

INSTITUT PASTEUR DE COTE D'IVOIRE

01 BP.490 ABIDJAN 01.

L'EPIDEMIE DE FIEVRE JAUNE AU BURKINA FASO EN 1983 VUE DU
LABORATOIRE DES ARBOVIRUS DE L'INSTITUT PASTEUR DE COTE D'IVOIRE.

N. MONTENY¹, M.J. MAZZARIOL², J.L. SARTHOU³, M. LHUILLIER⁴

- 1 Virologue ORSTOM - IPCI
- 2 Biologiste - IPCI
- 3 Chef du Laboratoire d'Immunochimie - IPCI
- 4 Chef du Laboratoire des Arbovirus - IPCI

25ème CONFERENCE TECHNIQUE BOBO-DICULASSO
DU 15 AU 19 AVRIL 1985

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, le Burkina Faso et la Côte d'Ivoire collaborent dans le domaine des ARBOVIRUS par l'intermédiaire du Centre Muraz à Bobo-Dioulasso et de l'Institut Pasteur (I.P.C.I.) à Abidjan.

La surveillance épidémiologique systématique réalisée a notamment permis la mise en évidence de circulation sylvatique du virus de la fièvre jaune (en 1978) mais aussi des virus Zika, Chikungunya et Sindbis. En 1980 fut décelée, et pour la première fois, celle du virus de la dengue 2 par l'isolement de 68 souches à partir de vecteurs sylvatiques (*Aedes luteocephalus*). Ultérieurement une souche fut isolée d'*Aedes aegypti*, en zone urbaine, à Bobo-Dioulasso; simultanément la détection d'IgM anti-Dengue 2 dans le sérum d'un malade ayant fréquenté le lieu de capture vint confirmer l'existence de la circulation de ce virus en zone urbaine.

A la suite d'une épidémie rurale à transmission inter-humaine survenue en Mai 1982 en Côte d'Ivoire une méthode de détection des IgM spécifiques anti-amarielles a été mise au point à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et la cinétique de ces immunoglobulines précisée (cf communication précédente).

C'est en raison des liens privilégiés existant entre le Centre Muraz et l'I.P.C.I. et de la méthodologie récemment développée qu'une importante partie du matériel biologique prélevé lors de l'épidémie de fièvre jaune en Octobre et Novembre 1983 au Burkina Faso nous a été adressée.

MATERIELS ET METHODES PRELEVEMENTS

Nous avons donc reçu des prélèvements provenant de l'aire épidémique (régions de Fada N'Gourma, Tenkodogo et Manga).

Les deux enquêtes réalisées par le Centre Muraz se situent l'une à l'acmé de l'épidémie (Octobre 83) et l'autre deux mois plus tard.

Lors de la première enquête, 1 276 sérums ont été prélevés, d'une part dans les foyers où des cas cliniques de fièvre jaune étaient observés (866 sérums) et d'autre part chez les enfants des écoles situées dans les agglomérations (410 sérums).

La seconde enquête a porté sur 1327 sérums. Pour des raisons diverses, des paires de sérums n'ont pu pratiquement être obtenues que chez les enfants des écoles.

Ces prélèvements étaient à l'origine destinés uniquement à des études sérologiques. Après décantation, ils ont été conservés à +4°C pendant 10 jours, puis congelés à -20°C pendant trois semaines avant d'être expédiés à l'I.P.C.I. en boîte isotherme. Arrivés décongelés, ils ont été conservés à +4°C pendant toute la durée de l'étude.

L'étiologie de l'épidémie était connue depuis plusieurs semaines lorsque les sérums nous sont parvenus.

La recherche des anticorps inhibant l'hémagglutination (IHA) a été réalisée selon le protocole habituel.

.../...

ANTICORPS IHA

En l'absence d'étude cinétique possible, nous avons retenu comme critère de positivité une réaction anti-amarile de type primaire et dans le cas d'une réaction secondaire, un titre IHA anti-fièvre jaune quatre fois supérieur à celui des autres anticorps anti-flavivirus. Néanmoins, dans le contexte épidémiologique, des sérums présentant des titres supérieurs ou égaux à 640 pour l'ensemble des flavivirus ont également été considérés comme positifs. En fonction de ces critères, la répartition des sérums positifs en IHA dans les campements et les écoles est globalement peu différente de celle obtenue sur la base des IgM anti-amariles : 208/866 et 10/410 dans la première étude. 269/987 et 20/340 dans la seconde. Le tableau 2 récapitule les résultats des anticorps IHA en fonction de l'origine des prélèvements et du type de réaction primaire ou secondaire.

IgM ANTIAMARILES :

Le seuil de positivité adopté pour un sérum est de 1 000 dans la méthode utilisée; les chiffres obtenus sont le plus souvent très largement supérieurs.

Au cours des deux missions successives, les IgM spécifiques anti-amariles ont été considérées comme positives respectivement pour 321 sérums lors de la première mission et 326 pour la seconde enquête.

Ces 321 IgM positives ont été mises en évidence essentiellement parmi les sérums prélevés dans les campements avec cas cliniques de fièvre jaune (308/866) et plus accessoirement dans les sérums des enfants des écoles (13/410). Pour la seconde mission, les résultats ont été respectivement de 309/987 et de 17/340.

En raison de la conservation satisfaisante des sérums, il nous a paru intéressant de ne pas limiter l'étude à la sérologie classique. En effet, lors de l'épidémie de Côte d'Ivoire de 1982 et ultérieurement lors d'émergences endémiques, nous avons pu isoler des souches de virus de la fièvre jaune sans que les conditions optimales de conservation des prélèvements aient été réunies.

Nous avons ainsi recherché les IgM anti-amariles et la présence d'antigène fièvre jaune par technique immunoenzymatique sur les 1276 sérums de la première enquête, alors que nous avons inoculé sur souris et sur système cellulaire uniquement les 866 provenant des foyers ruraux :

- La détection des IgM anti-amariles est réalisée en microplaque selon la méthode précédemment décrite.
- La détection directe de l'antigène fièvre jaune est également réalisée en microplaque, sur le sérum, sans qu'il soit nécessaire de faire appel préalablement à un système amplificateur.

Nous avons adapté la méthode ELISA pour pouvoir déterminer si l'antigène détecté est libre ou engagé dans un complexe avec les IgM spécifiques anti-amariles : une microplaque est sensibilisée avec de l'anti-chaîne μ humaine que l'on sature sur une moitié de plaque avec des IgM anti-amariles humaines purifiées. Les sérums à tester sont ensuite déposés dans chacune des deux moitiés de microplaque et mis en présence des mêmes réactifs successifs : ascite anti-amarile, conjugué peroxydasique, chromogène.

Les IgM spécifiques proviennent de sérums précédemment recueillis chez des convalescents, un mois après leur phase de virémie.

Nous considérons qu'un sérum contient un antigène libre si la réaction est positive selon le schéma 2.

L'antigène YF est considéré comme complexe aux IgM anti-amariles lorsque l'on a une réaction positive avec les deux séquences schéma 2 et 3.

L'antigène fièvre jaune a été détecté et confirmé dans 101 des 1276 sérums étudiés. L'antigène était complexe aux IgM spécifiques 99 fois et a été trouvé libre à deux reprises. Les sérums contenant les antigènes, qu'ils soient libres ou complexes, provenaient des campements ou des cas cliniques de fièvre jaune avaient été observés 92/866 soit 11% et des écoles des agglomérations de la zone épidémique (9/410 soit 2%).

VIRUS DE LA FIEVRE JAUNE

L'inoculation des 866 sérums prélevés dans les campements a permis dans un premier temps l'isolement de trois souches virales une souche de virus Tanga (identifiée par le Centre Collaborateur O.M.S.) et deux souches de virus fièvre jaune. Ces deux souches proviennent des deux sérums pour lesquels l'antigène YF libre avait été détecté.

Parmi les 99 prélèvements dans lesquels des immunocomplexes avaient été mis en évidence, aucune souche virale n'a pu être isolée en inoculation directe.

L'obtention de ces trois souches virales permettait de penser que le mode de conservation des sérums ne pouvait seul expliquer le nombre réduit d'isollements sur les 101 sérums parmi les quels l'antigène YF avait été détecté. Aucun des antigènes complexes n'ayant permis l'isolement de souches, nous avons envisagé que la responsabilité en incombait aux IgM. Différentes techniques : physiques, immunologiques et chimiques ont été employées pour tenter de dissocier ces complexes. Une seule nous a donné des résultats satisfaisants. Par action du dithiothréitol (DTT) 0,15 M 36 souches de virus fièvre jaune ont pu être isolées à partir des 99 sérums sélectionnés sur la base de la détection préalable de l'antigène YF complexe. Toutes se sont développées sur culture de cellules C6/36 alors que 9 seulement ont pu être obtenues sur souris, confirmant si besoin était la plus grande sensibilité des cellules. Les identifications de ces souches comme des deux premières ont été réalisées par technique CHROM-ELISA et confirmées par le Centre Collaborateur O.M.S.

DISCUSSION

Malgré le nombre important de sujets étudiés, pour les raisons déjà évoquées, peu de paires de sérums ont été obtenues. Ainsi, en l'absence d'étude cinétique, le titrage IHA met en évidence la circulation d'un flavivirus mais ne permet pas de conclure en une étiologie amarile.

Par contre, à l'aide des techniques immunoenzymatiques ELISA, il est possible de détecter l'antigène YF et les IgM spécifiques anti-fièvre jaune. Ces méthodes de diagnostic rapide, réalisables sur un seul prélèvement sanguin, sont d'un prix de revient modéré, permettent d'étudier de grandes séries et peuvent être réalisées sur le terrain. Confrontés à un grand nombre de sérums, la détection de l'antigène permet de dégager les priorités pour l'inoculation aux systèmes amplificateurs en vue de l'isolement.

Parmi les antigènes détectés, 99 sur 101 ont été considérés comme complexes aux IgM anti-amariles. Cependant, la détection de ces IgM selon le protocole utilisé n'a été positive que 40 fois, bien que nous ayons à cette occasion ramené le seuil de positivité à 400. Les 59 autres sérums auraient été considérés comme négatifs en IgM spécifiques, mais la technique utilisée pour mettre le complexe en évidence fait considérer le contraire. On peut envisager que leur taux est trop faible pour être détecté par la méthode habituelle ou encore qu'il s'agit de liaisons non spécifiques de l'antigène à des IgM plus ou moins dénaturées. Ces sérums ont été conservés plusieurs semaines à +4°C et d'autres auteurs ont fait cette observation à propos de complexes IgM-virus de l'hépatite B.

Pour les 40 sérums possédant des immunocomplexes circulants, le titre des IgM spécifiques variait entre 800 et 26 000. Cette observation suggère que la séroconversion est un phénomène dynamique évoluant en fonction des concentrations des deux éléments du complexe : antigène YF et IgM anti YF. On peut ainsi envisager qu'après une phase où l'antigène est libre dans le sérum (virémie au début), l'augmentation progressive des anticorps provoque la formation d'un complexe primitivement en excès d'antigène, puis à l'équilibre et enfin en excès d'anticorps. Dans une dernière phase, l'antigène disparaît et seules les IgM spécifiques sont alors détectées. Les résultats que nous avons obtenus sont en concordance avec cette hypothèse compte tenu des différences de densité optique pour un même sérum selon que la captation utilise l'anti-chaîne humaine seule (fig. 1 schéma III) ou revêtue d'IgM purifiée anti-fièvre jaune (fig. 1 schéma II). À la lumière de ces résultats, puisque le virus peut persister dans le sang circulant sous forme d'immunocomplexes, la notion classique de durée de virémie pourrait être revue.

L'intérêt du traitement des sérums par le dithiothréitol paraît évident. Son action au niveau des pentamères d'IgM est suffisante sans être létale pour que la multiplication du virus devienne possible sur cultures cellulaires. Ce procédé est par ailleurs applicable à d'autres arbovirus.

L'intérêt de la détection des IgM spécifiques anti-amariles a de nouveau été vérifié au cours de cette épidémie, montrant en particulier l'hétérogénéité de la morbidité au sein de la zone épidémique. Il convient, compte tenu de la cinétique des IgM de réaliser le bilan immunologique final d'une épidémie environ dix jours après l'observation du dernier cas clinique. La détection des IgM anti-amariles et de l'antigène YF sont complémentaires en raison de l'apparition légèrement décalée dans le temps de ces deux marqueurs. Cette détection simultanée peut être réalisée sur une même microplaque et permet de préciser, sur un seul sérum, le taux d'"infestation" des sujets contacts. L'étude de ce taux d'infestation fournit une meilleure approche épidémiologique, l'évaluation pêchant par défaut en l'absence de l'un ou de l'autre test.

CONCLUSION

Cette étude a permis la mise en œuvre de techniques immunoenzymatiques rapides dégageant une nouvelle stratégie en ambiance épidémique. Il est possible d'établir sur le terrain, au jour le jour, un bilan d'extension de l'épidémie et donc de déterminer éventuellement les priorités en matière de vaccination.

Par ailleurs, la conservation des sérums à -20°C, puis à +4°C au cours de l'étude au laboratoire a montré la thermosensibilité relative du virus amaril isolé au cours de cette épidémie. Cette observation incite - même lors-

que les conditions optimales de conservation ne sont pas réunies - à tenter l'isolement de la souche virale permettant d'affirmer le diagnostic et d'effectuer la notification officielle.

Au cours de cette épidémie, l'importance des immunocomplexes circulants a été mise en évidence. Il serait intéressant de préciser leur rôle physiopathologique dans les arboviroses à manifestation hémorragiques. Enfin, l'action du dithiothréitol a montré qu'après rupture du complexe avec les IgM spécifiques, le virion pouvait conserver son pouvoir infectieux.

Tableau 2. Détection des anticorps IHA ayant un titre significatif.

	Enquête à l'acme de l'épidémie (1276 prélèvements)				Enquête 2 mois après l'épidémie (1327 prélèvements)			
	* Réaction Type I		** Réaction type II		* Réaction type I		** Réaction type II	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Campagnes	16	3,6	162	12,7	153	11,5	116	8,7
Ecoles	6	0,5	4	0,3	15	1,1	5	0,4
Total	52	4	166	13	168	12,6	121	9,1

* Type I: réaction primaire (premier contact avec un flavivirus)

** Type II: réaction secondaire (nouveau contact avec un flavivirus)