

La transmission verticale du virus amaril et ses conséquences

Vertical transmission of yellow fever virus and its consequences

D. Fontenille¹, M. Diallo², J. Thonnon³

In 1903, a few years after the discovery of the transmission of yellow fever, Marchoux and Simond demonstrated experimentally that the yellow fever virus could be transmitted from an infected female *Aedes aegypti* mosquito to her offspring.

In spite of numerous attempts, it was not until 1979 that Aitken confirmed these experimental results. It also has been demonstrated experimentally that both *Ae. mascarensis* and *Haemagogus equinus* females can transmit the virus to their offspring. Isolation of the virus from *Ae. furcifer-taylori* males that had been captured in 1977 in Senegal suggested that this transmission occurred in nature, but it was not until 1995 that vertical transmission within wild *Ae. aegypti*, the mosquitoes responsible for the urban transmission, was observed.

Vertical transmission in nature of the yellow fever virus has two important epidemiologic consequences :

■ the virus may maintain itself from one rainy season to the next, in the resting eggs of *Aedes* (*Ae. aegypti* for urban cycles, *Aedes furcifer*, *Ae. taylori*, *Ae. luteocephalus* for sylvatic cycles in West Africa). Such was the case in Senegal, where the yellow fever virus remained in the epidemic region of Koungheul in 1995, only to reappear the following year as the cause of an epidemic in a neighbouring zone, Kaffrine, where there had not been a vaccination campaign. Furthermore, the virus is re-isolated frequently in the forests of western Senegal, in the years following an epizootic outbreak among monkeys.

■ The *Aedes* females contaminated by vertical transmission are infective much earlier, after their first blood meal a few days after hatching, without awaiting the completion of the classic extrinsic viral cycle of from 8 to 12 days that follows engorgement on a viremic host. The number of infected blood-meals and the proportion of females liable to transmit are likewise increased. In this way, vertical transmission favours the amplification of an epidemic.

Introduction

La transmission des arbovirus, et du virus de la fièvre jaune en particulier, se fait généralement sur un mode dit horizontal. Un arthropode hématophage, moustique, phlébotome, culicoidé ou tique, se gorge sur un hôte vertébré virémique. Le virus réalise son cycle extrinsèque chez l'arthropode et contamine ses glandes salivaires. Ce cycle est d'une durée variable, souvent de 8 à 12 jours, selon le virus, l'arthropode et la température extérieure. Si l'arthropode se gorge sur un nouvel hôte, celui-ci sera contaminé par le virus et pourra à son tour développer une virémie. En ce qui concerne la fièvre jaune, la transmission horizontale se réalise à travers des cycles entre des singes et des moustiques des genres *Aedes* en Afrique et *Haemagogus* et *Sabethes* en Amérique tropicale. Les hommes peuvent se contaminer au contact des moustiques forestiers ou lors d'épidémie de type intermédiaire ou urbaine. Dans ces derniers cas le vecteur majeur est *Aedes aegypti*, fortement associé à l'environnement humain (1).

Un autre mode de transmission, dit vertical, a également été mis en évidence chez les arbovirus (2). Le virus est transmis par un arthropode femelle à sa descendance. Le virus, pour être retransmis, n'a alors pas besoin de réaliser son classique cycle extrinsèque. Les descendants étant contaminés à la naissance ils peuvent retransmettre le virus sans s'être préalablement gorgés eux-mêmes sur un vertébré virémique.

Les données historiques

La question de la transmission du virus de la fièvre jaune d'une femelle de moustique infectée à sa descendance a été posée il y a près d'un siècle, depuis la découverte des mécanismes de la transmission du virus par Reed en 1901 (3) suite aux observations de Finlay.

Dès 1903, Marchoux et Simond (4) démontraient expérimentalement que le virus amaril pouvait être transmis d'une femelle d'*Aedes aegypti* infectée à sa descendance. Malgré de nombreuses tentatives, cette observation ne fut pas répétée (5;6). Il fallut attendre 1979 pour que Aitken et coll. (7) confirment ces résultats expérimentaux. Nous mêmes avons également réalisé cette transmission verticale expérimentale (Diallo et al., données non publiées)

Il a également été démontré expérimentalement que des femelles *Aedes mascarensis* (8) et *Haemagogus equinus* (9) pouvaient transmettre le virus à leur descendance.

L'isolement de 3 souches du virus de la fièvre jaune de mâles *Aedes furcifer-taylori* capturés en octobre et novembre 1977 par Cornet et coll. au Sénégal (10), suggérait que cette transmission se produisait également dans la nature. Les mâles n'étant pas hématophages, il était très probable qu'ils étaient déjà contaminés à la naissance. Ces moustiques sont les vecteurs sylvatiques

1. Laboratoire ORSTOM de zoologie médicale, Institut Pasteur, Dakar, Sénégal. (Actuellement OCFAC, Yaoundé, Cameroun.)

2. Laboratoire ORSTOM de zoologie médicale, Institut Pasteur, Dakar, Sénégal.

3. Laboratoire d'arbovirologie, Institut Pasteur, Dakar, Sénégal.

Fonds Documentaire ORSTOM



010019371

majeurs de la fièvre jaune au singe en Afrique de l'Ouest. Les femelles piquent volontiers les hommes dans les villages en bordure de forêts et forêts galeries. Cette observation a été renouvelée en novembre 1996 : une souche a été isolée de mâles *Aedes furcifer* capturés également à Kédougou (Fontenille et al., données non publiées).

Une observation, jamais renouvelée, mérite d'être signalée : deux souches de fièvre jaune avaient été isolées d'un mâle et d'un oeuf de tiques *Amblyomma variegatum* en Centrafrique (11). L'importance épidémiologique de cette observation reste à confirmer.

Alors qu'*Aedes aegypti* est le vecteur majeur durant les épidémies de type intermédiaire et urbain, la transmission verticale n'avait jamais été observée dans la nature chez cette espèce, contrairement aux virus de la dengue 2, dengue 3 et dengue 4 (12-14). L'isolement du virus de mâles et d'adultes émergents *Aedes aegypti* capturés au Sénégal en 1995 apportent pour la première fois la preuve que ce mode de transmission existe bien dans la nature chez cette espèce.

Les données récentes de l'épidémie du Sénégal en 1995

Ce n'est qu'en 1995 que la transmission verticale du virus fièvre jaune fut observée dans la nature chez *Aedes aegypti*, vecteur responsable des anciennes grandes épidémies urbaines en Afrique de l'Ouest et aux Amériques. Ces observations furent réalisées au cours d'une épidémie en savane soudanienne au Sénégal (15). Cette épidémie a tué au moins 46 personnes parmi une population estimée à 9000 habitants. Elle a été rapidement maîtrisée grâce à la mise en place d'une campagne de vaccination par le Ministère Sénégalais de la Santé (16). Au cours de cette épidémie, le vecteur majeur a été *Aedes aegypti*, dont les gîtes de pontes préférés dans cette zone de savane sont les canaris et les fûts.

Les moustiques ont été capturés sur hommes volontaires immunisés contre la fièvre jaune ainsi qu'à l'aide de pièges lumineux. Ils ont été triés par espèce et sexe sur le terrain et conservés dans de l'azote liquide. Les gîtes larvaires ont été prospectés. Les larves et les nymphes collectées sur le terrain ont été mises en insectarium. Les individus de chaque site ont été élevés séparément. Les adultes émergents ont été triés par espèce et par sexe 12 à 48 heures après l'émergence, et conservés à -70°C. Afin de contrôler le risque de contamination lors de l'isolement du virus, les lots constitués ont été traités en aveugle. Certains lots traités étaient constitués de moustiques non vecteurs tels que des *Anopheles* ou des *Culex*. Les tentatives d'isolements, à partir des lots de moustiques broyés, ont été réalisés sur lignées de cultures cellulaires de moustiques *Aedes pseudocattellaris* (AP 61) et sur souriceaux nouveaux-nés. L'identification du virus a été faite à partir d'ascites immunes contre la fièvre jaune et d'anticorps monoclonaux. Le taux minimum d'infection (minimum infection rate : MIR) qui est le pourcentage minimum de moustiques infectés et le taux «réel» d'infection (true infection rate : TIR), qui est une estimation du pourcentage réel d'infection calculée selon une procédure du maximum de vraisemblance développée par Walter et al. (17).

Le tableau présente la liste des espèces, le nombre de moustiques inoculés selon la méthode de capture, le nombre de lots, le nombre de souches de fièvre jaune isolées, les MIR et les TIR.

Au total 1125 moustiques (171 lots) appartenant à 22 espèces ont été inoculés, dont 699 *Aedes aegypti* (94 lots) représenté par sa forme domestique *Aedes aegypti aegypti*. Vingt huit souches de fièvre jaune ont été isolées au total, dont 24 d'*Aedes aegypti*. Parmi ces 24 souches, 7 démontrent une transmission verticale du virus. Quatre souches ont été obtenues de mâles capturés adultes alors qu'ils volaient autour des captureurs et trois souches ont été obtenues d'adultes qui venaient d'émerger des stades pré-imaginaux récoltés sur le terrain (deux de femelles et une de mâles). Afin de confirmer la validité de ces isolements, 74 lots ont été retestés. Les 13 souches isolées de ces lots, y compris celles de mâles et de néonates, ont été retrouvées dans la suspension d'origine.

Le TIR des *Aedes aegypti* femelles capturés sur le terrain était de 8,2 % (intervalle de confiance : 2,0), et celui des mâles de 31,4 % (IC : 15,7). Cette différence était significative ($p < 0,0001$). Le TIR des *Aedes aegypti* femelles issues des larves était de 1,4 % (IC : 0,9), et celui des mâles issus des larves de 0,5 % (IC : 0,5). Cette différence n'était pas significative. Les TIR des adultes capturés sur le terrain étaient significativement plus élevés que ceux des adultes émergents ($p < 0,0001$ et $p < 0,01$ respectivement pour les mâles et les femelles). Cette différence est très probablement due à la cinétique de la répllication du virus chez les néonates. Le titre viral augmente avec l'âge des adultes, comme le montrent nos expérimentations en cours (Diallo et al., données non publiées). Il est donc logique d'observer un TIR plus élevé chez les moustiques capturés adultes sur le terrain que chez les néonates.

Au vue des nombreuses souches isolées, on doit naturellement se poser la question de la validité des résultats. De nombreux contrôles ont été effectués, incluant des lots de *Culex*, *Mansonia* et *Anopheles*, ainsi que des lots de moustiques d'autres régions. Aucune souche virale n'a été obtenue de lots de moustiques autres que les vecteurs connus de fièvre jaune. Les techniciens ont travaillé en aveugle, ne connaissant pas la nature des lots. Les sérums humains positifs n'ont pas été traités en même temps. Les réisolements ont été obtenus. Ainsi nous avons eu la conviction que tous les isolements obtenus étaient valides. Si nous avons obtenu ces résultats, près d'un siècle après les observations de Marchoux et Simon (4), c'est en partie parce que nous avons pu intervenir très rapidement, durant l'épidémie, et que des méthodes très sensibles d'isolement de virus ont été utilisées. Dans le passé les études étaient souvent tardives (18) et les méthodes, l'inoculation aux souriceaux, beaucoup moins sensibles (2).

Les conséquences épidémiologiques de la transmission verticale du virus amaril

La transmission verticale naturelle du virus de la fièvre jaune a deux importantes conséquences épidémiologiques :

- Les femelles *Aedes* contaminées par voie verticale sont probablement infectantes beaucoup plus tôt, dès leurs premiers repas sanguins quelques jours après l'émergence, sans attendre la réalisation d'un classique cycle viral extrinsèque de 8 à 12 jours après un repas de sang sur un hôte virémique. Le nombre de repas infestants et la proportion de femelles aptes à transmettre sont ainsi augmentés. La transmission verticale favorise alors l'amplification de l'épidémie en s'ajoutant à la classique transmission horizontale durant laquelle seules les «vieilles

femelles» transmettent la fièvre jaune à l'issue de la réalisation du cycle extrinsèque du virus.

■ Le virus peut se maintenir d'une saison des pluies à la suivante, dans les œufs quiescents *Aedes* (œufs *Aedes aegypti* pondus dans de vieux pneus, de vieux récipients abandonnés pour les cycles domestiques, œufs *Aedes furcifer* pondus dans des creux d'arbres, pour les cycles sylvatiques d'Afrique de l'Ouest). C'est ainsi qu'en l'absence de vaccination sur une région débordant largement une zone épidémique, le virus peut resurgir l'année suivante dans une région voisine et provoquer une nouvelle épidémie s'il n'y a pas eu de campagne de vaccination. C'est exactement ce qui s'est passé en 1996 au Sénégal. Suite à l'épidémie de 1995, seule la zone de Kounghoul, où des cas avaient été diagnostiqués, a été vaccinée. En 1996 une nouvelle épidémie s'est déclarée dans une zone contiguë, dans le district de Kaffrine, où il n'y avait pas eu de campagne de vaccination. Il est très probable que le virus s'était conservé dans la région dans les œufs asséchés *Aedes aegypti* jusqu'à leur mise en eau au cours de la saison des pluies 1996

Références bibliographiques :

1. Monath T. P. Yellow fever. In: The arboviruses : epidemiology and ecology. Monath T. P. (editor). Boca Raton, FL, USA. 1989. CRC Press, vol 5, pp. 139-231.
2. Rosen L. Transmission transovarienne des arbovirus par les moustiques. Médecine Tropicale. 1981; 41: 23-29.
3. Reed W. Propagation of yellow fever: observation based on recent researches. Medical Record. 1901; 60: 201-209.
4. Marchoux E. & Simond P. L. La transmission héréditaire du virus de la fièvre jaune chez le *Stegomyia fasciata*. Compte Rendus de la Société de Biologie, Paris. 1905; 59: 259-260.
5. Roseneau M. J. & Goldberger J. Hereditary transmission of the yellow fever parasite in the mosquito. Bulletin of the Yellow Fever Institute, Washington. 1906; 15: 105-113.
6. Whitman L. & Antunes P. C. A. Studies on *Aedes aegypti* infected in the larval stage with the virus of Yellow fever. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. 1938; 37: 664-666.
7. Aitken T. H. G. et al. Transovarial transmission of yellow fever virus by mosquitoes (*Aedes aegypti*). American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1979; 28: 119-121.
8. Beaty B. J., Tesh R. B. & Aitken T. H. G. Transovarial transmission of yellow fever virus in *Stegomyia* mosquitoes. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1980; 29: 125-132.
9. Dutary B. E. & Le Duc J. W. Transovarial transmission of yellow fever virus by a sylvatic vector, *Haemagogus equinus*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1981; 75: 128.
10. Cornet M. et al. Une poussée épizootique de fièvre jaune sylvatique au Sénégal Oriental. Isolement du virus de lots de moustiques adultes mâles et femelles. Médecine et Maladies Infectieuses. 1979; 9: 63-66.
11. Germain M. et al. Isolement du virus de la fièvre jaune à partir de la ponte et de larves d'une tique *Amblyomma variegatum*. Compte Rendus de l'Académie des Sciences (D) (Paris). 1979; 289: 635-637.
12. Khin M. M. & Than K. A. Transovarial transmission of dengue 2 virus by *Aedes aegypti* in nature. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1983; 32: 590-594.
13. Hull B. et al. Natural transovarial transmission of dengue 4 virus in *Aedes aegypti* in Trinidad. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1984; 33: 1248-1250.
14. Joshi V., Singhi M. & Chaudhary R. C. Transovarial transmission of dengue 3 virus by *Aedes aegypti*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1997; 90: 643-644.
15. Fontenille D. et al. First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in *Aedes aegypti*, its epidemic vector. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1997; 91: 533-535.
16. Thonnon J. et al. Re-emergence of yellow fever in Senegal in 1995. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1998; 59: 108-114.
17. Walter S. D., Hildreth S. W. & Beaty B. J. Estimation of infection rates in populations of organisms using pools of variable size. American Journal of Epidemiology. 1980; 112: 124-128.
18. Aitken T. H. G. Yellow fever: evolution of ideas concerned with demonstrating the natural occurrence of transovarial transmission of virus in mosquitoes. Bulletin of the Society of Vector Ecology. 1988; 13: 85-96.

Tableau : Espèces, nombre de moustique capturés (nombre de souches de fièvre jaune isolées : nombre de lots constitués), taux d'infection, selon la méthode de capture. Kounghoul 1995.

Méthodes de captures des moustiques	captures sur homme			pièges lumineux		adultes néonates		Nb total de moustiques	Nb total de souches isolées
	Nb	MIR	TIR	Nb	Nb	MIR	TIR		
<i>Aedes aegypti</i> femelle (Déviation standard)	312 (17/31)	5.44 (1.72)	8.17 (1.98)	0	165 (2/30)	1.33 (0.97)	1.37 (0.97)	477	19
<i>Aedes aegypti</i> mâle (Déviation standard)	33 (4/6)	11.76 (8.87)	31.42 (15.69)	0	189 (1/27)	0.52 (0.52)	0.52 (0.52)	222	5
<i>Aedes furcifer</i> femelle (Déviation standard)	19 (2/10)	10.53 (8.13)	10.53 (7.67)	0	0			19	2
<i>Aedes furcifer</i> mâle	2 (0/1)			0	0				2
<i>Aedes luteocephalus</i> femelle	1 (1/1)			0	0			1	1
<i>Aedes metallicus</i> femelle	1 (1/1)			0	0			1	1
<i>Aedes vittatus</i> mâle	5 (0/1)			0	0				5
<i>Aedes fowleri</i> femelle	0			1 (0/1)	0				1
<i>Aedes sudanensis</i> femelle	0			1 (0/1)	0				1
<i>Aedes vexans</i> femelle	0			3 (0/1)	0				3
autres <i>Culicidae</i>	150 (0/23)			209 (0/28)	34 (0/9)			393	
Total	523 (25/74)			214 (0/31)	388 (3/66)			1125	

MIR : "minimum infection rate" : taux minimum d'infection : nombre minimum de moustiques positifs pour 100 moustiques testés.

TIR : "true infection rate" : nombre estimé de moustiques positifs pour 100 moustiques testés, d'après Walter et al. (1980).



SÉMINAIRE INTERNATIONAL SUR LA FIÈVRE JAUNE EN AFRIQUE

INTERNATIONAL SEMINAR ON YELLOW FEVER IN AFRICA

DAKAR - SÉNÉGAL
25-27 JUIN 1998

ACTES
PROCEEDINGS

COLLECTION FONDATION MARCEL MERIEUX