

INTÉRÊT DES TECHNIQUES IMMUNO-VIROLOGIQUES DANS
L'ÉTUDE DES ARBOVIROSES ET DES FIEVRE HÉMOR-
RAGIQUES D'ORIGINE VIRALE EN AFRIQUE.-

J.F. SALUZZO¹, J.L. SARTHOU¹, M. CORNET²,
J.P. DIGOUTTE¹ ET T.P. MONATH.

25^{ème} CONFÉRENCE TECHNIQUE BOBO-DIOULASSO
DU 15 AU 19 AVRIL 1985

1 - INSTITUT PASTEUR - B.P. 220 - DAKAR - SENEGAL

2 - O.R.S.T.O.M. - B.P. 1386 - DAKAR - SENEGAL

3 - CENTERS FOR DISEASE CONTROL - POST OFFICE
BOX 2087 FORT COLLINS - COLORADO 80522 - USA.

Le diagnostic et l'étude écologique des arbovirus en Afrique ont été longtemps réalisés selon des techniques faisant appel pour l'isolement des virus à l'inoculation aux souriceaux nouveau-nés (SMN) et aux techniques d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) et de fixation du complément (FC) pour ce qui concerne les enquêtes sérologiques.

Afin d'augmenter la sensibilité des techniques d'isolement, ont été successivement employées l'inoculation aux insectes d'élevage (Aedes aegypti ; Toxorhynchites brevipalpis), l'inoculation aux cultures de cellules d'insectes (Aedes aegypti, Aedes albopictus, Aedes pseudoscutellaris).

Récemment sont apparues des techniques ELISA d'immocapture des antigènes viraux, en particulier pour le diagnostic de la fièvre jaune, faisant appel soit à des anticorps monoclonaux (4) soit à des IgM de patients (8) comme support de l'immocapture de l'antigène. Parallèlement, se sont également développées des techniques ELISA d'immocapture des IgM (3 et 4).

Au cours de l'épidémie de fièvre jaune au Burkina Faso en 1983, nous avons eu la possibilité d'évaluer ces différentes techniques. Dans la présente note, nous présentons les observations obtenues au cours de cette étude dont les résultats détaillés ont été précédemment rapportés (5).

En outre, les techniques immuno-virologiques ont été utilisées pour la surveillance écologique des arbovirus dans la région de DKédougou au Sénégal Oriental. L'intérêt de ces techniques sera souligné. Enfin, nous envisageons l'application des techniques immuno-virologiques aux diagnostics des fièvres hémorragiques d'origine virale après inactivation préalable des prélèvements suspects.

/2/) A T E R I E L

I - PRELEVEMENT LORS DE L'EPIDEMIE DE FIEVRE JAUNE AU BURKINA FASO

Les prélèvements suivants ont été étudiés :

- 17 sangs
- 13 fragments de foie
- 121 lots de moustiques.

.../...

II - PRELEVEMENTS DANS LA REGION DE KEDOUGOU EN 1983

- 136 prélèvements de sang effectués chez des singes appartenant aux espèces suivants : Erythrocebus patas, Cercopithecus aethiops et Papio papio ont été réalisés à intervalle régulier en 1983, pour études sérologiques et virologiques. En outre, 10.173 vecteurs potentiels du virus YF ont été capturés au cours de l'année 1983 pour les études virologiques.

/)/) ETHODE

Les techniques virologiques et immuno-virologiques ont été présentées de façon détaillée dans une précédente note (5).

Le principe des techniques immuno-virologiques est résumé sur le tableau 1.

R E S U L T A T S

1 - Epidémie de fièvre jaune au Burkina Faso

Dans le tableau 2 sont rapportés les résultats de la comparaison de différentes techniques pour l'isolement ou la détection du virus de la fièvre jaune. Les résultats du diagnostic d'une infection YF par isolement viral et/ou titrage des IgM sont mentionnés dans le tableau 3.

2 - Surveillance écologique de la circulation des flavivirus dans la région de Kédougou

La surveillance régulière des IgM chez les singes capturés dans la région de Kédougou en 1983 a montré l'absence d'anticorps pour les principaux flavivirus testés (Zika, YF, Dengue 4, D3, D2, D1) jusqu'au mois de septembre. En octobre, 7 singes sur les 22 testés (32 %) possédaient des IgM pour l'antigène YF, en novembre et décembre, respectivement 1 singe/23 testés et 1 singe/13 testés possédaient également des anticorps IgM pour le virus de la fièvre jaune.

Au cours de cette période, tous les sérums se sont avérés négatifs pour les autres flavivirus par la méthode ELISA d'immunocapture des IgM. Parallèlement à cette surveillance sérologique, 1 souche de virus YF a été isolée du sang d'un singe capturé en octobre et 25 souches de moustiques capturés en octobre et novembre.

DISCUSSION

L'isolement des arbovirus par inoculation aux souriceaux nouveau-nés a été très longtemps utilisé et a permis la réalisation d'un très large inventaire des virus présents en Afrique. C'est ainsi que la quasi totalité des 112 arbovirus (ou virus apparentés) isolés en Afrique et inscrits au catalogue des arbovirus, l'a été principalement par inoculation aux souriceaux. Toutefois, la sensibilité de cette technique s'est avérée insuffisante en particulier pour les virus de la dengue et à un degré moindre pour celui de la fièvre jaune. Virus appartenant au genre Flavivirus dont l'importance en pathologie humaine reste prépondérante (fièvre jaune) ou pourrait le devenir (dengue).

Les techniques d'IHA et de FC ont également été très largement utilisées en Afrique. La spécificité de la réaction d'IHA ne permet pas d'établir avec précision un diagnostic d'une infection en particulier dans le groupe des flavivirus et ce notamment dans le cas de surinfection. De même, l'emploi de cette technique pour les enquêtes sérologiques ponctuelles est d'un intérêt limité en raison de la très longue persistance des anticorps IHA, ce qui nécessite de restreindre les études sérologiques à une population de très jeunes enfants. Enfin, peu d'arbovirus possèdent des propriétés hemagglutinantes à titre élevé, ce qui exclut l'emploi de la technique d'IHA notamment pour le groupe des arboviroses mineures (Ileshaq, Tataguine, Bwamba, Orungo, Nyando, Bhanja, Dugbe, Bangui). La réaction de FC présente le même inconvénient que la réaction d'IHA pour le diagnostic des flavivirus dans le cas de surinfection. Par contre, elle s'avère d'un grand intérêt pour le diagnostic d'une infection primaire pour ce groupe de virus. Ces limites ont été soulignées (1) dans le cas des arboviroses mineures en raison de titres en anticorps faibles ou nuls.

.../...

Dans la présente étude, l'emploi des cellules d'Aedes pseudosc-
tellaris (Mos 61) s'est avéré d'un très grand intérêt pour l'isolement
du virus de la fièvre jaune en raison d'une part d'une grande sensibilité
et d'autre part de la possibilité d'effectuer un diagnostic rapide en 3
à 6 jours lorsque l'identification est réalisée au moyen d'un anticorps
monoclonal (5):

Outre l'isolement du virus de la fièvre jaune au cours de
l'épidémie du Burkina Faso, les virus suivants ont été par la suite
isolés par cette méthode : Chikungunya, Dengue 4 et Dengue 2, Zika,
Wesselsbron, Ilesha, NGari, Tataguine, Rift Valley fever (SALUZZO non
publié). Cette technique permet donc non seulement la réalisation d'un
diagnostic rapide mais probablement d'envisager également l'isolement
de très nombreux arbovirus en Afrique.

La technique d'immunocapture de l'antigène YF par ELISA au
moyen d'un anticorps monoclonal s'est avérée de sensibilité inférieure
aux techniques d'isolement par inoculation aux cellules d'insectes, mais
cette technique couplée à la détection des IgM a permis de porter un
diagnostic de certitude d'une infection fièvre jaune dans la totalité des
cas étudiés.

Le titrage des IgM chez les singes s'est également avéré d'un
très grand intérêt dans la surveillance de la circulation selvatique des
flavivirus dans la région de Kédougou. Cette technique constitue une
méthode de détection d'une poussée épizootique à la fois rapide et d'un
coût moindre par rapport à l'isolement du virus à partir des lots de
moustiques. Elle est actuellement employée en complément de la surveillance
sérologique des populations humaines de la région de Kédougou et d'une
surveillance entomologique. Un bilan sur plusieurs années nous permettra
de juger de son intérêt et de ses limites.

A partir des prélèvements de sang testés au cours de l'épidémie
de fièvre jaune au Burkina Faso, outre l'isolement de 5 souches de virus
de la fièvre jaune, une souche de virus de la fièvre hémorragique de
Crimée-Congo (CHF-Congo) a été isolée chez un malade présentant un
syndrome hémorragique accompagné d'un ictère initialement diagnostiqué
fièvre jaune (6). Un tel isolement pose le problème de la sécurité lors
de la manipulation des prélèvements effectués chez des malades présentant
une fièvre hémorragique pouvant être due aux virus hautement pathogènes
de classe 4 (Lassa, Ebola, Marburg, Rift Valley, CHF-Cong^o).

L'application des techniques immunovirologiques pour la détection de l'antigène et/ou des IgM à partir des prélèvements préalablement inactivés offre une possibilité de diagnostic pouvant être réalisé dans des conditions de sécurité absolue sans avoir recours à des laboratoires de haute sécurité. Un schéma des techniques qui pourraient être employées est présenté dans le tableau 4.

Récemment, une technique ELISA a été décrite pour la détection des antigènes ou des IgM pour le virus Lassa (2).

Nous avons pu également mettre au point une technique d'immunocapture des IgM pour le diagnostic du virus de la Rift Valley fever (7).

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - GEORGES (A.J.), SALUZZO (J.F.), GONZALES (J.P.) et DUSSARAT (G.U.). - Arboviroses en Centrafrique : Incidence et aspects diagnostiques chez l'homme. Med. Trop., 1980, 40, 561-568.
- 2 - JAHRLING (P.B.), NIKLASSON (B.O.) et Mc CORMICK (J.B.). Early diagnosis of human Lassa fever by ELISA detection of antigen and antibody. Lancet, 1985, i : 250-252.
- 3 - LHUILLIER (M.) et SARTHOU (J.L.). Intérêt des IgM anti-marilles dans le diagnostic et la surveillance épidémiologique de la fièvre jaune. Ann. Virol. (Inst. Pasteur). 1983, 134 E, 349-359.
- 4 - MONATH (T.P.) et NYSTROM (R.R.). Detection of yellow fever virus in serum by enzyme immunoassay. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1984, 33, 151-157.
- 5 - SALUZZO (J.F.), MONATH (T.P.), CORNET (M.), DEUBEL (V) et DIGOUTTE (J.P.) Comparaison de différentes techniques pour la détection du virus de la fièvre jaune dans les prélèvements humains et les lots de moustiques. Intérêt d'une méthode rapide de diagnostic par ELISA. Ann. Virol. (Inst. Pasteur). Soumis.
- 6 - SALUZZO (J.F.), DIGOUTTE (J.P.), CORNET (M.), BAUDON (D.), ROUX (J.) et ROBERT (V.). - Isolation of Crimean-Congo haemorrhagic fever and Rift Valley fever viruses in Upper Volta. Lancet, 1984, i, 1979.
- 7 - SALUZZO (J.F.), DIGOUTTE (J.P.), CAMICAS (J.L.) et CHAUVANCY (G.). Crimean Congo haemorrhagic fever and Rift Valley fever in South-eastern Mauritania. Lancet, 1985, i, 116.
- 8 - SARTHOU (J.L.) et LHUILLIER (M.). - Diagnostic immunoenzymatique rapide de la fièvre jaune : détection directe dans le sérum des malades, de l'antigène amarile libre (Ag-YF) ou engagé dans les immuns-complexes circulants (IgM-Ag YF). Comm. Soc. Franc. Microbiol., Paris, 2 Février 1984.

Tableau 1

TECHNIQUES IMMUNOVIROLOGIQUES

I - IMMUNOCAPTURE DE L'ANTIGENE LIBRE OU COMPLEXE

- IgM

- MONOCLONE

II - TITRAGE DES IgM PAR IMMUNOCAPTURE.

III - REVELATION

- METHODE DIRECTE : EX : MONOCLONE POLY-SPECIFIQUE MARQUE A LA PHOSPHATASE ALCALINE

- METHODE INDIRECTE : IMMUNE ASCITE + ANTISOURIS MARQUE A LA PEROXYDASE

- METHODE DIRECTE < SENSIBLE QUE METHODE INDIRECTE

Tableau 2

COMPARAISON DE DIFFERENTES TECHNIQUES POUR
L'ISOLEMENT OU LA DETECTION DU VIRUS AMARIL A PARTIR DE PRELEVEMENTS HUMAINS
ET DE LOTS DE MOUSTIQUES

Echantillons	Nombre	M E T H O D E S				
		Souriceau Nouveau-né	Cellules d' <i>Ae aegypti</i>	Cellules d' <i>Ae pseudoscutal-</i> <i>ris</i>	Toxorhynchites	ELISA
Sang	17	4	2	5	5	3
Foie	13	9	7	11	11	8
Moustiques (pools)	121	NT ^b	NT	26	24	4
Durée ^c (jours)		14-23	7	3-6	13-19	1

109

a : Nombre de souche de virus FJ isolées ou détectées

b : NT : Non Testé

c : Temps nécessaire pour l'isolement et l'identification du virus amaril

TITRAGE DES IgM DANS DES PRELEVEMENTS EFFECTUES
LORS DE L'EPIDEMIE DE FIEVRE JAUNE AU BURKINA FASO EN
1983 EN RELATION AVEC LES ISOLEMENTS OU LA DETECTION DU
VIRUS - YF -

NUMERO	ISOLEMENT	IMMUNO- CAPTURE	IgM					
			ZIKA	YF	D4	D3	D2	D1
38552	+	(1)	N (2)	N	N	N	N	N
38554	N	N	N	800	N	N	N	N
38555	N	N	N	200	N	N	N	N
38556	+	N	N	N	N	N	N	N
38563	N	N	N	200	N	N	N	N
38565	+	+	N	200	N	N	N	N
38568	N	N	N	400	N	N	N	N
38569	N	N	N	400	N	N	N	N
38571	+	N	N	200	N	N	N	N
38573	N	N	N	800	N	N	N	N
38575	N	N	N	400	N	N	N	N
38578	+	+	N	N	N	N	N	N

(1) Isolement du virus de la FIEVRE JAUNE par inoculation aux cellules
d'Aedes pseudoscutellaris (MOS 61)

(2) Titre inférieur au 1/100

Tableau 4.

DIAGNOSTIC DES FIEVRES HEMORRAGIQUES
D'ORIGINE VIRALE

PRELEVEMENT DE SANG (VACUTAINER)

