



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsa

Ebolavirus – ett emerging virus som hotar gorillornas fortlevnad?

Malin Johansson

Uppsala

2010

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2011:11*

Ebolavirus – ett emerging virus som hotar gorillornas fortlevnad?

Malin Johansson

Handledare: Tommy Linné, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

*Biträdande handledare: Bo Niklasson, adjungerad professor Institutionen för medicinsk cellbiologi, Uppsala
Universitet*

Examinator: Mikael Berg, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2009
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Kurskod: EX0234, Nivå X, 30hp*

Nyckelord: Ebola, Gorilla, Filovirus

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2011:11*

Innehållsförteckning

Sammanfattning	4
SUMMARY	5
Introduktion.....	6
Gorilla.....	6
Aktuella hot mot gorillorna	8
Filovirus	8
Utbredningsområden för Ebola	9
Ebolainfektion	11
Populationsminskning bland gorillor i Afrika.....	12
Minkebe.....	12
Lokoué.....	14
Lossi Sanctuary	15
Fladdermössens roll.....	16
Vaccin.....	17
Diskussion	19
Referenser.....	20

SAMMANFATTNING

Den redan starkt utrotningshotade gorillan har lokalt nästan helt försvunnit efter utbrott av Ebola. Dess långa reproduktionsintervall gör den känslig för sådana förändringar och det tar mycket lång tid innan stammen återhämtar sig. Risken för inavel ökar om antalet gorillor minskar och detta i sin tur missgynnar arten (World Wildlife Foundation, 2010).

Man har funnit att Ebola verkar vara mer spritt än man tidigare trott och det kan bero på att det finns fler stammar än de man känner till idag. Eventuellt finns det även ett antal lågpatogena stammar som ger antikroppssvar men inte ger upphov till allvarliga sjukdomsutbrott som de fall vi hittills sett. Om dessa virusstammar kommer att klassas som egna arter eller som underarter eller varianter av de Ebolastammar vi känner till nu vet man ännu inte (Peters C. *et al* 1990; Pourrut X. *et al* 2005).

Bushmeat är ett begrepp som används då man talar om slaktat vilt från regnskogen, det kan röra sig om både antiloper, mindre däggdjur och större primater. Den här handeln är utbredd och på marknader i de större städerna betingar kött från gorilla ett högt pris. Då handeln i sig är ett hot mot gorillorna och dessutom olaglig är det viktigt att bekämpa den. En stor risk med bushmeat är dock att smittat kött kan komma in till städerna. Det är ett allvarligt hot mot folkhälsan att lokalbefolkningen dödar potentiellt smittade djur eller tar hand om döda djur som de hittar, styckar dessa och säljer på marknaden inne i städerna (Walsh P.D. *et al* 2003).

Mycket tyder på att fladdermöss kan vara symtomfria bärare. Utbrott av Ebola kan uppstå vid perioder då fladdermössen av olika anledningar inte är lika motståndskraftiga mot viruset, som till exempel vid torrperioder då svält försvagar djuren. Är det torka och svältperioder så drabbas även gorillorna mer frekvent. Det verkar sannolikt att kontakten mellan gorillor och fladdermöss ökar då de samlas runt de få födokällor som fortfarande finns tillgängliga. Detta kan vara ett tänkbart scenario för överföring av viruspartiklar från fladdermöss till gorillor (Leroy E.M. *et al* 2005).

Det finns olika projekt där man jobbar med att hitta ett vaccin mot Ebola. Man har kommit en god bit på väg men det är ännu mycket kvar att arbeta med innan man kan börja använda sig av vaccin i kampen mot Ebola.

SUMMARY

The already critically endangered gorillas have locally almost completely disappeared after outbreaks of Ebola. Their long reproductive interval makes them susceptible to such changes and it takes a very long time before the strain has recovered. The risk of inbreeding increases when the number of gorillas is reduced and this in turn is detrimental to the species (World Wildlife Foundation, 2010).

It has been found that the Ebola seems to be more widespread than previously thought and it may be because there are more strains than those that are known today. Possibly there are also a number of low pathogenic strains that give antibody responses but do not cause serious disease outbreaks as the cases we have seen so far. If these strains will be classified as separate species or subspecies or varieties of the Ebola strains we know of today is yet to be seen (Peters C. et al, 1990; Pourrut X. et al 2005).

Bushmeat is a term used when speaking of dead game from the rainforest, it may involve both antelope, small mammals and larger primates. This trade is widespread and in markets in major cities fetches meat from the gorilla a high price. Since trade itself is a threat to gorillas and also illegal, it is important to combat it. A large risk with bushmeat is that contaminated meat can enter the cities. It is a serious public health threat that local people kill potentially infected animals or take care of carcasses they find, cut them and sell on the market in the cities (Walsh, PD et al 2003).

Evidence suggests that bats may be asymptomatic carriers. Outbreak of Ebola can occur during periods when bats for various reasons are not as resistant to the virus, such as during dry season when hunger weaken the animals. During drought and famine periods gorillas are also more frequently affected. It seems likely that contact between gorillas and bats are increasing as they gather around the few food sources that are still available. This may be a possible scenario for the transmission of virus particles from bat to gorillas (Leroy EM et al 2005).

There are projects that are working to find a vaccine against Ebola. We have come a long way but there is still much left to work with before we can start making use of vaccines in the fight against Ebola.

INTRODUKTION

Ebolaviruset identifierades första gången 1976 efter två utbrott av blödarfebrar med mycket hög dödlighet i norra delen av Demokratiska Republiken Kongo (dåvarande Zaire) och södra Sudan. Under åren som gått har plötsliga sjukdomsutbrott inträffat, ofta med många döda som följd. Trots stora ansträngningar har man ännu inte kunnat fastställa virusets reservoar, inte heller har man lyckats förklara varför utbrotten sker (Centers for Disease Control and Prevention - Filovirus).

I vissa områden av Centralafrika har det under senare år noterats en drastisk minskning i antalet gorillor och chimpanser. Dessa primater hotas av utrotning på grund av tjuvjakt och att deras naturliga biotop försvinner i takt med att regnskogen skövlas. Det tycks även finnas ett samband mellan de utbrott av Ebola som drabbat byarna i området och den snabbt minskande populationen av stora människoapor. Att Ebola är en dödlig sjukdom för gorillor och chimpanser är välkänt men att de dog i så stora antal på kort tid som man sett vid populationsstudier under 90-talet och början av 2000-talet är ej allmänt känt. I det här arbetet vill jag genom litteraturstudier försöka titta närmare på hur allvarligt hotet från Ebolavirus är mot Afrikas minskande gorillapopulation.

Gorilla

Gorillan är den största av människoaporna och finns endast i Afrikas regnskogar. Den lever både i bergsområden och i låglänta sumpskogar. Gorillan delas in i två olika arter, en västlig och en östlig gorilla (World Wildlife Foundation, 2010).

Gorillor är växtätare och lever i små grupper med en eller två vuxna hanar, silverryggar, och några vuxna honor med ungar. De sociala banden inom gruppen är i regel mycket starka. Ungarna diar sin mor i ungefär två år och sover med henne ytterligare ett år. Modern kommer inte i brunst igen förrän ungen är avvand, vilket innebär att en hona föder i snitt en unge vart fjärde år. Det finns ingen särskild brunsttid på året utan parning kan ske när som helst. Dräktigheten varar ca 8,5 månader.

Hanarna är mycket större än honorna. De har en kroppslängd på ca 170 cm medan honorna blir ca 150 cm. En vuxen hane väger mellan 135 – 275 kg och en vuxen hona väger ca 70 – 140 kg. Detta gäller specifikt för låglandsgorillan i västra Afrika, men de olika underarterna skiljer sig inte mycket åt i storlek och vikt. Livslängden för en gorilla är ungefär 35 år.

När de unga djuren blir könsmogna, vid ca 10 års ålder lämnar de gruppen för att hitta en ny grupp. Hanarna lever ofta i ungarflockar tills de är vuxna nog att starta en egen familj, i regel först när de är mellan 12 – 15 år gamla (Bilder och Fakta - Låglandsgorilla, 2009; Encyclopaedia Britannica - gorilla, 2010).

Gorillor är inte revirhävande utan lever i så kallade home ranges liknande de våra tamkatter rör sig i. Flera grupper kan röra sig inom samma home range och de håller sig oftast på avstånd från varandra utan att rivalitet uppstår. Undantag kan vara om silverryggarna konkurrerar om honorna och försöker stjäla honor från varandra (Encyclopaedia Britannica - gorilla, 2010).

Västlig gorilla (*Gorilla gorilla*)

Denna art finns i låglandsregnskogen i västra delen av Centralafrika och i bergsregnskogen i samma område. (Se bild 1) Dessa två olika populationer räknas som olika underarter av den västliga gorillan. Enligt beräkningar finns det ca 220 000 individer av den västliga låglandsgorillan idag (World Wildlife Foundation, 2010). I vissa områden bedöms antalet individer ha minskat med 98-99% på bara ett par år under mitten av 90-talet och början av 2000-talet (Huijbregts B. *et al*, 2003; Bermejo M. *et al*, 2006).

Östlig gorilla (*Gorilla berengei*)

Även den östliga gorillan delas in i två underarter, eventuellt finns fler underarter. De lever i bergsregnskogarna längs Albertine Rift-förkastningen. Några av dessa apor lever i Virungaberget och de är de mest kända och dokumenterade gorillorna i världen tack vare forskaren Diane Fossey. Det återstår bara sammanlagt ca 700 gorillor av dessa djur men antalet har legat ganska konstant de senaste åren tack vare goda insatser från naturvårdare. Den andra underarten av dessa gorillor lever i framför allt östra delen av Kongo och dessa apor är fler till antalet, ca 16 000 individer (World Wildlife Foundation, 2010).

Den östliga gorillan har ännu inte drabbats av Ebola utan dess minskningar beror på tjuvjakt och förlust av sitt naturliga habitat på grund av att människan breder ut sig (World Wildlife Foundation, 2010).

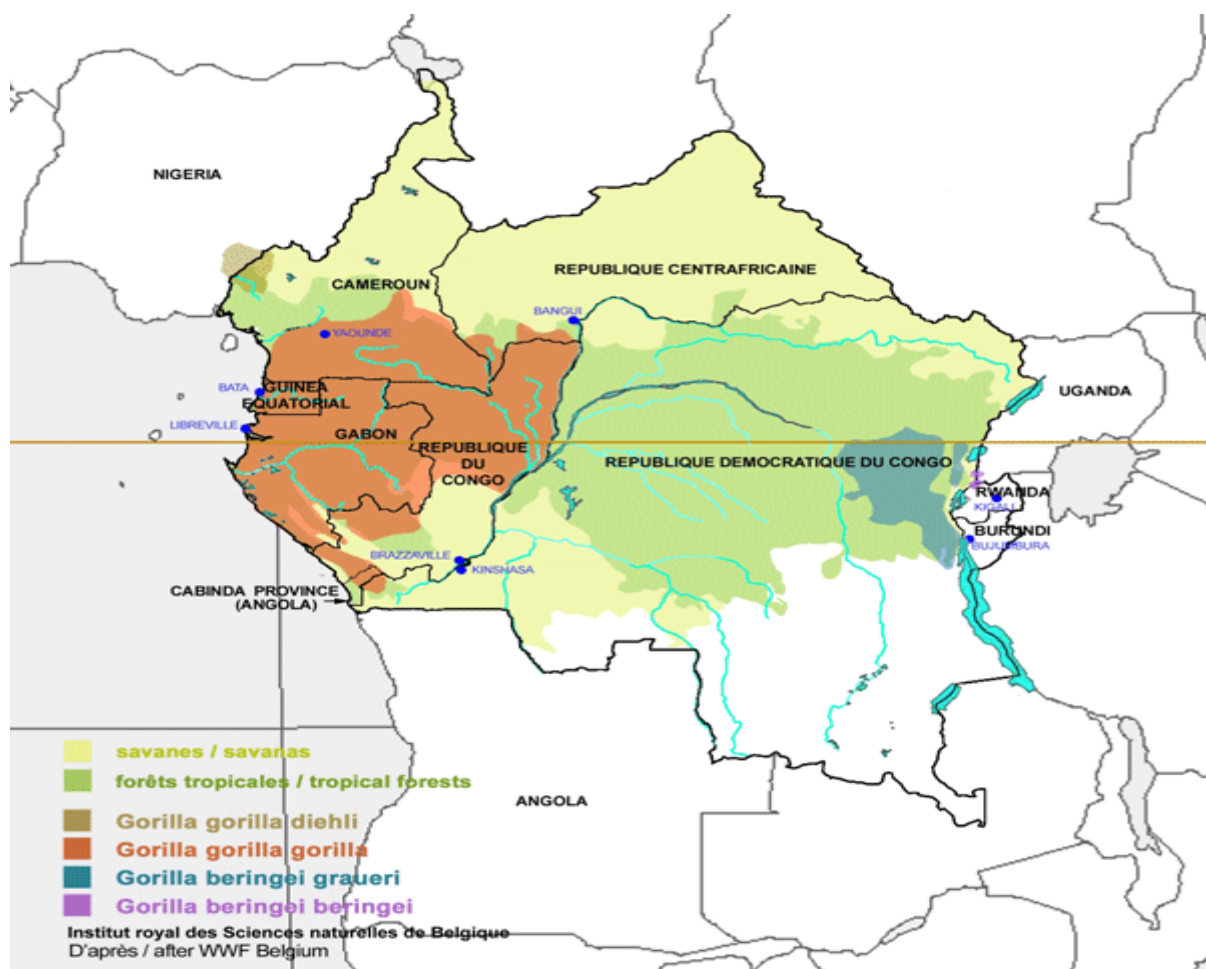


Bild 1. Utbredningsområden för de olika arterna av gorilla
(<http://www.janegoodall.org.au/Home/News--Events/Year-of-the-Gorilla>)

Aktuella hot mot gorillorna

Bushmeat

Jakten på vilt är en viktig del i försörjningen för den fattiga befolkningen i Centralafrika, detta vilt kallas med ett samlingsnamn för bushmeat. Det rör sig framför allt om större bytesdjur som antiloper men även gorillor och chimpanser. Försäljningen till de större närliggande städerna är omfattande, men köttet säljs även på den internationella marknaden (Marris E. 2006, Mbotiji J., 2002).

Skogsavverkning

Den omfattande skogsavverkningen i Centralafrika gör att gorillornas naturliga habitat försvinner och de skygga djuren har ingenstans att dra sig undan när deras skogar försvinner. Människorna som jobbar med att avverka timret behöver mat och då är det lätt att jaga gorillor och andra djur som finns i det skövlade området (bushmeat). Dessutom bidrar skogsskövlingen till att det byggs vägar i områden som annars varit näst intill helt otillgängliga för människor, och därmed ökar tillgängligheten för jägare att komma åt viltet. Förutom att timmervägarna underlättar för tjuvjägare gör de även att smittor lätt sprids via människornas transport medel, deras djur eller via dem själva (Walsh P.D. *et al*, 2003).

Ebola

Redan under Ebolautbrott i Gabon 1994 och 1996 noterade man ett stort antal döda chimpanser och gorillor i den närbelägna regnskogen. Flertalet av de kända humana indexfallen har gått att koppla till att de har hanterat bushmeat; slakt av djur som påträffats döda eller ätit av dem. En forskare blev sjuk efter att ha utfört en obduktion på en chimpanse som hittades död i Tai Forest, Elfenbenskusten 1994 (Groseth A. *et al*, 2007; Walsh P.D. *et al*, 2003). Under 2002 – 2003 upptäcktes en epidemi av Ebola bland gorillor som studerats sedan 1995 i Lossi Sanctuary i nordvästra Kongo. Man beräknade att utbrottet ledde till att ca 5000 gorillor dog (Bermejo M. *et al*, 2006). Sannolikt är infektionssjukdomar en underskattad dödsorsak för gorillorna (Huijbregts B. *et al*, 2003). Då gorillor har en mycket låg reproduktionshastighet så tar det lång tid för populationen att återhämta sig efter en katastrof. Det innebär också att även om relativt få djur dör så får det stora konsekvenser i det långa loppet för artens fortbestånd (World Wildlife Foundation, 2010).

Filovirus

Ebolavirus hör till familjen Filoviridae där två genus ingår; Ebolavirus och Marburgvirus. Ebola har fem identifierade olika stammar och de har blivit namngivna efter den plats där de först påträffades; Ebola Zaire, Ebola Sudan, Ebola Ivory Coast, Ebola Reston och Ebola Bundibugyo (Groseth A. *et al*, 2007). (Se bild 2)

Marburg har bara en identifierad stam; Marburg Lake Victoria. Marburg-viruset är döpt efter den tyska staden Marburg där ett av de första kända utbrotten ägde rum 1967 (Centers for Disease Control and Prevention - Marburg Hemorrhagic Fever).

Filoviridae är höljebärande enkelsträngade RNA-virus (Centers for Disease Control and Prevention - Viral Hemorrhagic Fevers). I elektronmikroskop ses de i olika formationer av långa eller kortare filament, ibland förgrenade. Viruspartikeln kan ha formen av siffran 6, bokstaven U eller en cirkel. Ofta ses en form som liknas vid en herdestav och som anses karaktäristisk för filovirusets utseende (Centers for Disease Control and Prevention - Filovirus).

Ebolavirus har visat sig vara genetiskt stabila under pågående utbrott och trots flera passager genom olika arter verkar inte viruset mutera (Leroy E.M. *et al*, 2004) (Pourrut X. *et al*, 2005). I studier med försöksdjur har man sett att viruset muterar, dock verkar dessa mutationer sakna något som gör att dessa varianter inte får utbredning i naturen.

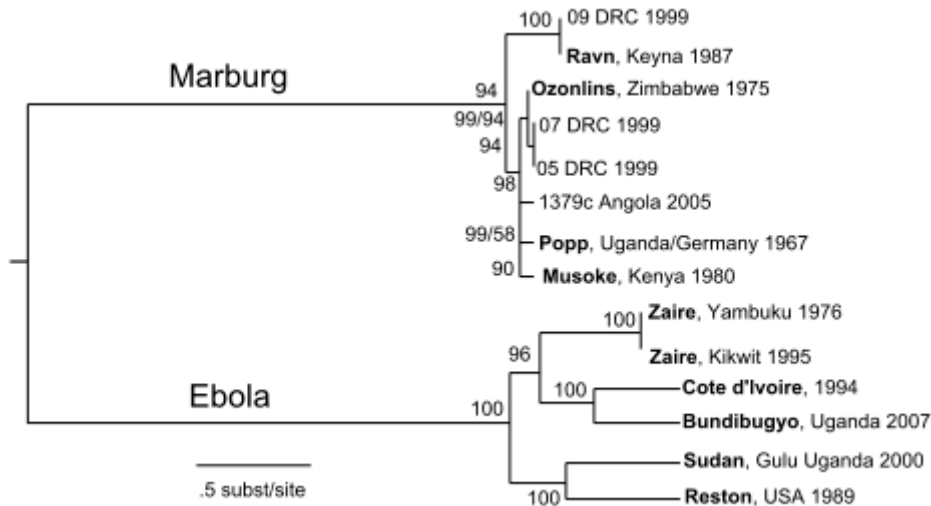


Bild 2. Fylogenetiskt stamträd för Filovirus

(<http://www.plospathogens.org/article/info:doi/10.1371/journal.ppat.1000212>)

Både Ebola och Marburg orsakar blödarfebrar hos primater och dödligheten är mycket hög. Det är en allvarlig zoonos. Det är inte helt klarlagt vilka övriga djur som är känsliga för infektion men de flesta däggdjur verkar vara mottaglig (Pourrut X. *et al*, 2005; Peterson TA. *et al*, 2004).

Ebola Reston tycks vara det enda filovirus som inte orsakar sjukdom hos människa, dock är dödligheten hos apor mycket stor vid infektion av detta virus. Ebola Reston har endast påträffats hos apor som fångats i Filippinerna och sedan transporterats till forskningsanläggningar i bl. a USA och Italien där sedan sjukdom har upptäckts hos djuren. Man har aldrig påträffat denna stam i Afrika (Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever).

Ebolavirus verkar i likhet med många andra aktuella zoonoser vara ett så kallat emerging virus. Liksom fågelinfluensa, bluetounge och svininfluensa som har blivit nya välkända virussjukdomar för både läkare, veterinärer och forskare så tycks Ebolaviruset allt oftare diagnosticeras i Afrika. Trots flera års forskning och insamlande av provmaterial från områden med pågående epidemier så vet man ännu inte vilket eller vilka djur som är den naturliga reservoaren för Filovirus. Inte heller vet man vad som utlöser ett sjukdomsutbrott även om vissa gemensamma omständigheter har kunnat påvisas, som till exempel att utbrotten oftare sker under torrtiden (Peterson TA. *et al*, 2004a; Peterson TA. *et al*, 2004b; Pourrut X. *et al*, 2005; International Commission, 1978).

Utbredningsområden för Ebola

Utbrott av Ebola har skett i Nordamerika, Afrika, Europa och i Asien. Utbrotten i Nordamerika orsakades av djur som importerades från Filippinerna, African green monkey

(grön markatta), till en försöksdjursanläggning i staden Reston, några mil öster om Washington D.C. I Europa finns två dokumenterade fall av Ebolasmitta: ett fall med laboratoriesmitta i England och ett fall med smitta i en karantänsanläggning i Italien. Denna karantän hade importerat apor från samma exportföretag som hade försett anläggningen i Reston med djur (Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever, 2002). Spontana utbrott av Ebola har setts med jämna mellanrum i Centralafrika sedan det första utbrottet uppmärksammades 1976 (se bild 3). Det är framför allt i de västra delarna där det fortfarande finns intakt regnskog som utbrotten äger rum (Centers for Disease Control and Prevention - Filovirus).



Bild 3. Områden med dokumenterade Ebolafall under perioden 1994-2003

(<http://maps.grida.no/go/graphic/ebola-a-central-africa-decennial-course-1994-2003>)

Ebolainfektion

Symtom

Inkubationstiden för Ebola är 2-21 dagar. Det är en akut sjukdom och den har inget egentligt bärarstadium även om persistenta smittbärare har påträffats bland både människor och djur. Viruset kan leva kvar länge i sädesvätska och i ögonkammaren. Både symtom och patologianatomiska förändringar är likartade hos människor och apor. De initiala symtomen är generella och liknar vanlig influensa med feber, huvudvärk, ont i halsen och muskelvärk. Sjukdomen fortsätter med illamående och kräkningar, diarré samt buksmärtor (Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever; Peters C. *et al* 1990). Efter några dagar ses mässlinglika utslag på bålens framsida. Dessa utslag breder ut sig över armar och ben samt mot ryggen till för att sedan blekna inom loppet av 48 timmar. Abortrisken hos gravida kvinnor är stor och dödsfallen bland barn till infekterade mödrar är många. Tecken på onormala blödningstendenser ses i regel inom ett par dagar efter att sjukdomssymtom uppstått; petechier i konjunktiva, blod i kräkningar eller i avföring, blödningar i tandköttet och blödningar från injektionsställen. Patienter visar också ofta symtom på nackstelhet och förändrat medvetandestatus vilket tyder på neurologisk påverkan. Det bedöms som ett dåligt prognostiskt tecken om neurologiska symtom och/eller ökad blödningsbenägenhet ses (Groseth A. *et al* 2007; International Commission, 1978; Peters C. *et al* 1990). Död inträffar i regel 6 – 16 dagar efter att symtom har uppstått och patienten dör till följd av chock och multipel organsvikt (Groseth A. *et al* 2007; Peters C. *et al* 1990).

Försök med apor har visat att symtomen blir svårare och prognosen sämre ju högre dos smittämne djuret får i sig. Då symtom och patologi för övrigt är jämförbar mellan apa och människa kan man anta att detta även gäller människa (Pourrut X. *et al* 2005; WHO International Commission, 1978).

Behandling

Det finns ingen specifik behandling mot Ebola utan behandlingen består i understödjande vätsketerapi och eventuellt antibiotika för att motverka sekundärinfektioner. I de fall man har möjlighet att tillgå fresh-frozen plasma för att ersätta förlust av blodproteiner och koagulationsfaktorer så är det ett bra komplement (Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever; Centers for Disease Control and Prevention - Marburg Hemorrhagic Fever). Under utbrottet i Zaire 1976 samlades plasma in från patienter som överlevt en Ebola infektion. Syftet var att kunna undersöka antikroppstitrarna hos dessa människor och att ha tillgång till plasma med antikroppar för att ge till sjukvårdspersonal som eventuellt kunde bli smittade under arbetet och detta har visat sig fungera. Dock finns det ingen korsimmunitet mellan Ebola och Marburg, då antisera mot Marburg införskaffades och gavs till patienter under detta utbrott utan effekt (WHO International Commission, 1978).

Dödlighet

Dödligheten i Ebola är mycket hög, men man har sett en viss variation mellan de olika stammarna. Ebola Zaire har uppvisat en dödlighet på ca 80 %. Ebola Sudan har en dödlighet på 50 %. Ebola Ivory Coast har endast ett rapporterat sjukdomsfall på människa och denna person överlevde. Ebola Reston är som tidigare nämnts ingen humanpatogen (Pourrut X. *et al* 2005; International Commission, 1978; Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever, 2002). Den senast upptäckta stammen av Ebola, Ebola Bundigbuyo, har vid det hittills enda dokumenterade utbrottet en dödlighet på ca 25 % (Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever).

Smittöverföring och diagnosticering

Smittan sprids framför allt via kontakt med blod, sekret, uppkastningar och/eller avföring från en smittad person. Därför är smittspridning inom familjer mycket vanligt och även nosocomial smitta förekommer på vårdinrättningarna där avsaknad av resurser gör att smittskyddet ofta blir lågprioriterat (Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever; WHO International Commission, 1978). Man har även sett att virus kan finnas kvar länge i sperma hos män som tillfrisknat samt i vätskan i ögonkammaren (Peters C. *et al* 1990). Sekundärfallen har visat en högre andel kvinnor än män vilket kan bero på att det traditionellt sett är kvinnorna som vårdar sjuka och det är även kvinnor som gör i ordning kropparna efter de avlidna (WHO International Commission, 1978).

Konfirmerande laboratoriediagnostik kan ske genom ELISA som påvisar antigen eller ELISA som påvisar specifika IgM antikroppar. Man kan även använda PCR eller göra virusisolering, vanligen på Veroceller. Hos en patient som nyligen insjuknat så är virusisolering, antigen-ELISA eller PCR de metoder som kan användas. Dessa tester kan även diagnosticera sjukdomen post mortem. Hos en person som misstänks ha genomgått sjukdomen och är på väg att tillfriskna, alternativt som del i en prevalensstudie, kan man använda sig av IgM och IgG ELISA (Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever). Man har sett i epidemiologiska undersökningar att de specifika IgM antikropparna inte är särskilt långlivade och det kan förmodas att höga titrar är tecken på en ny antigenstimulering (Peters C. *et al* 1990).

Asymtomatisk sjukdom

Det finns inga bevis för att det förekommer asymtomatiska sjukdomsfall, dock har man vid epidemiologiska studier funnit att 10 – 50 % av de humana blodproverna reagerar vid IFA (indirect fluorescent antibody) test. En del av dessa är med största sannolikhet falskt positiva men testresultaten kan tyda på att sjukdomen är långt mer frekvent förekommande än man hittills anat (Peters C. *et al* 1990). Det kan eventuellt röra sig om olika stammar av Ebola som är mindre patogena och därför ännu inte har uppmärksammats. Med hjälp av DNA-teknologi har man nu upptäckt ett flertal olika varianter till de redan kända Ebola stammarna. Ännu återstår att ta reda på om dessa ska betraktas som separata arter eller om de bara ska ses som olika isolat på de befintliga stammarna (Leroy E.M. *et al* 2005; Peters C. *et al* 1990).

POPULATIONSMINSKNING BLAND GORILLOR I AFRIKA

Minkebe

Minkebe är ett stort skogsområde i nordöstra Gabon, varav största delen är en nationalpark som är svår att ta sig in i för människor då det inte finns vägar och inga byar i området. Många gorillor lever i små populationer som är väldigt sårbara. Eftersom gorillor är så lika människor så är de ofta också mottagliga för våra sjukdomar. Turister, viltvårdare, skogsarbetare samt ortsbefolkning utgör därför en ständig smittorisk för aporna. I Minkebes inre finns ett område på ca 14 000 km² regnskog som helt saknar vägar och stigar, troligen det största kvarvarande regnskogsområdet i ekvatorial Afrika som är orört av människan (Huijbregts B. *et al* 2003).

Kraftig minskning i antal gorillor

Under 1998 – 2000 genomfördes en populationsstudie i Minkebe (se Bild 4) av Huijbregts *et al* där man bland annat beräknade antalet gorillor och chimpanser genom att utföra

rekognosceringsturer i området. Man beräknade antalet djur genom titta efter spillning, bon i träden och på marken samt direkt djurkontakt i form av att se eller höra djuren (Huijbregts B. *et al* 2003).

Förvånande nog upptäckte man att densiteten gorillor och chimpanser var väldigt låg i Minkebe trots det avskilda läget och den utmärkta biotopen för dessa djur. Jämfört med resten av västra Centralafrika hade Minkebe en densitet av 0,03 övernattningsbon per km kontra 1,88 i genomsnitt för övriga västra Centralafrika. Man har även sett att antalet bon per ställe (det vill säga antalet gorillor i gruppen) var färre i Minkebe än vad man ser i genomsnitt i övriga västra Centralafrika: 3,3 jämfört med 5,5. Dessa data visade sig stämma överens med vad andra forskare som arbetat i området under samma tidsperiod kunde rapportera (Huijbregts B. *et al* 2003).

Under 1980-talet och 1990-talets början gjorde flera olika forskare rekognosceringsturer i Minkebe och de fann att antalet gorillor var högt: 3,6 observerade gorillor per km (Lahm 1993) och 7,2 bon i genomsnitt per övernattningsplats (White 1990). Samtliga data som finns insamlade före 1994 tyder på att gorillor fanns i rikligt antal i de undersökta delarna av Minkebe (Walsh P.D. *et al* 2003). Jämfört med de siffror som Huijbregts *et al* fick fram 1998 – 2000 så har det skett en 98 % populationsminskning på bara några få år, och detta i ett område som är så svåråtkomligt att tjuvjakt inte är ett stort problem. Inte heller skogsskövlingen kan vara orsak eftersom det här är en nationalpark som står orörd. De undersökta områdena överlappar varandra ganska väl så det är inte troligt att det bara rör sig om lokala skillnader i populationsdensitet (Huijbregts B. *et al* 2003; Walsh P.D. *et al* 2003).

Misstanken om att en dödlig sjukdom är orsaken till att man nu observerar så få gorillor delas av flera forskare. Under tiden 1994 - 1997 inträffade tre till synes av varandra oberoende Ebolautbrott bland människorna i östra Gabon, varav två av utbrotten hade sitt ursprung i Minkebe. Under denna tidsperiod kom även rapporter från lokala jägare och fiskare som berättade om grupper av döda gorillor och chimpanser längs Ivindo River (Huijbregts B. *et al* 2003; Walsh P.D. *et al* 2003). Vid det större Ebolautbrottet som ägde rum under våren 1996 kunde man konstatera att flera primärfall hade varit inblandade i styckning och transport av en död chimpanse. Då Huijbregts genomförde sin studie med början 1998 fanns inga spår av sjuka eller döda djur, vilket kan tolkas som att utbrottet 1996 dog ut inom loppet av 18 månader efter att det hade börjat (Huijbregts B. *et al* 2003).

Om dessa antaganden stämmer så har antalet gorillor i ett av de mest avskilda områdena i Afrika minskat med 98 % inom loppet av 18 månader, och detta utan att någon uppmärksammat något större problem med sjukdom hos populationen. Enligt The World Conservation Union, IUCN, så är gorillorna klassade som en hotad art. Läser man dock kriterierna för de akut hotade arterna i CR-A2 så uppfyller gorillorna samtliga dessa betingelser: ”En minskning av minst 80 % ... är att vänta inom de kommande 10 åren eller inom tre generationer” (IUCN, CR-A2). Frågan är alltså om inte gorillorna bör få status som akut hotad art. Om minskningen av antalet gorillor följer den takt man sett nu så kommer den att ha nått 80 % gränsen inom två generationer. Även om själva minskningen kan hejdas så kommer återhämtningen att ske mycket långsamt. Det beror dels på att gorillor har långa reproduktionsintervall och dels på att gorillorna idag ofta lever i mindre grupper skilda från varandra genom vägar, byar och samhällen. Detta gör det svårt för de unga djuren att söka sig till nya grupper då de lämnar sin ursprungliga flock.

Lokoué

Lokoué är en öppen träskmark som är väldigt tilltalande för gorillor. (se Bild 4) Den ligger i nationalparken Odzala-Kokoua i Kongo. Under perioden 2001 – 2002 studerades gorillorna i Lokoué och 377 olika individer identifierades. Av dessa levde 92 % i grupp och 8 % var ensamlevande hanar (Caillaud D. *et al* 2006).

I juni 2003 påträffades ett gorillakadaver 60 km sydost om Lokoué. Provtagning visade att det var infekterat med Ebolavirus. Några månader senare avled två bybor efter att blivit smittade i samband med jakt inuti nationalparken. Under perioden oktober – december 2003 dog 29 människor. Från januari – maj 2004 återfanns 6 gorillakadaver inom en 4 km radie från Lokoué och man anser det mycket troligt att Ebola är orsaken till dessa dödsfall. Studier av gorillorna fortsatte under hela tiden som utbrottet varade och avslutades först i juni 2005.

I juli 2004 hade 95 % av alla gorillorna i området försvunnit och påträffades aldrig igen och de antogs ha dött av Ebolainfektion. Vid dessa studier kunde man se att dödstalen bland grupplevande gorillor var avsevärt högre jämfört med de som levde solitärt, 97 % jämfört med 77 %. Eftersom Ebolaviruset smittar från apa till apa, såväl som från reservoar till apa, så är det rimligt att anta att grupplevande apor utsätts för större smittorisk jämfört med de ensamlevande djuren. Detta antagande bekräftas sålunda i denna studie (Caillaud D *et al* 2006).

Då det främst är handjur som lever solitärt fanns det efter det här Ebolautbrottet fler handjur än hondjur och ungar i området. Innan utbrottet var förhållandet det omvända. Detta påverkar gorillornas återhämtningshastighet eftersom det är hondjuren som är den begränsande faktorn i reproduktionssammanhang. Att så många av ungarna dör är också till stor skada för arten eftersom det tar lång tid innan en gorilla blir könsmogen.



Bild 4 Karta över Minkebe, Lokoué och Lossi (modifierad från google map)

Lossi Sanctuary

Lossi ligger i nordvästra delen av Republiken Kongo och är en del av det stora Kongobäckenet. Ett pilotprojekt startades 1992 i Lossi där Centralafrikanska organisationer som ville vårda den unika miljön och artrikedomen i området samarbetade med lokalbefolkningen. Lokalbefolkningen skulle få ta del av de fördelar som ekoturismen i området skulle medföra i utbyte mot att de upplät sina anfäders land till en fristad för gorillorna. Genom detta projekt fick byarna skolor, infrastruktur, sjukvård etc. för de pengar som ekoturismen drog in. Då projektiden hade gått ut efter tre år skrev invånarna till jordbruksdepartementet i Republiken Kongo och bad att området skulle omvandlas till en permanent fristad för gorillorna (Gami Norbert).

Studie av gorillor i Lossi

1995 började en forskargrupp försiktigt låta gorillorna vänja sig vid forskarnas närvaro för att de sedan skall kunna studera djurens beteende och sociala samspel. Sju år senare hade tio olika sociala grupper identifierats omfattande totalt 143 individer. Samtliga av dessa 143 gorillor var individuellt kända av forskarna (Bermejo M. *et al* 2006).

Sent på året 2001 och i början av 2002 startade ett utbrott av Ebola Zaire längs gränsen mellan Gabon och Kongo. I juni 2002 hittades en död gorilla 15 km väster om fristaden i Lossi. I oktober hittades de första döda aporna inom fristaden, både gorillor och chimpanser. På fyra månader återfanns 32 kadaver varav 12 av dessa testades för Ebola Zaire och 9 av dessa var positiva för viruset. Från oktober 2002 till januari 2003 försvann 130 av de 143 individuellt igenkända gorillorna, en förlust på 91 %. Efter detta återfanns endast ett dött djur söder om området i juni 2003 (Bermejo M. *et al* 2006). Inga av de försvunna gorillorna har påträffats igen, vare sig inom Lossi eller utanför dess gränser. Normalt hittar man sällan döda djur i regnskogen beroende på att förmultning sker fort i den fuktiga värmen. De flesta djur som dör har fallit offer för rovdjur och då äts kropparna till största delen upp direkt. Studier visar att en vuxen gorillas kropp vanligen är helt förmultnad inom en månad. Det faktum att forskarna träffade på så många döda kroppar på kort tid är anmärkningsvärt och visar på en ökad dödlighet bland djuren som inte kan bero på tjuvskytte (Leroy E.M *et al* 2004).

Under september 2003 kunde man identifiera sju nya grupper av djur som skapade sig home ranges i fristaden i Lossi. Deras övernattningsplatser undersöktes och räknades två gånger i veckan. I oktober 2003 började döda gorillor åter påträffas i området. Under samma tidsperiod som året innan, oktober till januari, drog Ebola fram från norr till söder inom fristaden och dödade 91 av de 95 kända individerna i de nya grupperna som flyttat dit, ett dödstal på 96 % (Bermejo M. *et al* 2006).

Tester utförda under utbrottet i Lossi 2002-2003

De olika testmetoderna som användes på de döda gorillor som påträffades i Lossi var analyser med avseende på antigen, serologi gjordes i de fall det var möjligt, DNA amplifiering, sekvensering, immunohistokemisk infärgning och virusisolering. Man kunde notera att samtliga muskelprover som togs var negativa med avseende på specifika IgG antikroppar. Denna avsaknad av specifika antikroppar har även noterats hos människor med Ebolainfektion. Sannolikt har sjukdomen ett så snabbt förlopp att människan/djuret dör innan specifika IgG antikroppar hinner bildas, vilket vanligen tar ca 4-5 dagar (Leroy E.M *et al* 2004).

Då man i december 2002 upptäckte det första Ebola dödsfallet bland gorillor och chimpanser i Lossi följde det första humanfallet senare samma månad. Denna person överlevde och provtagning från honom visar att han har bildat specifika IgG antikroppar. DNA-sekvensering av Ebolavirus som påvisades i ryggmärgen hos den gorilla som identifierats som orsak till utbrottet bland människorna matchar DNA-sekvenseringen som gjorts från indexfallets virusstam. Detta ger sannolika bevis för att smitta bland lokalbefolkningen kan antas ha ursprung bland de vilda djuren. Det visar också att sjukdom bland lokalbefolkningen kan smitta till bland annat populationen gorillor i området. Även hjortdjur (duiker) och chimpanser har påträffats döda i större antal i samband med utbrott av Ebola i Gabon och i Kongo (Leroy E.M *et al* 2004).

En smitta eller flera?

Ebolaviruset har tidigare ansetts vara ett stabilt virus. Kännetecknande för alla virus är att de muterar mer eller mindre frekvent men av det man hittills sett av Ebolaviruset så har man sällan hittat stora variationer i genomen. Då man har gjort DNA-sekvensering av prov från Ebolautbrottet i Zaire 1976 och jämfört sekvenseringen av ett viralt glykoprotein med den från ett utbrott av Ebola Zaire 1995 så har endast 2 % av genomet förändrats trots 20 år och 3000 km som skiljer de båda utbrotten åt. Detta glykoprotein har funnits vara den mest variabla delen av virusets genom. Man har även följt en virusstam under ett 7 månader långt utbrott i Gabon och inte sett någon förändring i glykoproteinet sekvens trots många passager under dessa månader (Leroy E.M *et al* 2004).

Under tiden oktober 2000 till maj 2003 togs prov från både människor och djur med misstänkt Ebolainfektion. Proverna samlades in i norra Gabon och längs gränsen till Republiken Kongo. 11 olika subtyper av Ebola identifierades via nukleotidsekvensering, av dessa hade fyra aldrig påvisats hos människa. Dessa fyra subtyper påträffades inte heller nu hos människor. Eric M. Leroy *et al* anser att detta är bevis för att utbrotten som ägde rum under perioden 2001-2003 i Kongo bäckenet inte rörde sig om en enda smitta på väg söderut utan sannolikt flera helt separata smittor som brutit ut bland djur och människor i området (Leroy E.M *et al* 2004).

Fladdermössens roll

Under tiden då ett längre Ebolautbrott pågick, 2001-2005, så gjorde Eric M. Leroy *et al* även försök att identifiera virusets reservoar. Man fångade in ett flertal vilda djur: 679 fladdermöss, 222 fåglar och 129 små marklevande ryggradsdjur. Samtliga testades för tecken på Ebola infektion; serum analyserades och prov från lever och njurar togs. Av de infekterade djur som identifierades så fanns Ebolaspecifika IgG antikroppar i serum från tre olika fladdermusarter; *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* och *Myonycteris torquata*. Två målorgan för Ebolaviruset är lever och mjälte. Virusnukleotidsekvenser hittades i dessa organ hos andra fladdermöss från samma population, det vill säga hos djur som inte hade specifika IgG antikroppar i serum. Det påträffades inte virusnukleotidsekvenser i några andra organ hos dessa djur, inte ens efter amplifiering med PCR. Inte heller återfanns virusnukleotidsekvenser hos några av de andra djurarterna som testades. Att det krävdes PCR för att ens detektera nivåerna av viralt RNA tolkades som att nivåerna måste vara väldigt låga och det sannolikt var därför som man inte lyckades göra virusisolering (Leroy E.M *et al* 2005).

Sekvensering av PCR fragment från 13 djur visade på 7 olika typer av fragment, men alla var fylogenetiskt grupperade inom Ebola Zaire stammen. Fragmenten skilde sig inte bara åt från ett insamlingstillfälle till ett annat, utan även inom de olika arterna av fladdermus återfanns olika fragment av Ebolavirusets nukleotider (Leroy E.M *et al* 2005). Detta tillsammans med

annan forskning tyder på att Ebolavirus troligen kommer att visa sig bestå av många olika stammar och inte bara de fyra man redan känner till (Peters C. *et al* 1990).

Intressant nog hade inga av de IgG positiva djuren viralt RNA och de djur som hade viralt RNA saknade IgG. En teori kring detta var att djuren som var PCR positiva nyligen blivit infekterade och inte hade hunnit utveckla IgG antikroppar än. En annan teori var att olika virulensfaktorer hos de olika Ebola stammarna gav olika immunologiskt svar. Dock känner man ännu inte till några sådana virulensfaktorer.

Något som kan tala för den första teorin var upptäckten man gjorde vid ett provtagningsställe, i Mbomo. Där tog man prover först i februari 2003 och därefter från fladdermöss i samma område och av samma arter fem månader senare. Vid första provtillfället sågs 22,6 % PCR positiva djur men 0 % hade IgG antikroppar. Fem månader senare var resultatet 2,2 % PCR positiva djur och 7,5 % hade utvecklat IgG (Leroy E.M *et al* 2005).

De tre olika arterna av fladdermus har stora utbredningsområden och alla arterna finns inom ungefär samma geografiska område i Afrika. Detta område innefattar även de områden i Afrika där Ebola utbrott har skett. Man vet redan att fladdermöss är reservoar för virusfamiljer som Paramyxoviridae och Rhabdoviridae och dessa virus är genetiskt besläktade med Ebola (samtliga är enkelsträngade, negativa RNA-virus) (Leroy E.M *et al* 2005).

Man har sett att Ebolautbrott ofta ökar under torrperioderna då det är ont om föda och teorier finns att kontakten då ökar mellan gorillor och de fruktätande fladdermössen eftersom de är ute efter liknande föda. Man har i dessa teorier även gjort antaganden om att immunstatusen hos fladdermössen kan variera över tiden och att perioder med ont om föda kan leda till försämrat immunförsvar hos dessa. Detta skulle öka risken för att viruset kan amplifieras inne i värdjuret vilket sedan utgöra en större risk för smittspridning vid närkontakt med gorillorna (Leroy E.M *et al* 2005).

Vaccin

I en nyligen utförd studie (Gesibert T.W. *et al* 2009) har man på makaker testat effekten av att blanda vaccin innehållande tre olika komponenter, VSV-Ebola Zaire, VSV-Ebola Sudan och VSV-Marburg. Vid exponering för smitta 28 dagar efter vaccinering utsattes de för antingen Ebola Zaire, Ebola Sudan, Ebola Ivory Coast eller Marburg. Alla djur som var vaccinerade överlevde, de enda som visade några tecken på sjukdom var de djur som utsattes för smitta från Ebola Sudan. Dock var symtomen lindriga och övergående. Studien visar att det verkar finnas goda möjligheter att utveckla kombinationsvaccin för de olika arterna av Filovirus och det verkar även som att en singeldos vaccin ska vara tillräcklig för att ge bra immunologiskt skydd hos makaker. Samma studie visade även att makaker som genomgått klinisk infektion med Ebola Ivory Coast var immuna även mot Ebola Sudan och Ebola Zaire. Detta test gjordes parallellt med vaccinationsstudien då man inte ännu hade gjort studier på patogeniciteten hos Ebola Ivory Coast hos makaker.

Sammanfattningsvis kan man säga att det inte finns någon korsimmunitet mellan Ebola Zaire och Ebola Sudan. Däremot finns det tydlig korsimmunitet mellan Ebola Ivory Coast och både Ebola Zaire samt Ebola Sudan. Denna korsimmunitet går åt båda hållen enligt denna studie (Gesibert T. W. *et al* 2009).

De tidigare försök som hade gjorts för att få fram ett vaccin som gav ett gott skydd visade sig kräva upprepade injektioner för att uppnå god immunstatus mot de olika sorterna av Filovirus. En orsak till detta är att tidigare inte har kunnat påvisa någon korsimmunitet mellan de olika

stammarna. Då detta rör sig om ett agens som är ett potentiellt vapen för bioterrorism och som finns i okänd reservoar i fattiga delar av Afrika så vore det optimala att få fram ett vaccin som inte kräver mer än en singeldos för att uppnå gott skydd. Upprepade vaccinationer blir både tidskrävande och dyrt, dessutom är det tveksamt om man kan få compliance i vaccinationsrutiner som kräver flera återbesök (Geisbert T. W. *et al* 2009).

Det finns idag inga godkända vaccin mot Ebola, inte heller några effektiva antivirsläkemedel att ta om man skulle råka bli exponerad för smittämnet. Det pågår forskning, framför allt i USA med både avdödade vaccin och rekombinanta vaccin. Man har tidigare sett att rekombinanta Vesicular Stomatitis Virus-vaccin är de enda som visat sig effektiva att ge efter att en individ exponerats för smitta med Filovirus. I dessa vaccin har man bytt ut ett glykoprotein i VS-viruset mot ett glykoprotein från Ebolavirus i stället. Fördelen med ett levande vaccin är att det potentiellt kan ge upphov till en viss låggradig smittspridning. Därigenom hoppas man kunna skapa immunitet även hos individer som inte själva blivit vaccinerade men kommer i kontakt med någon som är nyvaccinerad och ännu inte har hunnit bilda neutraliserande antikroppar. Detta är något som är särskilt intressant ur wildlife vaccination hänseende. Om man kan designa ett tillräckligt lågpatogent men infektiöst vaccin så skulle det kunna innebära att man genom att bara vaccinera några individer i till exempel en gorillaflock så skulle man än då kunna skapa skydd hos det stora flertalet (Geisbert T. W. *et al* 2009).

DISKUSSION

Det finns oerhört mycket kvar att forska på när det gäller ebolavirus. Hur många stammar finns det? Är det stammar av en art eller är det i själva verket olika arter av ebola? Och den mest gäckande frågan: var finns virusets naturliga reservoar? Mycket tid och möda har lagts ner på att svara på dessa frågor och ännu har vi inte fått alla svar. Eftersom vi har att göra med ett virus som är oerhört farligt, både där det finns i naturen och inte minst om det används som biostridsmedel, så är det viktigt att fortsätta forska på det här området.

De artiklar som detta arbete är baserat på ger inte tillräckligt underlag för att säga att ebola är orsaken till de stora djurförluster man noterat bland gorillorna. Endast ett fåtal av de döda djuren är över huvudtaget provtagna med avseende på ebola och inte alla befanns vara positiva (Leroy E.M. *et al* 2004, Bermejo M. *et al* 2006). Dock finns det belägg för att man ska kunna misstänka att det finns någon sjuklighet som ligger bakom gorillornas försvinnande. Man har hittat onormalt många döda djur i vissa områden under vissa perioder, och dessa djur har inte varit skjutna eller skadade. Det är rimligt att gissa att det kan röra sig om en allvarlig smittsam sjukdom som drabbat djuren. Ebola är ett alternativ som inte kan avskrivas men mer undersökningar behövs.

Vaccinationsförsöken är av speciellt intresse. Kanske är det möjligt att en lågpatogen stam påträffas och som kan användas i ett vaccin? Man har sett antikroppar mot Ebola hos lokalbefolkningen vid olika fältstudier. Personerna har dock aldrig haft några symtom på ebola och inte heller har någon i deras nära familj haft det. Vissa av dessa positiva provsvar kan bero på fel i själva analysmetoden, men sannolikt inte alla (Peters C. *et al* 1990) Om det är så att det finns Ebolastammar som endast ger subklinisk sjukdom, kan dessa då ändå ge immunitet mot de mer patogena Ebolastammarna? Det är ingen självklarhet att så är fallet, för som vaccinationsprojektet som Geisbert *et al* utförde så fanns ingen korsimmunitet mellan Ebola Sudan och Ebola Zaire, medan korsimmunitet fanns mellan Ebola Ivory Coast och både Ebola Sudan och Ebola Zaire.

Om man i framtiden lyckas ta fram ett väl fungerande vaccin så bör man inte bara vaccinera befolkningen utan även gorillor och chimpanser. Det är en kostnad som i första steget kan verka svår att försvara men med tanke på vilken farlig zoonos vi talar om så bör i slutänden fördelarna med wild-life vaccination överväga. Det stora flertalet av indexfallen bland lokalbefolkningen har rapporterats blivit smittade vid hantering av smittade djur eller kött från smittade djur (Huijbregts B. *et al* 2003, Leroy E.M. *et al* 2004). Att genom ett vaccinationsprogram skulle kunna skydda både en utrotningshotad djurart som gorilla och samtidigt skydda människor från en allvarlig zoonos är något man hoppas på kan förverkligas.

REFERENSER

Bernejo M., Rodríguez-Teijero J.D., Illera G., Barroso A., Vilà C., Walsh P.D. (2006) Ebola outbreak killed 5000 gorillas. *Science*, vol 314, s. 1564.

Bilder och Fakta - Låglandsgorilla. (2009) *Låglandsgorilla*. Hämtat från www.bilderochfakta.se: <http://www.bilderochfakta.se/djur/apor/laglandsgorilla/> [2010-01-08]

Encyclopaedia Britannica - gorilla. (2010) *Gorilla*. Hämtat från www.britannica.com: <http://search.eb.com/eb/article-9037438> [2010-02-08]

Caillaud D., Levréro F., Cristescu R., Gatti S., Dewas M., Douadi M., Gautier-Hion A., Raymond M., Ménard N. (2006) Gorilla susceptibility to Ebola virus: The cost of sociality *Curr Biol*. 2006 Jul 11;16(13):R489-91

Centers for Disease Control and Prevention - Ebola Hemorrhagic Fever. *Ebola Hemorrhagic Fever Information Packet*. Hämtat från http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/Fact_Sheets/Ebola_Fact_Booklet.pdf [2010-02-07]

Centers for Disease Control and Prevention - Filovirus. *Filovirus Fact Sheet*. Hämtat från www.cdc.gov: http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/Fact_Sheets/fact_sheet_filovirus.pdf [2006-05-20]

Centers for Disease Control and Prevention - Marburg Hemorrhagic Fever. *Marburg Hemorrhagic Fever Fact Sheet*. Hämtat från www.cdc.gov: http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/fact_sheets/fact_sheet_marburg_hemorrhagic_fever.pdf [2010-03-02]

Centers for Disease Control and Prevention - Viral Hemorrhagic Fevers. *Viral Hemorrhagic Fevers*. Hämtat från www.cdc.gov: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/vhf.htm> [2010-03-01]

Geisbert T. W., Geisbert J. B., Leung A., Daddario-DiCaprio K. M., Hensley L. E., Grolla A., Feldmann H. (2009) Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg Virus and three species of Ebola Virus. *Journal of Virology*, vol 83, nr 14 2009, ss. 7296 - 7304.

Groseth A., Feldmann H., Strong J.E. (2007) The ecology of Ebola virus. *Trends in Microbiology*, vol 15, nr 9 ss. 408 - 416.

Huijbregts B., De Wachter P., Obian L.S.N., Akou M.E. (2003) Ebola and the decline of gorilla *Gorilla gorilla* and chimpanzee *Pan troglodytes* populations in Minkebe Forest, north-eastern Gabon. *Oryx*, vol 37, nr 4 2003 ss. 437 - 443.

International Commission. (1978). *Ebola haemorrhagic fever in Zaire 1976*. Genève, Schweiz: World Health Organization. Hämtat från www.who.int: [http://whqlibdoc.who.int/bulletin/1978/Vol56-No2/bulletin_1978_56\(2\)_271-293.pdf](http://whqlibdoc.who.int/bulletin/1978/Vol56-No2/bulletin_1978_56(2)_271-293.pdf)

Lahm SA (1993) Ecology and economics of human/wildlife interaction in north eastern Gabon. PhD thesis, New York University, USA

Leroy E.M., Kumulungi B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Délicat A., Paweska J.T., Gonzalez J-P., Swanepoel R. (2005) Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*, vol 438, 2005 ss. 575 - 576.

Leroy E.M., Rouquet P., Formenty P., Souquière S., Kilbourne A., Froment J-M., Bermejo M., Smit S., Karesh W., Swanepoel R., Zaki S.R., Rollin P.E. (2004) Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central african wildlife. *Science Magazine*, vol 303, 2004, ss. 387 - 390.

Marris E. (2006) Bushmeat surveyed in Western cities. *Nature News* (29 june 2006) doi:10.1038/news060626-10 News
Hämtat från <http://www.nature.com/news/2006/060629/full/news060626-10.html>

Mbotiji J. (2002). *Sustainable use of wildlife resources: The bushmeat crisis*. WILDLIFE MANAGEMENT WORKING PAPER Number 5, Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Peters C., Johnsson E.D., Mc Kee Jr. K.T. (1990) *Textbook of human virology*. 2nd edition. St Louis : Mosby Year Book Inc. Kap 26 Filoviruses and management of viral hemorrhagic fevers ss. 699 - 710

Pourrut X., Kumulungui B., Wittman T., Moussavou G., Délicat A., Yaba P., Nkoghe D., Gonzalez J-P., Leroy E.M. . (2005) The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes and Infection*, nr 7 2005, ss. 1005 - 1014.

Peterson TA., B. J. (2004). Ecologic and geographic distribution of filovirus disease. *Emerging Infectious Disease*, vol 10, 2004 ss. 40 - 47.

Peterson TA., Carroll D.S., Mills J.N., Johnson K.M. (2004) Potential Mammalian Filovirus Reservoirs. *Emerging Infectious Diseases*, vol 10, nr 12 2004 ss. 2073 - 2081.

Walsh P.D., Abernethy K.A., Bermejo M., Beyers R., De Wachter P., Akou M.E., Huijbregts B., Mambounga D.I., Toham A.K., Maisels F., Mbina C., Mihindou Y., Obian S.N., Effa E.N., Starkey M.P, Telfer P., Thibault M., Tutin C.E.G., White L.J.T., Wilkie D.S. (2003) Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature*, 2003, 10. 611-614.

White L (1990) Report and Data on Animals seen and Density Estimates for the WWF Minkebe Transect. Unpublished Report for the WWF-Gabon Office, Libreville, Gabon (cited in Huijbregts B., De Wachter P., Obian L.S.N, Akou M.E. 2003 see above)

World Wildlife Foundation. (2010) *Gorillor i Afrikas skogar*. Hämtat från www.wwf.se: <http://www.wwf.se/v/artter/1128914-gorillor> [2010-01-08]

World Wildlife Foundation. (2010) *Why gorillas are endangered and why they are important*. Hämtat från http://www.wwf.panda.org/what_we_do/endangered_species/great_apes/gorillas/why_gorillas_are_endangered_and_why_they_are_important/ [2010-02-10]

Norbert Gami. *Creation of the Lossi Gorilla Sanctuary by the inhabitants of Lengui-lengui forest village in Congo: why and how?* FORAFRI Project. Gabon. Hämtat från www.fao.org: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/006/y4807b/Y4807B19.pdf> [2011-01-07]