; Décembre 2008

2- **C. Néel**, F. Van Heuverswyn, E. Mpoudi Ngole, F. Liegeois, C. Butel, E. Delaporte, M. Peeters.

Geographical distribution of SIVgor in wild living gorillas in Cameroon

Journées scientifiques de l'ANRS, Paris 2008

3- **C. Néel** F. Van Heuverswyn, Y. Li, B. Keele, J. Takehiha, Y. Bienvenue, E. Mpoudi Ngole, E. Delaporte, B. Hahn, M. Peeters

SIV Infection in Great Apes: A multidisciplinary approach for a better understanding of the origin, history and transmission of SIVgor in wild gorillas (*G.g.g.*) in Cameroon.

2nd Congress of the European Society of primatology, Prague; Sept 07

Bibliographie

BIBLIOGRAPHIE

1. *Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men--New York City and California.* MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1981. **30**(25): p. 305-8.
2. *A cluster of Kaposi's sarcoma and Pneumocystis carinii pneumonia among homosexual male residents of Los Angeles and Orange Counties, California.* MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1982. **31**(23): p. 305-7.
3. Barre-Sinoussi, F., et al., *Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS).* Science, 1983. **220**(4599): p. 868-71.
4. Sarngadharan, M.G., et al., *HTLV-III: the etiologic agent of AIDS.* Princess Takamatsu Symp, 1984. **15**: p. 301-8.
5. Broder, S. and R.C. Gallo, *A pathogenic retrovirus (HTLV-III) linked to AIDS.* N Engl J Med, 1984. **311**(20): p. 1292-7.
6. Levy, J.A., et al., *Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS.* Science, 1984. **225**(4664): p. 840-2.
7. Wain-Hobson, S., et al., *Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV.* Cell, 1985. **40**(1): p. 9-17.
8. Ratner, L., et al., *Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV-III.* Nature, 1985. **313**(6000): p. 277-84.
9. Ratner, L., R.C. Gallo, and F. Wong-Staal, *HTLV-III, LAV, ARV are variants of same AIDS virus.* Nature, 1985. **313**(6004): p. 636-7.
10. Barin, F., et al., *Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of west Africa.* Lancet, 1985. **2**(8469-70): p. 1387-9.
11. Clavel, F., et al., *Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2.* Nature, 1986. **324**(6098): p. 691-5.
12. ONUSIDA. *AIDS epidemic update December 2009.* <http://www.unaids.org/fr/KnowledgeCentre/HIVData/EpiUpdate/EpiUpdArchive/2009/default.asp> 2009 April 2010].
13. Gonda, M.A., et al., *Sequence homology and morphologic similarity of HTLV-III and visna virus, a pathogenic lentivirus.* Science, 1985. **227**(4683): p. 173-7.
14. Preston, B., B. Poiesz, and L. Loeb, *Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase.* Science, 1988. **242**(4882): p. 1168-71.
15. Perelson, A.S., et al., *HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time.* Science, 1996. **271**(5255): p. 1582-6.

16. Seibert, S.A., et al., *Natural selection on the gag, pol, and env genes of human immunodeficiency virus 1 (HIV-1)*. Mol Biol Evol, 1995. **12**(5): p. 803-13.
17. Vessiere, A., et al., *Diagnosis and monitoring of HIV-1 group O-infected patients in Cameroun*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2010. **53**(1): p. 107-10.
18. Vallari, A., et al., *Four new HIV-1 group N isolates from Cameroon: Prevalence continues to be low*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2010. **26**(1): p. 109-15.
19. Plantier, J.C., et al., *A new human immunodeficiency virus derived from gorillas*. Nat Med, 2009. **15**(8): p. 871-2.
20. Vallari, A., et al., *HIV-1 Group P: Confirmation of Group P in Cameroon*, in *17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI)*. 2010: San Francisco, USA.
21. de Silva, T.I., M. Cotten, and S.L. Rowland-Jones, *HIV-2: the forgotten AIDS virus*. Trends Microbiol, 2008. **16**(12): p. 588-95.
22. Fox, J. and S. Fidler, *Sexual transmission of HIV-1*. Antiviral Res, 2010. **85**(1): p. 276-85.
23. Baggaley, R.F., et al., *Risk of HIV-1 transmission for parenteral exposure and blood transfusion: a systematic review and meta-analysis*. Aids, 2006. **20**(6): p. 805-12.
24. Andreo, S.M., et al., *HIV type 1 transmission by human bite*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2004. **20**(4): p. 349-50.
25. Newell, M., *Current issues in the prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 infection*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2006. **100**(1): p. 1-5.
26. Lindback, S., et al., *Diagnosis of primary HIV-1 infection and duration of follow-up after HIV exposure*. Karolinska Institute Primary HIV Infection Study Group. Aids, 2000. **14**(15): p. 2333-9.
27. Zhu, T., et al., *An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic*. Nature, 1998. **391**(6667): p. 594-7.
28. Jonassen, T., et al., *Sequence analysis of HIV-1 group O from Norwegian patients infected in the 1960s*. Virology, 1997. **231**(1): p. 43-7.
29. Worobey, M., et al., *Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960*. Nature, 2008. **455**(7213): p. 661-4.
30. Jonassen, T.O., et al., *Sequence analysis of HIV-1 group O from Norwegian patients infected in the 1960s*. Virology, 1997. **231**(1): p. 43-7.
31. Hemelaar, J., et al., *Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004*. Aids, 2006. **20**(16): p. W13.

32. Vidal, N., et al., *Unprecedented degree of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) group M genetic diversity in the Democratic Republic of Congo suggests that the HIV-1 pandemic originated in Central Africa*. J Virol, 2000. **74**(22): p. 10498-507.
33. Daniel, M.D., et al., *Isolation of T-cell tropic HTLV-III-like retrovirus from macaques*. Science, 1985. **228**(4704): p. 1201-4.
34. Letvin, N.L., et al., *Acquired immunodeficiency syndrome in a colony of macaque monkeys*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1983. **80**(9): p. 2718-22.
35. Daniel, M.D., et al., *Simian immunodeficiency virus from African green monkeys*. J Virol, 1988. **62**(11): p. 4123-8.
36. Fukasawa, M., et al., *Sequence of simian immunodeficiency virus from African green monkey, a new member of the HIV/SIV group*. Nature, 1988. **333**(6172): p. 457-61.
37. Fultz, P.N., et al., *Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from naturally infected sooty mangabey monkeys (Cercopithecus atys)*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1986. **83**(14): p. 5286-90.
38. Mansfield, K.G., et al., *Origins of simian immunodeficiency virus infection in macaques at the New England Regional Primate Research Center*. J Med Primatol, 1995. **24**(3): p. 116-22.
39. Murphey-Corb, M., et al., *Isolation of an HTLV-III-related retrovirus from macaques with simian AIDS and its possible origin in asymptomatic mangabeys*. Nature, 1986. **321**(6068): p. 435-7.
40. Hirsch, V.M., et al., *An African primate lentivirus (SIVsm) closely related to HIV-2*. Nature, 1989. **339**(6223): p. 389-92.
41. Marx, P.A., et al., *Isolation of a simian immunodeficiency virus related to human immunodeficiency virus type 2 from a west African pet sooty mangabey*. J Virol, 1991. **65**(8): p. 4480-5.
42. Gao, F., et al., *Human infection by genetically diverse SIVSM-related HIV-2 in west Africa*. Nature, 1992. **358**(6386): p. 495-9.
43. Chen, Z., et al., *Genetic characterization of new West African simian immunodeficiency virus SIVsm: geographic clustering of household-derived SIV strains with human immunodeficiency virus type 2 subtypes and genetically diverse viruses from a single feral sooty mangabey troop*. J Virol, 1996. **70**(6): p. 3617-27.
44. Peeters, M., et al., *Isolation and partial characterization of an HIV-related virus occurring naturally in chimpanzees in Gabon*. Aids, 1989. **3**(10): p. 625-30.
45. Janssens, W., et al., *Phylogenetic analysis of a new chimpanzee lentivirus SIVcpz-gab2 from a wild-captured chimpanzee from Gabon*. AIDS Res Hum Retroviruses, 1994. **10**(9): p. 1191-2.
46. Peeters, M., et al., *Isolation and characterization of a new chimpanzee lentivirus (simian immunodeficiency virus isolate cpz-ant) from a wild-captured chimpanzee*. Aids, 1992. **6**(5): p. 447-51.

47. Vanden Haesevelde, M.M., et al., *Sequence analysis of a highly divergent HIV-1-related lentivirus isolated from a wild captured chimpanzee*. Virology, 1996. **221**(2): p. 346-50.
48. Corbet, S., et al., *env sequences of simian immunodeficiency viruses from chimpanzees in Cameroon are strongly related to those of human immunodeficiency virus group N from the same geographic area*. J Virol, 2000. **74**(1): p. 529-34.
49. Gao, F., et al., *Origin of HIV-1 in the chimpanzee Pan troglodytes troglodytes*. Nature, 1999. **397**(6718): p. 436-41.
50. Peter Grubb, T.M.B., John F. Oates, Simon K. Bearder, and C.P.G. Todd R. Disotell, and Thomas T. Struhsaker, *Assessment of the Diversity of African Primates*. International Journal of Primatology, 2003. **24**(6).
51. Fujita, M., et al., *Multifaceted activity of HIV Vpr/Vpx proteins: the current view of their virological functions*. Rev Med Virol, 2010. **20**(2): p. 68-76.
52. Bibollet-Ruche, F., et al., *New simian immunodeficiency virus infecting De Brazza's monkeys (Cercopithecus neglectus): evidence for a cercopithecus monkey virus clade*. J Virol, 2004. **78**(14): p. 7748-62.
53. Van Heuverswyn, F., et al., *Human immunodeficiency viruses: SIV infection in wild gorillas*. Nature, 2006. **444**(7116): p. 164.
54. Liegeois, F., et al., *Full-length genome characterization of a novel simian immunodeficiency virus lineage (SIVolc) from olive Colobus (Procolobus verus) and new SIVwrcPbb strains from Western Red Colobus (Piliocolobus badius badius) from the Tai Forest in Ivory Coast*. J Virol, 2009. **83**(1): p. 428-39.
55. Ahuka-Mundeke, S., et al., *Full-length genome sequence of a Simian Immunodeficiency Virus infecting a captive Agile Mangabey (Cercocebus agilis) is closely related to SIVrcm infecting wild red-capped mangabeys (Cercocebus torquatus) in Cameroon*. J Gen Virol, 2010.
56. Goldberg, T.L., et al., *Coinfection of Ugandan red colobus (Procolobus [Piliocolobus] rufomitratus tephrosceles) with novel, divergent delta-, lenti-, and spumaretroviruses*. J Virol, 2009. **83**(21): p. 11318-29.
57. Takemura, T., et al., *A novel simian immunodeficiency virus from black mangabey (Lophocebus aterrimus) in the Democratic Republic of Congo*. J Gen Virol, 2005. **86**(Pt 7): p. 1967-71.
58. VandeWoude, S. and C. Apetrei, *Going wild: lessons from naturally occurring T-lymphotropic lentiviruses*. Clin Microbiol Rev, 2006. **19**(4): p. 728-62.
59. Chatterjee, H.J., et al., *Estimating the phylogeny and divergence times of primates using a supermatrix approach*. BMC Evol Biol, 2009. **9**: p. 259.
60. Holmes, E.C., *Molecular clocks and the puzzle of RNA virus origins*. J Virol, 2003. **77**(7): p. 3893-7.

61. Worobey, M., et al., *An island isolated from continental Africa for 12,000 years reveals the deep history of SIV*, in *AIDS 2010*. 2010: Vienna.
62. Worobey, M., et al., *Island Biogeography Reveals the Deep History of SIV*. *Science*, 2010. **329**: p. 1487.
63. Gifford, R.J., et al., *A transitional endogenous lentivirus from the genome of a basal primate and implications for lentivirus evolution*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(51): p. 20362-7.
64. Wertheim, J.O. and M. Worobey, *A challenge to the ancient origin of SIVagm based on African green monkey mitochondrial genomes*. *PLoS Pathog*, 2007. **3**(7): p. e95.
65. Locatelli, S., et al., *Prevalence and genetic diversity of simian immunodeficiency virus infection in wild-living red colobus monkeys (*Piliocolobus badius badius*) from the Tai forest, Cote d'Ivoire SIVwrc in wild-living western red colobus monkeys*. *Infect Genet Evol*, 2008. **8**(1): p. 1-14.
66. Goldberg, T., et al., *Coinfection of Ugandan Red Colobus (*Procolobus [Piliocolobus] rufomitratus tephrosceles*) with Novel, Divergent Delta-, Lenti-, and Spumaretroviruses*. *Journal of Virology*, 2009. **83**(21): p. 11318.
67. Bibollet-Ruche, F., et al., *Simian immunodeficiency virus infection in a patas monkey (*Erythrocebus patas*): evidence for cross-species transmission from African green monkeys (*Cercopithecus aethiops sabaeus*) in the wild*. *J Gen Virol*, 1996. **77** (Pt 4): p. 773-81.
68. Jin, M.J., et al., *Infection of a yellow baboon with simian immunodeficiency virus from African green monkeys: evidence for cross-species transmission in the wild*. *J Virol*, 1994. **68**(12): p. 8454-60.
69. van Rensburg, E.J., et al., *Simian immunodeficiency viruses (SIVs) from eastern and southern Africa: detection of a SIVagm variant from a chacma baboon*. *J Gen Virol*, 1998. **79** (Pt 7): p. 1809-14.
70. Galat, G. and A. Galat-Luong, *Circulation des virus en milieu tropical, socio-écologie des primates et équilibre des écosystèmes*. *Cahiers Santé*, 1997. **7**: p. 81-7.
71. Gautier-Hion, A. and J.P. Gautier, *[Polyspecific associations of *Cercopithecus* species at M'passa Plateau (Gabon) (author's transl)]*. *Folia Primatol (Basel)*, 1974. **22**(2-3): p. 134-77.
72. Waser, P.M., *Polyspecific associations of *Cercocebus albigena*: geographic variation and ecological correlates*. *Folia Primatol (Basel)*, 1980. **33**(1-2): p. 57-76.
73. Gautier, J.P. and A. Gautier-Hion, *[Vocal behavior of adult males and superspecific organization in polyspecific troops of monkeys]*. *Folia Primatol (Basel)*, 1983. **40**(3): p. 161-74.
74. Buzzard, P.J., *Cheek pouch use in relation to interspecific competition and predator risk for three guenon monkeys (*Cercopithecus* spp.)*. *Primates*, 2006. **47**(4): p. 336-41.

75. Noe, R. and R. Bshary, *The formation of red colobus-diana monkey associations under predation pressure from chimpanzees*. Proc Biol Sci, 1997. **264**(1379): p. 253-9.
76. Pourrut, X., A. Galat-Luong, and G. Galat, *Associations du Singe vert avec d'autres espèces de Primates au Sénégal: la transmission interspécifique du SIVagm doit être fréquente dans la nature*. Revue Méd. Vét, 1996. **147**(1): p. 47-58.
77. Souquiere, S., et al., *Wild Mandrillus sphinx are carriers of two types of lentivirus*. J Virol, 2001. **75**(15): p. 7086-96.
78. Jin, M.J., et al., *Mosaic genome structure of simian immunodeficiency virus from west African green monkeys*. Embo J, 1994. **13**(12): p. 2935-47.
79. Santiago, M.L., et al., *Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging sooty mangabeys (Cercopithecus atys atys) from the Tai Forest, Cote d'Ivoire: implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2*. J Virol, 2005. **79**(19): p. 12515-27.
80. Phillips-Conroy, J.E., et al., *Sexual transmission of SIVagm in wild grivet monkeys*. J Med Primatol, 1994. **23**(1): p. 1-7.
81. Georges-Courbot, M.C., et al., *Occurrence and frequency of transmission of naturally occurring simian retroviral infections (SIV, STLV, and SRV) at the CIRMF Primate Center, Gabon*. J Med Primatol, 1996. **25**(5): p. 313-26.
82. Nerrienet, E., et al., *Phylogenetic analysis of SIV and STLV type I in mandrills (Mandrillus sphinx): indications that intracolony transmissions are predominantly the result of male-to-male aggressive contacts*. AIDS Res Hum Retroviruses, 1998. **14**(9): p. 785-96.
83. Kappeler, P. and C. van Schaik, *Evolution of primate social systems*. International Journal of Primatology, 2002. **23**(4): p. 707-740.
84. Ellis, B.R., et al., *Seroprevalence of simian immunodeficiency virus in wild and captive born Sykes' monkeys (Cercopithecus mitis) in Kenya*. Retrovirology, 2004. **1**(1): p. 34.
85. Leendertz, S., et al., *High prevalence, co-infection rate and genetic diversity of retroviruses in wild red colobus monkeys (Piliocolobus badius badius) in Tai National Park, Cote d'Ivoire*. Journal of Virology, 2010.
86. Souquiere, S., et al., *Simian immunodeficiency virus types 1 and 2 (SIV mnd 1 and 2) have different pathogenic potentials in rhesus macaques upon experimental cross-species transmission*. J Gen Virol, 2009. **90**(Pt 2): p. 488-99.
87. Aghokeng, A.F., et al., *Widely varying SIV prevalence rates in naturally infected primate species from Cameroon*. Virology, 2006. **345**(1): p. 174-189.
88. Aghokeng, A.F., et al., *Extensive survey on the prevalence and genetic diversity of SIVs in primate bushmeat provides insights into risks for potential new cross-species transmissions*. Infect Genet Evol, 2010. **10**(3): p. 386-96.

89. Apetrei, C., et al., *Virus subtype-specific features of natural simian immunodeficiency virus SIVsmm infection in sooty mangabeys*. J Virol, 2007. **81**(15): p. 7913-23.
90. Simon, F., et al., *Synthetic peptide strategy for the detection of and discrimination among highly divergent primate lentiviruses*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2001. **17**(10): p. 937-52.
91. Aghokeng, A.F., et al., *Extensive survey on the prevalence and genetic diversity of SIVs in primate bushmeat provides insights into risks for potential new cross-species transmissions*. Infect Genet Evol, 2009.
92. Ndembu, N., L. Kaptue, and E. Ido, *Exposure to SIVmnd-2 in Southern Cameroon: Public Health Implications*. AIDS reviews, 2009. **11**: p. 135-9.
93. Gordon, S., et al., *The call of the wild: what can be learned from studies of SIV infection of natural hosts*. HIV sequence compendium, 2004. **2**.
94. Ellis, B., et al., *Seroprevalence of simian immunodeficiency virus in wild and captive born Sykes' monkeys (Cercopithecus mitis) in Kenya*. Retrovirology, 2004. **1**(1): p. 34.
95. Dazza, M., et al., *Characterization of a novel vpu-harboring simian immunodeficiency virus from a Dent's Mona monkey (Cercopithecus mona denti)*. Journal of Virology, 2005. **79**(13): p. 8560.
96. Santiago, M.L., et al., *Noninvasive detection of Simian immunodeficiency virus infection in a wild-living L'Hoest's monkey (Cercopithecus lhoesti)*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2003. **19**(12): p. 1163-6.
97. Beer, B., et al., *Simian immunodeficiency virus (SIV) from sun-tailed monkeys (Cercopithecus solatus): evidence for host-dependent evolution of SIV within the C. lhoesti superspecies*. Journal of Virology, 1999. **73**(9): p. 7734.
98. Courgnaud, V., et al., *Partial molecular characterization of two simian immunodeficiency viruses (SIV) from African colobids: SIVwrc from Western red colobus (Piliocolobus badius) and SIVolc from olive colobus (Procolobus verus)*. J Virol, 2003. **77**(1): p. 744-8.
99. Pandrea, I., et al., *Chronic SIV infection ultimately causes immunodeficiency in African non-human primates*. Aids, 2001. **15**(18): p. 2461-2.
100. Ling, B., et al., *Classic AIDS in a sooty mangabey after an 18-year natural infection*. J Virol, 2004. **78**(16): p. 8902-8.
101. Oates, J.F., C.P. Groves, and P.D. Jenkins, *The type locality of Pan troglodytes vellerosus (Gray, 1862), and implications for the nomenclature of West African chimpanzees*. Primates, 2009. **50**(1): p. 78-80.
102. Becquet, C., et al., *Genetic structure of chimpanzee populations*. PLoS Genet, 2007. **3**(4): p. e66.
103. Wertheim, J.O. and M. Worobey, *Dating the age of the SIV lineages that gave rise to HIV-1 and HIV-2*. PLoS Comput Biol, 2009. **5**(5): p. e1000377.

104. Becquet, C. and M. Przeworski, *A new approach to estimate parameters of speciation models with application to apes*. Genome Res, 2007. **17**(10): p. 1505-19.
105. Leitner, T., et al., *Sequence diversity among chimpanzee simian immunodeficiency viruses (SIVcpz) suggests that SIVcpzPts was derived from SIVcpzPtt through additional recombination events*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2007. **23**(9): p. 1114-8.
106. Santiago, M.L., et al., *SIVcpz in wild chimpanzees*. Science, 2002. **295**(5554): p. 465.
107. Ling, B., et al., *Noninvasive detection of new simian immunodeficiency virus lineages in captive sooty mangabeys: ability to amplify virion RNA from fecal samples correlates with viral load in plasma*. J Virol, 2003. **77**(3): p. 2214-26.
108. Santiago, M.L., et al., *Foci of endemic simian immunodeficiency virus infection in wild-living eastern chimpanzees (Pan troglodytes schweinfurthii)*. J Virol, 2003. **77**(13): p. 7545-62.
109. Keele, B.F., et al., *Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1*. Science, 2006. **313**(5786): p. 523-6.
110. Van Heuverswyn, F., et al., *Genetic diversity and phylogeographic clustering of SIVcpzPtt in wild chimpanzees in Cameroon*. Virology, 2007. **368**(1): p. 155-71.
111. Prince, A.M., et al., *Lack of evidence for HIV type 1-related SIVcpz infection in captive and wild chimpanzees (Pan troglodytes verus) in West Africa*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2002. **18**(9): p. 657-60.
112. Switzer, W.M., et al., *The epidemiology of simian immunodeficiency virus infection in a large number of wild- and captive-born chimpanzees: evidence for a recent introduction following chimpanzee divergence*. AIDS Res Hum Retroviruses, 2005. **21**(5): p. 335-42.
113. Yingying, L., et al., *Molecular Epidemiology of Simian Immunodeficiency Virus in Eastern Chimpanzees and Gorillas in 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI)*. 2010: San Francisco, USA.
114. Nerrienet, E., et al., *Simian immunodeficiency virus infection in wild-caught chimpanzees from cameroon*. J Virol, 2005. **79**(2): p. 1312-9.
115. Farmer, K.H., *Pan-African sanctuary alliance: status and range of activities for great ape conservation*. Am J Primatol, 2002. **58**(3): p. 117-32.
116. Ondoa, P., et al., *Longitudinal comparison of virus load parameters and CD8 T-cell suppressive capacity in two SIVcpz-infected chimpanzees*. J Med Primatol, 2001. **30**(5): p. 243-53.
117. Huet, T., et al., *Genetic organization of a chimpanzee lentivirus related to HIV-1*. Nature, 1990. **345**(6273): p. 356-9.
118. Keele, B.F., et al., *Increased mortality and AIDS-like immunopathology in wild chimpanzees infected with SIVcpz*. Nature, 2009. **460**(7254): p. 515-9.

119. Rudicell, R., et al., *Population Decline in a Chimpanzee Community with a High Prevalence of SIVcpz Infection*, in *CROI- 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infection*. 2010: San Francisco , USA.
120. Bergl, R.A., et al., *Effects of habitat fragmentation, population size and demographic history on genetic diversity: the Cross River gorilla in a comparative context*. *Am J Primatol*, 2008. **70**(9): p. 848-59.
121. Walsh, P.D., Tutin, C.E.G., Oates, J.F., Baillie, J.E.M., Maisels, F., Stokes, E.J., Gatti, S., Bergl, R.A., Sunderland-Groves, J. & Dunn. A. *Gorilla gorilla*. IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species 2008.
122. Robbins, M.W., L. *Gorilla beringei*. 2008; Available from: www.iucnredlist.org.
123. Takehisa, J., et al., *Origin and biology of simian immunodeficiency virus in wild-living western gorillas*. *J Virol*, 2009. **83**(4): p. 1635-48.
124. Hooper, E., *The River, A Journey to the Source of HIV and AIDS*. 1999.
125. Worobey, M., et al., *Origin of AIDS: contaminated polio vaccine theory refuted*. *Nature*, 2004. **428**(6985): p. 820.
126. Marx, P.A., P.G. Alcabes, and E. Drucker, *Serial human passage of simian immunodeficiency virus by unsterile injections and the emergence of epidemic human immunodeficiency virus in Africa*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2001. **356**(1410): p. 911-20.
127. Chitnis, A., D. Rawls, and J. Moore, *Origin of HIV type 1 in colonial French Equatorial Africa?* *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2000. **16**(1): p. 5-8.
128. Drucker, E., P.G. Alcabes, and P.A. Marx, *The injection century: massive unsterile injections and the emergence of human pathogens*. *Lancet*, 2001. **358**(9297): p. 1989-92.
129. Pedersen, A.B. and T.J. Davies, *Cross-Species Pathogen Transmission and Disease Emergence in Primates*. *Ecohealth*, 2010.
130. Basabose, A. and J. Yamagiwa, *Factors affecting nesting site choice in chimpanzees at Tshibati, Kahuzi-Biega National Park: Influence of sympatric gorillas*. *International Journal of Primatology*, 2002. **23**(2): p. 263-282.
131. Sanz, C., et al., *Distinguishing between the nests of sympatric chimpanzees and gorillas*. *Ecology*, 2007. **44**: p. 263-272.
132. Tutin, C., *5• Ranging and social structure of lowland gorillas in the Lope Reserve, Gabon*. *Great ape societies*, 1996: p. 58.
133. Remis, M., *Western lowland gorillas (Gorilla gorilla gorilla) as seasonal frugivores: use of variable resources*. *American Journal of Primatology*, 1999. **43**(2): p. 87-109.
134. Chapman, C., L. Chapman, and R. Wrangham, *Ecological constraints on group size: an analysis of spider monkey and chimpanzee subgroups*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1995. **36**(1): p. 59-70.

135. Kuroda, S., et al., 6• *Sympatric chimpanzees and gorillas in the Ndoki Forest, Congo*. Great ape societies, 1996: p. 71.
136. Morgan, D. and C. Sanz, *Chimpanzee feeding ecology and comparisons with sympatric gorillas in the Goualougo Triangle, Republic of Congo*. Feeding Ecology in Apes and Other Primates: Ecological, Physical, and Behavioral Aspects, 2006: p. 97.
137. Tutin, C., *Ecologie et organisation sociale des primates de la forêt tropicale africaine: aide à la compréhension de la transmission des rétrovirus*. Bull Soc Pathol Exot, 2000. **93**(3,157): p. 61.
138. Parnell, R., *Group size and structure in western lowland gorillas (Gorilla gorilla gorilla) at Mbeli Bai, Republic of Congo*. American Journal of Primatology, 2002. **56**(4): p. 193-206.
139. Cipolletta, C., *Ranging patterns of a western gorilla group during habituation to humans in the Dzanga-Ndoki National Park, Central African Republic*. International Journal of Primatology, 2003. **24**(6): p. 1207-1226.
140. Bermejo, M., *Home-range use and intergroup encounters in western gorillas (Gorilla g. gorilla) at Lossi forest, North Congo*. American Journal of Primatology, 2004. **64**(2): p. 223-232.
141. Stokes, E., *Within-group social relationships among females and adult males in wild western lowland gorillas (Gorilla gorilla gorilla)*. American Journal of Primatology, 2004. **64**(2): p. 233-246.
142. Caillaud, D., et al., *Influence of male morphology on male mating status and behavior during interunit encounters in western lowland gorillas*. Am J Phys Anthropol, 2008. **135**(4): p. 379-88.
143. Morgan, D., et al., *Ape abundance and habitat use in the Goualougo Triangle, Republic of Congo*. International Journal of Primatology, 2006. **27**(1): p. 147-179.
144. Watts, D. and J. Mitani, *Boundary patrols and intergroup encounters in wild chimpanzees*. Behaviour, 2001: p. 299-327.
145. Breuer, T., et al., *Variance in the male reproductive success of western gorillas: acquiring females is just the beginning*. Behavioral Ecology and Sociobiology: p. 1-14.
146. Levréro, F., et al., *Living in nonbreeding groups: an alternative strategy for maturing gorillas*. American Journal of Primatology, 2006. **68**: p. 275-291.
147. McFarland, M., *Ecological determinants of fission-fusion sociality in Ateles and Pan*. Primate ecology and conservation, 1986: p. 181-190.
148. Tutin, C., *Reproductive behaviour of wild chimpanzees in the Gombe National Park, Tanzania*. Journal of reproduction and fertility. Supplement, 1980: p. 43.
149. Tutin, C. and M. Fernandez, *Nationwide census of gorilla (Gorilla g. gorilla) and chimpanzee (Pan t. troglodytes) populations in Gabon*. American Journal of Primatology, 1984. **6**(4): p. 313-336.

150. Halford, T., et al., *Statut des populations de gorilles (Gorilla gorilla gorilla) et de chimpanzes (Pan troglodytes troglodytes) dans le Sanctuaire a Gorilles de Mengamé, Province du Sud, Cameroun: densite, distribution, pressions et conservation*. Unpublished report, MINEF & Jane Goodall Institute, Yaoundé, 2003.
151. Djoh, E. and M. Wal van der, *Le tourisme basé sur les gorilles: Est-ce une source réaliste de revenus. Etude de cas des villages de Koungoulou et Karagoua*, in *Document RDFN*. 2001, Rural Development Forestry Network, Overseas Development Institute (ODI).
152. Bombome, K., S. Djoufack, and M. Epanda, *Densité, abondance relative, distribution des grands mammifères et impact des activités humaines dans l'UFA 10 026*, in *Report ONFi-SZRA-JMN*. 2003.
153. Maréchal, C., *La gestion de la faune en dehors des aires protégées du bassin du Congo. La question des inventaires de grands mammifères dans les forêts aménagées*. Mémoire de fin d'études, université de Liège, Belgique, 2006.
154. Leendertz, F.H., et al., *Anthrax in Western and Central African great apes*. *Am J Primatol*, 2006. **68**(9): p. 928-33.
155. Guislain, P. and J. Dupain, *Sudden great ape die-off in the periphery of the Dja Biosphere Reserve*. *Gorilla J*, 2005. **30**: p. 28-30.
156. Nzooh, Z., *Suivi écologique dans le Parc National de Lobéké et sa zone périphérique: donnees de base sur la dynamique des populations de grands et moyens mammifères et des activités anthropiques.*, in *Rapport WWF-SE Jengi Forest Project, Yokadouma*. 2003, WWF.
157. Blom, A., et al., *A survey of the apes in the Dzanga-Ndoki National Park, Central African Republic: a comparison between the census and survey methods of estimating the gorilla (Gorilla gorilla gorilla) and chimpanzee (Pan troglodytes) nest group density*. *African Journal of Ecology*, 2001. **39**(1): p. 98-105.
158. Tamura, K., et al., *MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0*. *Mol Biol Evol*, 2007. **24**(8): p. 1596-9.
159. Guindon, S. and O. Gascuel, *A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood*. *Syst Biol*, 2003. **52**(5): p. 696-704.
160. Ronquist, F. and J.P. Huelsenbeck, *MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models*. *Bioinformatics*, 2003. **19**(12): p. 1572-4.
161. Wilberg, M. and B. Dreher, *Genecap: a program for analysis of multilocus genotype data for non-invasive sampling and capture-recapture population estimation*. *Mol. Ecol. Notes*, 2004. **4**: p. 783–785.
162. Néel, C., et al., *Large mammals inventory and feasibility of Gorilla gorilla gorilla habituation : potential for eco-tourism in the Campo Ma'an National Park*. 2004.
163. Matthews, A. and A. Matthews, *Survey of gorillas (Gorilla gorilla gorilla) and chimpanzees (Pan troglodytes troglodytes) in Southwestern Cameroon*. *Primates*, 2004. **45**(1): p. 15-24.

164. Hicks, T.C., R.S. Fouts, and D.H. Fouts, *A Survey of chimpanzees (Pan troglodytes troglodytes) and gorillas (Gorilla gorilla gorilla) in the selectively logged Ngotto Forest, Central African Republic*. J Appl Anim Welf Sci, 2009. **12**(3): p. 165-88.
165. Van der Wal, M. and E. Nku, *Large mammals of the Dja Fauna Reserve. Conservation status and threats*. 1ère édition. The Golden Ark Foundation/IUCN-Dja-MINEF, Yaoundé, 1999.
166. Remis, M.J., *Ranging and grouping patterns of a western lowland gorilla group at Bai Hokou, Central African Republic*. Am J Primatol, 1997. **43**(2): p. 111-33.
167. Devos, C., et al., *Comparing ape densities and habitats in northern Congo: surveys of sympatric gorillas and chimpanzees in the Odzala and Ndoki regions*. Am J Primatol, 2008. **70**(5): p. 439-451.
168. Williamson, E. and L. Usongo, *Survey of gorillas Gorilla gorilla and chimpanzees Pan troglodytes in the Réserve de Faune du Dja, Cameroun*. African Primates, 1996. **2**(2): p. 67-72.
169. Dupain, J., et al., *High chimpanzee and gorilla densities in a non-protected area on the northern periphery of the Dja Faunal Reserve, Cameroon*. Oryx, 2004. **38**(02): p. 209-216.
170. Arnhem E and Vercauteren M, *Trends in apes' abundances in a logging concession of Cameroon*. in prep., 2008.
171. Bradley, B., D. Doran-Sheehy, and L. Vigilant, *Genetic identification of elusive animals: re-evaluating tracking and nesting data for wild western gorillas*. Journal of Zoology, 2008. **275**(4): p. 333-340.
172. Brugiere, D. and D. Sakom, *Population density and nesting behaviour of lowland gorillas (Gorilla gorilla gorilla) in the Ngotto forest, Central African Republic*. Journal of Zoology, 2001. **255**(2): p. 251-259.
173. Tutin, C., et al., *Nest building by lowland gorillas in the Lopé Reserve, Gabon: environmental influences and implications for censusing*. International Journal of Primatology, 1995. **16**(2): p. 53-76.
174. Waits, L., G. Luikart, and P. Taberlet, *Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines*. Molecular Ecology, 2001. **10**(1): p. 249-256.
175. Woods, J., et al., *Genetic tagging of free-ranging black and brown bears*. Wildlife Society Bulletin, 1999: p. 616-627.
176. Douadi, M., et al., *Sex-biased dispersal in western lowland gorillas (Gorilla gorilla gorilla)*. Molecular Ecology, 2007. **16**(11): p. 2247-2259.
177. Etoga, G. and D. Foguekam, *Suivi des populations des grands et moyens mammifères et des activités humaines dans le parc national de Campo Ma'an, Sud Cameroun (DRAFT)* 2009, UNITE DE CONSERVATION, WWF PROGRAMME KUDU ZOMBO.

178. Arnhem, E., et al., *Selective logging, habitat quality and home range use by sympatric gorillas and chimpanzees: A case study from an active logging concession in southeast Cameroon*. *Folia Primatologica*, 2008. **79**(1): p. 1-14.
179. Stoinski, T.S., B.M. Perdue, and A.M. Legg, *Sexual behavior in female western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*): evidence for sexual competition*. *Am J Primatol*, 2009. **71**(7): p. 587-93.
180. Arandjelovic, M., et al., *Effective non-invasive genetic monitoring of multiple wild western gorilla groups*. *Biological Conservation*, 2010.
181. Poulsen, A., et al., *Lack of evidence of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 2 in a sample of the general population in Bissau*. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 1992. **5**(1): p. 25.
182. Kanki, P., et al., *Slower heterosexual spread of HIV-2 than HIV-1*. *The Lancet*, 1994. **343**(8903): p. 943-946.
183. Ariën, K., et al., *The replicative fitness of primary human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) group M, HIV-1 group O, and HIV-2 isolates*. *J Virol*, 2005. **79**(14): p. 8979-90.
184. Bermejo, M., et al., *Ebola outbreak killed 5000 gorillas*. *Science*, 2006. **314**(5805): p. 1564.
185. Sakamaki, T., *Group unity of chimpanzees elucidated by comparison of sex differences in short-range interactions in Mahale Mountains National Park, Tanzania*. *Primates*, 2009. **50**(4): p. 321-32.
186. Magliocca, F., S. Querouil, and A. Gautier-Hion, *Population structure and group composition of western lowland gorillas in north-western Republic of Congo*. *Am J Primatol*, 1999. **48**(1): p. 1-14.
187. Gatti, S., et al., *Population and group structure of western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) at Lokoue, Republic of Congo*. *Am J Primatol*, 2004. **63**(3): p. 111-23.
188. Robbins, M.M., et al., *Social structure and life-history patterns in western gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*)*. *Am J Primatol*, 2004. **64**(2): p. 145-59.
189. Parnell, R.J., *Group size and structure in western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) at Mbeli Bai, Republic of Congo*. *Am J Primatol*, 2002. **56**(4): p. 193-206.
190. Bradley, B.J., et al., *Dispersed male networks in western gorillas*. *Curr Biol*, 2004. **14**(6): p. 510-3.
191. Wroblewski, E.E., et al., *Male dominance rank and reproductive success in chimpanzees, *Pan troglodytes schweinfurthii**. *Anim Behav*, 2009. **77**(4): p. 873-885.
192. Murray, C.M., et al., *Adult male chimpanzees inherit maternal ranging patterns*. *Curr Biol*, 2008. **18**(1): p. 20-4.
193. Vigilant, L., et al., *Paternity and relatedness in wild chimpanzee communities*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001. **98**(23): p. 12890.

194. Watts, D. and J. Mitani, *Boundary patrols and intergroup encounters in wild chimpanzees*. Behaviour, 2001. **138**(3): p. 299-327.
195. Mitani, J. and D. Watts, *Correlates of territorial boundary patrol behaviour in wild chimpanzees*. Animal Behaviour, 2005. **70**(5): p. 1079-1086.
196. Watts, D., et al., *Lethal intergroup aggression by chimpanzees in Kibale National Park, Uganda*. American Journal of Primatology, 2006. **68**(2): p. 161-180.
197. Leroy, E.M., et al., *Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife*. Science, 2004. **303**(5656): p. 387-90.
198. Leendertz, F.H., et al., *A new Bacillus anthracis found in wild chimpanzees and a gorilla from West and Central Africa*. PLoS Pathog, 2006. **2**(1): p. e8.
199. Walsh, P.D., et al., *Catastrophic ape decline in western equatorial Africa*. Nature, 2003. **422**(6932): p. 611-4.
200. Am Nsubuga, M., et al., *Factors affecting the amount of genomic DNA extracted from ape faeces and the identification of an improved sample storage method*. Molecular Ecology, 2004. **13**(7): p. 2089-2094.
201. Haussmann, M. and C. Vleck, *Telomere length provides a new technique for aging animals*. Oecologia, 2002. **130**(3): p. 325-328.

RESUME

Les SIV infectant les chimpanzés et les gorilles sont les précurseurs des virus de l'immunodéficience humaine de type 1. Les quatre groupes du VIH-1 sont le résultat de quatre transmissions virales des grands singes à l'Homme. Des méthodes non invasives ont permis d'identifier le réservoir des VIH-1 M et N dans deux communautés de chimpanzés (*Ptt*) au Cameroun et de montrer que les gorilles (*Ggg*) sont infectés par un SIV proche des VIH-1 O et P. Si le SIVgor n'a jamais été détecté chez les chimpanzés, la phylogénie montre que les *Ptt* ont transmis ce virus aux gorilles. Par une méthode pluridisciplinaire, nous avons étudié les caractéristiques de l'infection SIVgor en milieu naturel.

Nous avons prospecté 13 sites au Cameroun et 2 en RCA. Au total, 2120 fèces de gorilles et 442 de chimpanzés ont été collectées. L'infection SIVgor a été détectée dans 3 sites Camerounais et les prévalences varient entre 3,2% et 4,6%, résultats plus faibles que ceux retrouvés chez les chimpanzés. Nous avons ensuite montré que plusieurs groupes sociaux de *Ggg* dont les domaines vitaux se chevauchent sont infectés et que les prévalences SIV dans les groupes peuvent dépasser 25%. Les virus touchant les gorilles du même groupe sont génétiquement proches montrant des liens épidémiologiques. Enfin, un suivi de l'infection réalisé de 2004 à 2009 sur un site a permis de découvrir un foyer d'infection, 2 cas de séroconversions et de retrouver une femelle gorille infectée à 5 ans d'intervalle. Dans ce site, la prévalence SIV est stable et le nombre de femelles infectées est plus important que le nombre de mâles. La structure sociale des gorilles et leur comportement peuvent alors expliquer en partie la répartition et la prévalence du SIVgor, ainsi que les différences avec l'infection chez les chimpanzés.

Cette étude multidisciplinaire montre la faisabilité du suivi de l'infection SIV chez les gorilles en milieu naturel. Si le SIVgor est pathogène, le suivi pourra s'avérer essentiel chez cette espèce menacée d'extinction.

TITLE

Epidemiology of Simian Immunodeficiency Virus in gorillas: Prevalence and transmission of SIVgor in wild living gorillas in Cameroon

ABSTRACT

SIV infecting chimpanzees and gorillas are the precursors of the Human Immunodeficiency Virus type 1. The four groups of HIV-1 are the results of four different viral transmissions from apes to humans. Using non invasive methods we discovered the reservoir of HIV-1 M and N in two communities of chimpanzees (*Ptt*) in Cameroon and found that Gorillas (*Ggg*) are infected by a SIV close to HIV-1 O and P. While SIVgor has not yet been detected in chimpanzees, phylogeny shows that *Ptt* transmitted this virus to *Ggg*. Using a multidisciplinary approach, we studied the characteristics of the infection in wild living gorillas. We prospected 13 sites in Cameroon and 3 in CAR. 2120 fecal samples of gorillas and 442 of chimpanzees were collected. SIVgor infection was detected in 3 sites in Cameroon and the prevalence ranges from 3.2% to 4.6%, lower than in chimpanzees. Several social groups of gorillas with overlapping home-ranges were infected and the prevalence within group could exceed 25%. Viruses of the same group are genetically close, showing epidemiologic links. In a follow up study between 2004 and 2009 on one site, we discovered a focus of infection with 2 cases of seroconversion and we re-sampled one infected female 5 years after. In this site, the prevalence of SIVgor is stable and the number of infected females is higher than the males. The social structure of gorillas and their behavior can partly explain for the repartition and prevalence of SIVgor, as well as the differences with the infection in chimpanzees.

This multidisciplinary study proves the feasibility of a follow up study in wild living gorillas. If SIVgor turns out to be pathogenic, a follow up will be essential for this endangered species.

DISCIPLINE : Biologie Santé

MOTS-CLES : SIV, HIV, Gorilla gorilla gorilla, Pan troglodytes troglodytes, zoonose, transmission inter-espèces, Cameroun.

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE : IRD - UMR 145
911 avenue Agropolis - BP 64501 - 34394 Montpellier Cedex 5