

UN NOUVEAU PROTOTYPE D'ARBOVIRUS (*FLAVIVIRUS*)  
ISOLÉ AU SÉNÉGAL :  
LE VIRUS KÉDOUGOU (Ar D14701)

par Y. Robin, M. Cornet, G. Le Gonidec, R. Chateau et G. Heme

*Institut Pasteur et ORSTOM, Dakar*

SUMMARY

KEDOUGOU VIRUS (Ar D14701) :  
A NEW ARBOVIRUS (« FLAVIVIRUS ») ISOLATED IN SENEGAL

A new Arbovirus, Kedougou (Ar D14701) has been isolated at Kedougou, Eastern Senegal, from a pool of *Aedes (Aedimorphus) minutus* collected on human bait in June 1972. An other strain of this virus has been isolated from the same mosquito species collected in 1975 at the same period of the year.

Immunologic studies show that the virus is a member of the genus *Flavivirus* (Arbovirus group B) different from all the members of the group with which it is compared.

A survey for antibodies in human sera reveals some activity of this virus in the human population studied.

KEY-WORDS: Arbovirus, *Flavivirus*, Kedougou virus; Mosquito, Africa.

---

Peu avant l'épidémie de Diourbel en 1965, des enquêtes sérologiques avaient attiré l'attention sur la zone de Kédougou, au Sénégal Oriental, où il était évident que le virus amaril avait circulé très récemment [2]. Des enquêtes qui suivirent en 1968 [5] et en 1970 et 1971 [7] confirmèrent cette circulation; et, en 1972, une station de brousse était installée à Kédougou. Très vite cette région s'avérait très riche quant aux variétés d'arbovirus rencontrées.

En 1972, une souche était isolée d'un lot de *Aedes (Aedimorphus) minutus* Theo. capturés au mois de juin : cette souche du groupe B se révéla différente de toutes celles auxquelles elle était comparée. Une autre

Manuscrit reçu le 3 novembre 1977, accepté le 15 décembre 1977.

30 JUIN 1978

O. R. S. T. O. M. *ex1*  
Collection de Référence

no 9272 Ent. Red.

souche était isolée en 1976, du même vecteur, capturé en 1975, à la même époque de l'année.

Ces deux souches ont reçu le nom de Kédougou, du lieu où est implantée notre station de brousse.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### *Moustiques.*

Les moustiques ont été capturés sur appât humain et mis aussitôt dans un congélateur à azote liquide dans lequel ils ont été transportés jusqu'à Dakar.

A l'arrivée, au laboratoire, les moustiques ont été transvasés rapidement dans un conservateur à  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Après constitution de lots monospécifiques sur une table réfrigérée, les moustiques ont été remis à  $-70^{\circ}$  jusqu'à inoculation au souriceau.

### *Inoculations.*

Les inoculations ont été pratiquées chez le souriceau de 24 h. Les moustiques ont été broyés dans un mortier de porcelaine, à l'aide d'un pilon, en présence de solution tamponnée phosphatée contenant 0,75 % d'albumine bovine et des antibiotiques (3 ml par lot de 30 à 100 moustiques).

Deux portées de souriceaux ont été inoculées par voie cérébrale (0,02 ml) avec le produit pur.

Pour les passages, les cerveaux de souriceaux infectés ont été broyés en présence de diluant (2 ml par cerveau) et inoculés par voie cérébrale au souriceau.

### *Identification.*

Le caractère de filtration de la souche a été précisé à l'aide d'un filtre Millipore de 220 nm.

La sensibilité au chloroforme a été recherchée selon la méthode de Feldmann et Wang [6].

Le pouvoir pathogène a été étudié chez le souriceau nouveau-né inoculé par voie cérébrale et péritonéale, et chez la souris adulte inoculée par les mêmes voies.

On a étudié la susceptibilité au virus Kédougou des cellules Véro, LLC-MK2, PS, HEp2 et de *A. albopictus*.

Les antigènes ont été préparés grâce à une extraction par le saccharose et l'acétone de cerveaux de souriceaux infectés [4] et les liquides immuns ont été obtenus sur ascite de souris provoquée par la souche de sarcome TG180 [1].

La réaction de fixation du complément a été effectuée selon la méthode LBCF en microtechnique [3].

Les réactions de neutralisation pour identification ont été pratiquées par inoculation au souriceau (après 1 h au bain-marie à  $37^{\circ}$ ) d'un mélange de sérum pur et de suspension de virus. On a comparé les indices de neutralisation.

Pour l'enquête sérologique, les sérums purs inactivés ont été mis en présence de 50-100 DL<sub>50</sub> de virus pendant 1 h au bain-marie à  $37^{\circ}$  avant l'inoculation de ces mélanges au souriceau. On a considéré comme positif un taux de protection d'au moins 80 %.

## RÉSULTATS

### *Isolements et passages.*

La souche prototype du virus Kédougou a été isolée d'un lot de 67 *A. (A.) minutus* (Theo.) récoltés le 28 juin 1972 dans une galerie située

à 10 km au nord-ouest de Kédougou (12°36'43" de latitude nord, 12°14'55" de longitude ouest).

A l'isolement, un seul souriceau a été trouvé anormal au 13<sup>e</sup> jour suivant l'inoculation. Au passage suivant, certains souriceaux ont présenté une paralysie au 8<sup>e</sup> jour, et dès le 3<sup>e</sup> passage, le temps moyen de survie s'est établi à 5 jours.

#### *Propriétés physiques et chimiques du virus.*

Le virus Kédougou passe bien à travers un filtre de 220 nm, le titre étant de 4,6 log DL<sub>50</sub> avant et de 4,4 après filtration. Il supporte bien la lyophilisation en présence de 10 % de sérum de lapin normal. Il est sensible au chloroforme, avec une baisse de titre de 2,4 log DL<sub>50</sub> après traitement.

#### *Pouvoir pathogène expérimental.*

Le virus Kédougou tue le souriceau nouveau-né en 5 jours par voie cérébrale et en 8 jours par voie péritonéale. Il n'est pas pathogène pour la souris sevrée.

Aucun effet cytopathique n'a été observé sur les différentes cellules étudiées. Le virus ne produit pas de plages sous carboxyméthylcellulose.

#### *Propriétés immunologiques.*

Une hémagglutinine est difficilement et irrégulièrement produite : le titre est faible, et le pH optimal se situe entre 6,0 et 6,2 à la température de 28°.

En fixation du complément, le même antigène a un titre optimal de 1/128 avec une ascite hyperimmune de souris titrant 1/64. Cette réaction, pratiquée à Dakar et à Yale, a permis de montrer que le virus Kédougou est un Flavivirus.

Son antigène réagit à un faible degré avec des liquides immuns préparés contre les virus Usutu, West-Nile, de l'encéphalite de Saint-Louis, de la dengue (types 1, 2 et 3 surtout) et Powassan. Cependant à Yale (Dr R. E. Shope) l'ascite immune préparée contre Ar D14701 a donné des résultats négatifs avec les antigènes suivants : dengue type 1, 2, 3 et 4, Banzi, Ntaya, Spondweni, Uganda S, Usutu, Wesselsbron, West-Nile, fièvre jaune, Zika, Edge Hill, Ilheus, encéphalite japonaise B, Koongol, Kunjin, encéphalite de la vallée de la Murray, encéphalite de Saint-Louis, Kadam, maladie de la Forêt de Kyasanur, Powassan, Bukalasa-bat, Dakar-bat, Entebbe-bat, Jutiapa, Langat et Modoc.

D'après ces résultats, le virus Kédougou apparaît bien comme un nouveau membre des *Flavivirus*.

#### *Autre isolement.*

Une autre souche de virus Kédougou a été isolée en avril 1976, d'un lot de 30 *A. (A.) minutus* capturés en juin 1975 dans la même zone que celle

de la souche prototype. Cette deuxième souche présente les mêmes caractères physicochimiques et le même pouvoir pathogène que ceux de la première souche avec laquelle on observe une réaction croisée totale en fixation du complément et en neutralisation. Elle lui est donc identique.

#### *Enquêtes sérologiques chez l'homme.*

Nous avons recherché dans deux séries de sérums humains les anticorps neutralisants le virus Kédougou. La première série concernait 51 prélèvements effectués dans la région de Kédougou en 1971 avant l'isolement du virus : 3 sérums (6 %) montraient un pouvoir protecteur.

Pour la seconde série, il s'agissait de prélèvements effectués en 1975 dans cette même région, mais après l'isolement du virus. Sur 138 sérums examinés, 33 (24 %) présentaient un pouvoir protecteur.

Il semble donc que l'activité de ce virus dans la population humaine de Kédougou ne soit pas négligeable.

### DISCUSSION

L'authenticité du virus Kédougou ne fait pas de doute puisqu'il s'agit d'une souche nouvelle, retrouvée dans les mêmes conditions à 3 ans d'intervalle.

La zone d'étude où ce virus a été isolé est située à l'extrême Sud-Est du Sénégal, dans la région administrative du Sénégal Oriental. C'est une région de collines et de falaises au relief assez accentué (certaines collines atteignent 500 mètres), contrastant fort avec la vaste plaine basse et monotone qui constitue le reste du Sénégal. Cette région est traversée, du nord au sud, puis d'est en ouest, par une rivière permanente, la Gambie, qui reçoit de très nombreux affluents ; ces affluents cessent de couler à mesure qu'avance la saison sèche mais dans leur lit subsistent des mares qui entretiennent sur leur pourtour une végétation assez dense. Cette région appartient au domaine phytogéographique soudano-guinéen ; elle comprend de belles forêts sèches, des galeries forestières étroites, mais nombreuses, et des savanes boisées [8]. La saison des pluies dure cinq à six mois, de mai à octobre. La moyenne annuelle de pluviométrie est de 1 267 mm ; pour l'année 1972, le chiffre atteint n'a été que de 972 mm. La température annuelle moyenne est de 28°7.

Le moustique *A. (A.) minutus* (Theobald, 1901) est moyennement abondant dans la région de Kédougou, où il représente 4,3 % des espèces de *Aedes* capturées. Comme la majorité des *Aedes*, il n'est capturé qu'en saison des pluies, avec 2 pics d'activité : un en juin et un en octobre, en début et en fin de saison pluvieuse. Il n'a été trouvé que dans les galeries forestières et seulement au niveau du sol, où mâles et femelles sont facilement capturés au filet à la main, dans la végétation basse. Aucune larve n'a été récoltée dans les types de gîtes prospectés : trous d'arbres, cosses de fruits, trous de rochers.

Ce moustique se montre agressif pour l'homme en début de saison des pluies (juin), avec un pic crépusculaire net. Par contre, en fin de saison des pluies il n'attaque plus l'homme, mais il est encore abondant dans la végétation basse. Tous les mâles capturés présentent le style caractéristique de l'espèce ; cependant, il n'est pas impossible qu'il y ait deux espèces indifférenciables morphologiquement, mais biologiquement distinctes.

Peu de virus ont été isolés à partir de *A. (A.) minutus*. Au Sénégal, nous avons isolé une souche de virus Ndumu et une souche de virus Wesselsbron. En dehors de ces isollements, nous n'avons retrouvé qu'une seule mention d'isolement d'un virus Wesselsbron à partir de *A. (A.) minutus* récoltés au Tongaland en Afrique du Sud [9].

Ce qui est remarquable dans nos isollements du virus Kédougou, c'est qu'ils l'ont été à partir de moustiques capturés au mois de juin, en tout début de la saison des pluies.

L'étude des anticorps neutralisants dans la population humaine a montré que ce virus était relativement actif dans la région du Sénégal Oriental. D'autres enquêtes seront nécessaires pour en préciser la distribution exacte.

### RÉSUMÉ

Un nouveau prototype d'arbovirus, le virus Kédougou (Ar D14701) a été isolé en 1972 à Kédougou, au Sénégal Oriental à partir d'un lot de *Aedes (Aedimorphus) minutus* capturés au mois de juin. Une autre souche a été isolée en 1975, du même moustique, capturé au même moment de l'année.

Les études immunologiques montrent que ce virus est un membre du genre *Flavivirus* (Arbovirus du groupe B), mais qu'il peut être facilement différencié de tous les autres membres de ce groupe auxquels il a été comparé.

La recherche d'anticorps dans les sérums humains a permis de montrer une certaine activité de ce virus chez l'homme.

**MOTS-CLÉS :** Arbovirus, *Flavivirus*, Virus Kédougou ; Moustique, Afrique.

### REMERCIEMENTS

Nous remercions le Docteur R. E. Shope, Directeur, Yale Arbovirus Research Unit, New Haven, USA, pour son aide dans l'identification de ce virus.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRANDT, W. E., BOESCHER, E. L. & HETRICK, F., Production and characterization of arbovirus antibody in mouse ascitic fluid. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1967, 16, 339-347.

- [2] BRES, P. & BOIRON, M., Enquête sérologique pour les arbovirus au Sénégal Oriental. *Bull. Soc. méd. Afr. Noire Langue franç.*, 1965, 10, 412-413.
- [3] CASEY, H. L., Standardized diagnostic complement fixation method and adaptation to microtest. Public Health Monograph n° 74, US Government Printing Office, Washington.
- [4] CLARKE, D. H. & CASALS, J., Techniques for hemagglutination and hemagglutination inhibition with arthropod borne viruses. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1958, 7, 561-573.
- [5] CORNET, M., ROBIN, Y., HANNOUN, C., CORNIOU, B., BRES, P. & CAUSSE, G., Une épidémie de fièvre jaune au Sénégal en 1965. Recherches épidémiologiques. *Bull. Org. mond. Santé*, 1968, 39, 845-858.
- [6] FELDMANN, H. A. & WANG, S. S., Sensitivity of various viruses to chloroform. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 1961, 106, 736-738.
- [7] LE GONIDEC, G. & DHIVER, F., Le virus de la fièvre jaune et autres arbovirus dans le Sénégal Oriental. Études des sérums humains. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1973, 66, 603-615.
- [8] TAUFFLIEB, R., CORNET, M., LE GONIDEC, G. & ROBIN, Y., Un foyer selvatique de fièvre jaune au Sénégal Oriental. *Cahier ORSTOM (Sér. Ent. Méd. Parasit.)*, 1973, XI, 211-220.
- [9] WORTH, C. B., PATERSON, H. E. & DE MEILLON, B., The incidence of arthropod-borne viruses in a population of culicine mosquitoes in Tongaland, Union of South Africa (January 1956 through April 1960). *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1961, 10, 583-592.