

**Dengue 2 au Sénégal oriental :
une poussée épizootique
en milieu selvatique ;
isolements du virus
à partir de moustiques
et d'un singe
et considérations épidémiologiques ⁽¹⁾**

Michel CORNET ⁽²⁾, Jean-François SALUZZO ⁽³⁾,
Jean-Paul HERVY ⁽²⁾, Jean-Pierre DIGOUTTE ⁽³⁾,
Max GERMAIN ⁽²⁾, Marie-France CHAUVANCY ⁽³⁾,
Marcel EYRAUD ⁽²⁾, Léo FERRARA ⁽²⁾,
Geneviève HÈME ⁽³⁾, Fabrice LEGROS ⁽²⁾

Résumé

Une importante poussée selvatique provoquée par le virus dengue 2 a été observée au Sénégal oriental en 1981-1982, au même emplacement que la poussée due au virus amaril en 1976-1978. De nombreuses souches de virus ont été isolées : 213 à partir de moustiques femelles, une de moustiques mâles et une du sang d'un singe. Cette épizootie a présenté de nombreuses particularités communes avec celle due au virus amaril : mêmes vecteurs, mêmes hôtes vertébrés, mais la dynamique de la poussée a été sensiblement différente, caractérisée par sa brutalité et le haut niveau de virus en circulation. Le problème de la transmission transovarienne dans la nature est discuté en fonction des isolements de virus obtenus de moustiques mâles. La question est posée quant à l'origine du virus. Le retentissement de cette épizootie sera exposé dans une note ultérieure.

Mots-clés : Dengue 2 — Épidémiologie — Techniques — *Aedes* — Singes — Transmission transovarienne — Afrique.

Summary

DENGUE 2 IN EASTERN SENEGAL : AN EPIZOOTIC ON SELVATIC BACKGROUND ; VIRUS ISOLATIONS FROM MOSQUITOES AND A MONKEY AND EPIDEMIOLOGICAL NOTES. *An important epizootic caused by dengue 2 virus was observed in eastern Senegal in 1981-1982, at the same location as the yellow fever epizootic of 1976-1978. Many virus strains were isolated : 213 from female mosquitoes, one from male mosquitoes and one from a monkey. This epizootic was similar in many features to that of yellow fever : same vectors, same vertebrate hosts, but the dynamics of the epizootic were somewhat different, characterized by its abruptness and the high level of virus circulation. The*

(1) Travail réalisé par l'Institut Français de Recherches pour le Développement en Coopération (O.R.S.T.O.M.), Centre de Dakar et l'Institut Pasteur de Dakar ; il a en outre bénéficié d'une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.

(2) Entomologiste médical, Centre O.R.S.T.O.M. de Dakar, B.P. 1386, Dakar, Sénégal.

(3) Institut Pasteur de Dakar, B.P. 220, Dakar, Sénégal.

problem of transovarial transmission is discussed on the basis of virus isolations from male mosquitoes and a question is raised as to the origin of the virus. The human repercussion of this epizootic will be discussed in another paper.

Key words : Dengue 2 — Epidemiology — Technics — *Aedes* — Monkeys — Transovarial transmission — Africa.

Introduction

La dengue 2 n'est connue avec certitude en Afrique que depuis le premier isolement du virus réalisé au Nigeria en 1964 à partir du sang d'un malade (Carey *et al.*, 1971) ; de 1964 à 1970, 29 souches de virus ont été isolées dans le même pays, alors qu'une souche était obtenue d'*Aedes aegypti* (Linné) en milieu urbain et une autre d'un lot d'*Aedes (Stegomyia)* spp. en milieu rural (Carey *et al.*, 1971 ; Moore *et al.*, 1975) ; parallèlement des enquêtes sérologiques dans la population humaine et chez les singes tendaient à montrer l'existence d'une circulation selvatique de ce virus (Monath *et al.*, 1974 ; Fagbami *et al.*, 1977).

Jusqu'en 1980, deux souches seulement ont été isolées en Afrique de l'Ouest en dehors du Nigeria, au Sénégal ; une souche humaine dans l'ouest du pays en 1970 et une souche d'*Aedes luteocephalus* (Newst.) capturés au Sénégal oriental en 1974, en dehors de tout habitat humain (Robin *et al.*, 1980). En 1980 une intense circulation selvatique a été mise en évidence en Haute-Volta et en Côte d'Ivoire où 96 souches virales étaient isolées de moustiques sauvages (Roche *et al.*, 1983 ; Cordellier *et al.*, 1983 ; Hervy *et al.*, 1984). Dans les autres pays d'Afrique le virus dengue 2 est connu des îles Seychelles où il a occasionné une importante épidémie entre 1976 et 1978 (Metselaar *et al.*, 1980), de l'île de la Réunion (Coulanges *et al.*, 1979) et plus récemment du Kenya et de la Somalie (Johnsou *et al.*, 1982). L'existence d'une circulation selvatique du virus, fortement soupçonnée au Nigeria, prouvée au Sénégal, en Haute-Volta et en Côte d'Ivoire, n'avait jusqu'en 1980 été mise en évidence qu'en Malaisie (Knudsen, 1977 ; Rudnick, 1978).

Nous décrivons l'isolement de 215 souches de virus dengue 2, obtenues à partir de moustiques sauvages et, pour la première fois dans la nature, d'un singe en liberté. Une note ultérieure relatera les observations recueillies en cours des enquêtes effectuées dans la population humaine (Saluzzo *et al.*, en préparation).

Zone d'étude, techniques et méthodes

1. LA ZONE D'ÉTUDE

Elle est la même que celle où avait été étudiée la poussée épizootique due au virus amaril en 1976-1978 et a été décrite dans plusieurs notes sur l'épidémiologie de ce virus, notes auxquelles nous renvoyons le lecteur (Taufflieb *et al.*, 1973 ; Cornet *et al.*, 1978). La figure 1 indique la pluviométrie des années 1981 et 1982.

2. CAPTURE ET TRAITEMENT DES MOUSTIQUES

Les moustiques ont été capturés par des captureurs volontaires, travaillant de 17 h 30 à 20 h 30, période d'activité maximale des espèces vectrices potentielles. Chaque capture était effectuée par 12 hommes, six placés au niveau du sol en lisière de galerie forestière et six répartis sur deux plateformes construites à l'intérieur de la galerie, au niveau des basses branches des arbres (6 à 10 m au-dessus du niveau du sol). Quatre captures ont ainsi été faites chaque mois dans chacune des trois galeries choisies, les mêmes que celles utilisées pour l'étude du virus amaril (Cornet *et al.*, 1979b). Les moustiques capturés en tubes individuels ont été regroupés selon la galerie et selon l'altitude et acheminés vers le laboratoire dans une bonbonne d'azote liquide.

Au laboratoire les moustiques ont été triés en lots monospécifiques sur une table réfrigérante (Sudia *et al.*, 1965). Les deux espèces d'*Aedes* du sous-genre *Diceromyia*, *Ae. furcifer* (Edw.) et *Ae. taylori* Edw., ont été séparées en utilisant les caractères mentionnés par Ferrara *et al.* (1984).

Les broyats ont été préparés selon une technique déjà décrite (Cornet *et al.*, 1977) ; seuls les broyats destinés à l'inoculation aux *Toxorhynchites* ont été centrifugés à 3 000 tours/minute pendant cinq minutes.

Les espèces d'*Aedes* des sous-genres *Stegomyia* et *Diceromyia*, les espèces du genre *Eretmapodites* et les mâles de toutes les espèces ont été inoculés par lots de 30 environ dans le thorax de sept *Toxo-*

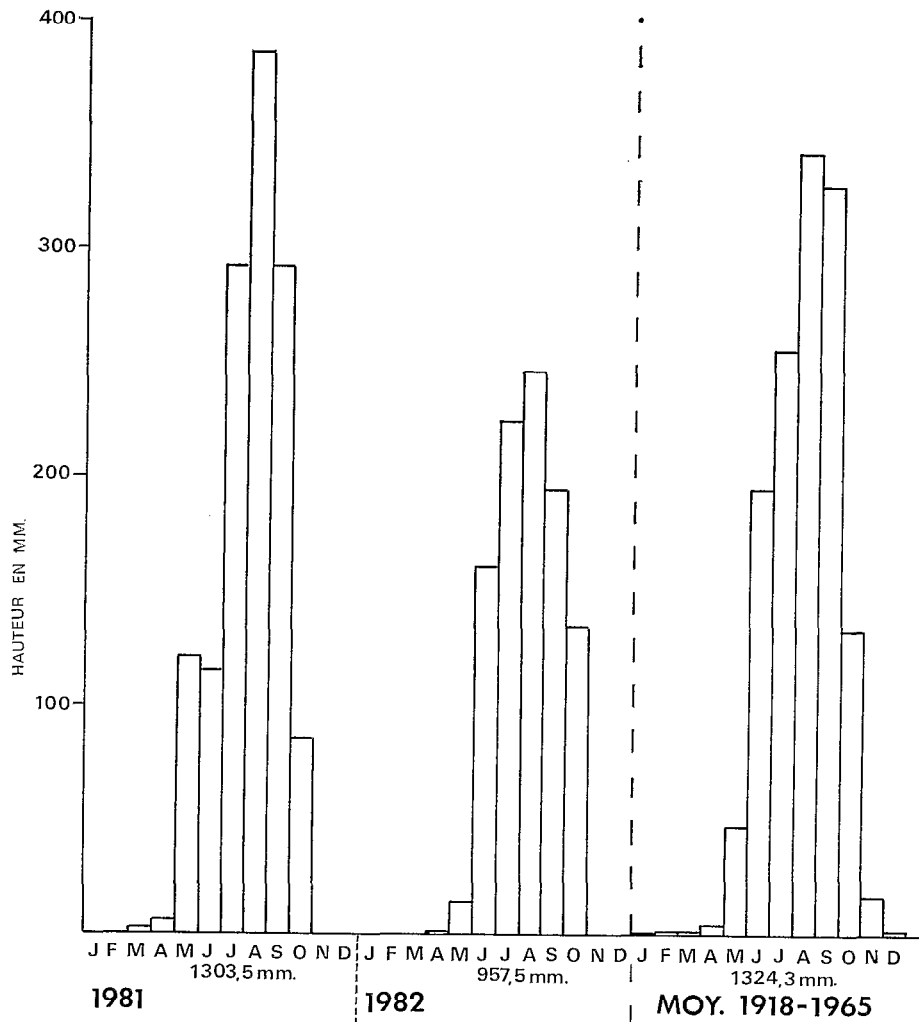


FIG. 1. — Pluviométrie en 1981 et 1982 et pluviométrie moyenne des années 1918-1965 (données de la station A.S.E.C.N.A. de Kédougou)

rhynchites brevipalpis ssp. *conradti* selon une technique dérivée de celle de Rosen et Gubler (1974) ; après 14 jours d'incubation à 29-30°C et 80-85 % d'humidité relative, les têtes de trois *Toxorhynchites* par lot ont été prélevées et écrasées entre deux lames ; les deux séries de lames ainsi obtenues ont alors été testées en réaction d'immunofluorescence indirecte, l'une avec une ascite anti-amarile, l'autre avec une ascite anti-dengue polyvalente. Les corps des *Toxorhynchites* trouvés négatifs ont été broyés et inoculés par voie intracérébrale à une portée de sou-

riceaux nouveau-nés pour y détecter d'autres virus.

Les autres espèces de moustiques, de moindre intérêt, ont été inoculées directement au souriceau nouveau-né, à la dose de 0,2 ml de broyat non centrifugé par souriceau ; l'observation a été prolongée pendant trois semaines ; dès l'apparition de symptômes suspects de paralysie, les cerveaux des souriceaux malades ont été prélevés et inoculés à une nouvelle portée. Toutefois quelques lots d'*Aedes* (*Aedimorphus*) *vittatus* (Bigot) et *Ae.* (*Aed.*) *dalzielii* (Theo.) ont été inoculés au *Toxorhynchites*.

TABLEAU I

Inoculations réalisées en 1981 et 1982 (dans chaque colonne le premier chiffre indique le nombre de spécimens, le second le nombre de lots et le troisième le nombre de lots positifs pour le virus dengue 2 ; le signe ° indique les inoculations faites sur *Toxorhynchites* ; les autres ont été faites sur souriceau nouveau-né)

I. MOUSTIQUES FEMELLES:	1981	1982	Total
<u>Aedes (Diceromyia)</u> °	10177/ 355/125	13536/ 358/ 0	23713/ 713/125
<u>furcifer</u> °	7376/ 251/ 88	10169/ 262/ 0	17545/ 513/ 88
<u>taylori</u> °	2801/ 104/ 37	3367/ 96/ 0	6168/ 200/ 37
<u>Aedes (Stegomyia)</u> °	6638/ 271/ 87	9287/ 308/ 1	15925/ 579/ 88
<u>aegypti</u> °	246/ 20/ 0	1312/ 54/ 0	1558/ 74/ 0
<u>unilineatus</u> °	32/ 5/ 0	31/ 13/ 0	63/ 18/ 0
<u>metallicus</u> °	112/ 12/ 0	48/ 12/ 0	160/ 24/ 0
<u>africanus</u> °	7/ 3/ 0	83/ 9/ 0	90/ 12/ 0
<u>neoafricanus</u> °	44/ 7/ 0	25/ 8/ 0	69/ 15/ 0
<u>opok</u> °	3/ 2/ 0	1/ 1/ 0	4/ 3/ 0
<u>luteocephalus</u> °	6184/ 215/ 87	7783/ 207/ 1	13967/ 422/ 88
<u>apicoargenteus</u> °	2/ 1/ 0	2/ 2/ 0	4/ 3/ 0
<u>cozi</u> °	8/ 6/ 0	2/ 2/ 0	10/ 8/ 0
<u>Aedes (Aedimorphus) spp.</u>	6405/ 239/ 0	11523/ 407/ 0	17928/ 646/ 0
Autres <u>Aedes</u>	21/ 4/ 0		21/ 4/ 0
<u>Eretmapodites spp.</u> °	51/ 4/ 0	35/ 6/ 0	86/ 10/ 0
<u>Mansonia spp.</u>	244/ 11/ 0	348/ 15/ 0	592/ 26/ 0
<u>Culex spp.</u>	60/ 9/ 0	103/ 16/ 0	163/ 25/ 0
<u>Anopheles spp.</u>	1768/ 73/ 0	1114/ 49/ 0	2882/ 122/ 0
Total femelles	25364/ 966/212	35946/1159/ 1	61310/2155/213
II. MOUSTIQUES MALES:			
<u>Aedes (Diceromyia)</u> °	515/ 39/ 1	809/ 41/ 0	1324/ 80/ 1
<u>furcifer</u> °	94/ 17/ 0	270/ 20/ 0	364/ 37/ 0
<u>taylori</u> °	421/ 22/ 1	539/ 21/ 0	960/ 43/ 1
<u>Aedes (Stegomyia)</u> °	5/ 3/ 0	56/ 11/ 0	61/ 14/ 0
<u>aegypti</u> °	4/ 2/ 0	52/ 9/ 0	56/ 11/ 0
<u>unilineatus</u> °	1/ 1/ 0	4/ 2/ 0	5/ 3/ 0
<u>Aedes (Aedimorphus) spp.</u> °	91/ 10/ 0	739/ 26/ 0	830/ 36/ 0
<u>Eretmapodites spp.</u> °		6/ 2/ 0	6/ 2/ 0
<u>Culex spp.</u> °		26/ 8/ 0	26/ 8/ 0
<u>Uranotaenia sp.</u> °		2/ 1/ 0	2/ 1/ 0
Total mâles	611/ 52/ 1	1638/ 89/ 0	2249/ 141/ 1
III. SINGES:			
<u>Erythrocebus patas</u> °	64/ 64/ 1	35/ 35/ 0	99/ 99/ 1
<u>Cercopithecus aethiops</u> °	46/ 46/ 0	58/ 58/ 0	104/ 104/ 0
<u>Papio papio</u> °	33/ 33/ 0	14/ 14/ 0	47/ 47/ 0
Total singes	143/ 143/ 1	107/ 107/ 0	250/ 250/ 1
Total des inoculations			
sur <u>Toxorhynchites</u>	17620/ 825/214	24603/ 868/ 1	42223/1693/215
sur souriceau	8498/ 336/ 0	13088/ 487/ 0	21586/ 823/ 0
Total général	26118/1161/214	37691/1355/ 1	63809/2516/215

3. CAPTURE ET TRAITEMENT DES SINGES

Les singes ont été abattus au fusil ; leur abondance au Sénégal oriental est telle que les prélèvements effectués dans la population (moins de 1 %) ne peuvent avoir qu'un effet mineur sur l'écologie de la région.

Sitôt le singe abattu, il a été effectué un prélèvement de sang, de foie et de rein ; ramenés à la base dans la glace, ces prélèvements ont été acheminés vers le laboratoire dans l'azote liquide. Les organes additionnés d'1 ml de sang total, ont été broyés dans 3 ml de tampon phosphaté ; après centrifugation la suspension obtenue a été diluée au 1/40 puis inoculée à des lots de sept *Toxorhynchites* comme décrit précédemment ; la dilution a été rendue nécessaire par la toxicité de ces broyats pour les *Toxorhynchites*.

4. IDENTIFICATION DES SOUCHES VIRALES

Pour les virus dengue l'identification a été faite à partir du corps des *Toxorhynchites* trouvés positifs en immunofluorescence. Le corps du moustique a été broyé dans 1,5 ml de liquide de Hanks contenant 7,5 % d'albumine bovine ; après centrifugation à 12 000 tours/minute pendant 20 minutes, le surnageant a été inoculé à la dilution de 1/100 dans un flacon contenant une couche confluyente de cellules d'insectes : clone C6 36 d'*Aedes albopictus* (Igarashi, 1978) ou mieux cellules d'*Aedes pseudoscutellaris* Mos 61 (Varma *et al.*, 1974). Après une semaine d'incubation, ou dès l'apparition d'un effet cytopathogène, les cellules ont été grattées, lavées trois fois en tampon phosphaté à pH. 7,2 et remises en suspension dans du tampon à la concentration de 10^6 cellules par ml. L'identification définitive a été faite par immunofluorescence indirecte sur frottis de ces cellules avec des anticorps monoclonaux contre les quatre types de dengue, selon la technique de Henchall *et al.* (1983).

Pour les autres virus des antigènes ont été préparés par la méthode d'extraction par le saccharose et l'acétone à partir des cerveaux de souris infectés (Clarke et Casals, 1958) ; les liquides immuns ont été obtenus sur ascite de souris provoquée par la souche de sarcome TG 180 (Brandt *et al.*, 1967). La réaction de fixation du complément a été effectuée selon la méthode LBCF en microtechnique (Casey, 1965). La réaction de neutralisation a été pratiquée par inoculation au souriceau, après une heure au bain-marie à 37°C, d'un mélange de sérum pur et de virus à des dilutions différentes ; on a comparé les indices de neutralisation.

5. TECHNIQUES SÉROLOGIQUES

Les sérums de singe ont été étudiés par deux réactions sérologiques : la réaction d'inhibition de l'hémagglutination, selon la méthode de Clarke et Casals (1958) adaptée à la microtechnique ; la réaction de fixation du complément selon la méthode LBCF en microtechnique (Casey, 1965).

Les antigènes suivants ont été utilisés : YF, WN, Zika, Den 1, Den 2 (souche de référence (NGC) 84850).

Résultats

Le tableau I donne la liste par espèce des inoculations réalisées en 1981 et 1982, ainsi que le nombre de souches de virus dengue 2 isolées ; le tableau II indique la chronologie de ces isolements. Ces tableaux montrent qu'il y a eu en 1981 une forte circulation selvatique de dengue 2 ; les premiers isolements ont eu lieu dès le mois de juin, mais l'amplification ne semble avoir débuté qu'en août ; elle a alors été très rapide et l'acmé de la poussée a été atteinte en septembre-octobre ; la décroissance a également été très brutale entre octobre et novembre. En 1982 une seule souche a été isolée en septembre, montrant que le virus pouvait se maintenir sur place pendant la saison sèche. Enfin quatre souches supplémentaires ont été obtenues à partir de quatre lots de vecteurs potentiels capturés dans la région montagneuse proche de Guinée au cours d'une mission conjointe des chercheurs de l'Institut Nene Kaly Condetto de Conakry et du centre O.R.S.T.O.M. de Dakar : *Ae. luteocephalus*, une souche ; *Ae. groupe africanus* (Theo.), trois souches.

Il est intéressant de noter que la présence du virus dengue 2 n'a pas empêché la circulation d'autres *Flavivirus*, puisque trois d'entre eux ont été isolés en octobre 1981, chacun d'eux représenté par une souche : virus Zika d'*Ae. luteocephalus*, virus Wesselsbron et Kedougou d'*Ae. dalzieli*.

Seules trois espèces de moustiques ont été trouvées infectées dans la nature par le virus dengue 2 : *Ae. furcifer*, *Ae. taylora* et *Ae. luteocephalus*, c'est-à-dire les trois espèces déjà incriminées dans la région dans les cycles selvatiques du virus amaril (Cornet *et al.*, 1979a et b) ; la biologie des espèces d'*Aedes* dans cette région a fait l'objet d'une note antérieure (Cornet *et al.*, 1978) à laquelle nous renvoyons le lecteur ; quelques données complémentaires seront ajoutées pour *Ae. furcifer* et

TABLEAU II
Chronologie des isolements de virus dengue 2

	Année... 1981							1982							Total
	Mois.... 6	7	8	9	10	11	12.....	6	7	8	9	10	11	12	
<u>Ae.furcifer</u>															
mâles	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
femelles	0	0	8	39	40	1	0	0	0	0	0	0	0	0	88
<u>Ae.taylori</u>															
mâles	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
femelles	1	1	1	14	16	3	1	0	0	0	0	0	0	0	37
<u>Ae.luteocephalus</u>															
femelles	1	0	13	45	27	1	0	0	0	0	1	0	0	0	88
<u>Erythrocebus</u>															
pates	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	2	2	22	99	83	5	1	0	0	0	1	0	0	0	215

TABLEAU III
Évolution du taux estimé d'infection (en %)

Espèce	Mois... 6	7	8	9	10	11	12	Moyenne année
<u>Ae.furcifer</u>	<0,05	<0,10	0,67	4,68	9,88	0,88	<4,75	1,46
<u>Ae.taylori</u>	0,15	0,25	0,29	5,30	4,97	1,93	1,70	1,62
<u>Ae.luteocephalus</u>	0,15	<0,09	0,85	6,43	5,41	2,15	<8,32	1,79
Ensemble des trois espèces	0,06	0,04	0,72	5,42	6,52	1,57	0,96	1,61

TABLEAU IV
Évolution du nombre estimé de piqûres par moustiques infectés reçues quotidiennement par un capteur

Espèce	Mois.... 6	7	8	9	10	11	12	Moyenne année
<u>Ae.furcifer</u>	0	0	0,06	0,52	0,78	0,01	0	0,20
<u>Ae.taylori</u>	0,01	0,01	0,01	0,22	0,23	0,03	0,01	0,07
<u>Ae.luteocephalus</u>	0,01	0	0,10	0,76	0,38	0,01	0	0,18
Ensemble des 3 espèces	0,02	0,01	0,17	1,50	1,39	0,05	0,01	0,45

Ae. taylori qui avaient été précédemment étudiés comme une entité unique. Le tableau III montre, pour chaque espèce, l'évolution du taux d'infection évalué selon la formule de Chiang et Reeves (1962) ; le rôle de chacune dans la circulation selvatique du virus dépendant également de son abondance, nous avons estimé le nombre de piqûres par moustiques infectés que pouvait recevoir quotidiennement un capteur en multipliant le nombre de moustiques capturés par homme et par jour par le taux d'infection évalué ; le tableau IV montre l'évolution de ce nombre dans le temps ; il montre que ce rôle a varié en fonction de l'espèce ; rappelons cependant que ce rôle a été évalué d'après les résultats des captures sur homme et qu'il peut ne pas refléter l'exacte réalité si l'homme et le singe n'exercent pas la même attractivité pour une ou plusieurs espèces.

Aedes (Diceromyia) taylori est l'espèce dont l'activité vectrice semble la plus étalée dans le temps puisque des souches de virus en ont été isolées chaque mois de juin à décembre ; malgré le volume assez faible des captures, c'est l'espèce qu'on trouve la plus souvent infectée en début (juin-juillet) et en fin (novembre-décembre) de la saison de transmission. D'après les données recueillies en 1981 et 1982 elle se montre plus active en canopée, piquant peu au niveau du sol et au village ; elle semble persister plus longtemps après la fin des pluies, probablement en raison d'un taux de survie élevé. L'inventaire des gîtes larvaires semble montrer qu'elle est beaucoup plus abondante que ne le laissent supposer les captures sur homme. Enfin la majorité des mâles du sous-genre capturés sur homme se rapportent à *Ae. taylori*.

Aedes (Diceromyia) furcifer a été trouvé infecté pour la première fois en août ; son rôle s'est accru en septembre et octobre, mois où il a été le principal vecteur. Malgré une activité canopéenne marquée, il représente la majorité des *Diceromyia* capturés au niveau du sol, particulièrement au village ; on peut donc le considérer comme le principal responsable des contaminations humaines. En fin de saison sa disparition est plus précoce que celle d'*Ae. taylori*, mais moins que celle d'*Ae. luteocephalus*.

Aedes (Stegomyia) luteocephalus est intervenu surtout dans la première moitié de la saison de transmission, comme cela avait déjà été remarqué avec le virus amaril (Cornet *et al.*, 1979a et b). Il joue certainement un rôle majeur dans l'amplification, en août et septembre, mois où il a été le vecteur principal. En octobre sa densité décroît rapidement et il est relayé par *Ae. furcifer*.

Aucune souche n'a été isolée d'autres espèces ; il faut cependant noter qu'une espèce du groupe *Ae. africanus*, commune dans les galeries où croissent les *Raphia*, peut jouer un rôle non négligeable.

Une des deux souches de virus obtenues en juillet 1981 provient d'un lot de mâles d'*Ae. taylori* ; cet isolement constitue un argument supplémentaire en faveur du rôle de la transmission transovariante dans la nature.

Le rôle des singes est démontré par l'isolement d'une souche en septembre 1981 à partir du sang d'un singe rouge, *Erythrocebus patas* (Schreber) ; c'est la première souche de virus dengue isolée dans la nature d'un singe en liberté ; plusieurs souches avaient été isolées de singes sentinelles en Malaisie (Rudnik *et al.*, 1974, *in* Knudsen, 1977).

Sérologiquement la réaction d'inhibition de l'hémagglutination s'est avérée ininterprétable en raison des très nombreuses réponses positives pour tous les virus testés ; rappelons que le virus amaril a circulé dans la région de 1976 à 1978 et le virus Zika de 1979 à 1981. En fixation du complément les réactions semblent plus spécifiques : les tests pratiqués en 1980 se sont tous avérés négatifs pour le virus dengue 2 et les premières réponses positives pour ce virus ont été détectées en juin et juillet 1981. Sur les 227 singes étudiés entre mars 1981 et décembre 1982, 11 présentaient des anticorps fixant le complément pour le seul virus dengue 2 (fig. 2 D) et 77 des anticorps pour le virus dengue 2 et un au moins des quatre autres virus utilisés (surtout YF et Zika). On trouve peu de différences dans les pourcentages de positivité entre 1981 et 1982 (fig. 2 A), si ce n'est que les réponses positives ont été plus précoces en 1982. Cette première courbe ne tient pas compte du taux d'anticorps des sérums qui a été en moyenne dix fois plus élevé en 1981 (1/84) qu'en 1982 (1/9) ; c'est pourquoi nous avons calculé un « indice de positivité » I selon la formule $I = \frac{\sum P}{N}$ où P est fonction

du taux d'anticorps (1/8 = 1 ; 1/16 = 2 ; 1/32 = 3 ; etc...) et N représente le nombre de singes testés ; la courbe ainsi obtenue (fig. 2 B) semble mieux correspondre à la chronologie des isollements : en 1981 la circulation a été intense et le maximum de l'indice de positivité se situe en octobre et novembre, soit avec une décalage de un mois par rapport aux isollements ; en 1982 la circulation a été moins intense et il est très probable qu'une partie des réactions positives était la trace d'affections contractées en 1981. Tous les singes testés en mars 1983 étaient négatifs, ce qui laisse supposer

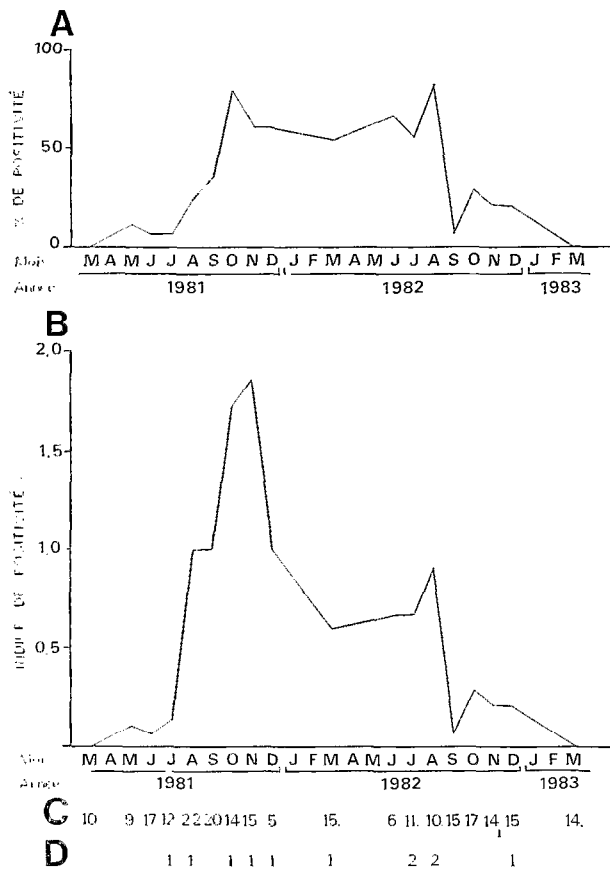


FIG. 2. — Résultats des tests sérologiques de fixation du complément chez les singes. A : Évolution du pourcentage de singes positifs; B : Évolution de l'indice de positivité (voir texte); C : Nombre de singes testés; D : Nombre de singes seulement positifs pour le virus dengue 2

que les anticorps fixant le complément ne persistent pas plus de deux ans chez les singes. Ces résultats montrent donc que les singes ont été d'importants hôtes amplificateurs; cette notion se trouve confirmée par la constatation d'une amplification plus rapide dans une des trois galeries étudiées, celle qui sert de dortoir habituel à une importante troupe de habouins.

Discussion

La preuve éclatante d'une importante circulation selvatique du virus dengue 2 en Afrique occi-

dentale a été apportée en 1980 par les nombreux isolements réalisés en Haute-Volta et en Côte d'Ivoire (Roche et al., 1983; Cordellier et al., 1983; Hervy et al., 1984); nos résultats ne font que la confirmer en apportant quelques renseignements complémentaires.

Cette poussée n'est pas sans rappeler la poussée de fièvre jaune observée dans les mêmes galeries en 1976-1978 : les vecteurs sont les mêmes, *Ae. furcifer*, *Ae. taylori*, *Ae. luteocephalus* et la chronologie de leur intervention est identique; les singes ont été d'importants hôtes amplificateurs et le retentissement humain est discret, au moins cliniquement; la circulation peut s'étendre sur plusieurs années consécutives, mettant en jeu un processus de conservation du virus en saison sèche, probablement la transmission transovarienne. Malgré ces nombreuses analogies, la dynamique des deux poussées a été très différente : la poussée amarile a été progressive, étalée dans le temps et la circulation du virus à haut niveau a été constatée pendant deux années consécutives; la poussée de dengue 2 a été beaucoup plus brutale, avec une amplification rapide et précoce et une période de circulation du virus à haut niveau n'ayant pas excédé deux mois. Ces constatations pourraient trouver leur explication dans des rapports virus-vecteurs différents : un seuil d'infectivité plus bas pour le virus dengue 2 expliquerait les taux d'infection élevés; une transmission plus efficace entraînerait une amplification plus rapide, avec, comme corollaire, une immunisation rapide des singes et la brièveté de la poussée. Seuls des tests expérimentaux permettraient de confirmer ou d'infirmer ces hypothèses.

Pour la troisième fois des mâles d'*Aedes* du sous-genre *Diceromyia* ont été trouvés naturellement infectés : avec le virus amaril en 1977 au Sénégal oriental (Cornet et al., 1979b), avec le virus dengue 2 en 1980 en Côte d'Ivoire (Cordellier et al., 1983) et en 1981 au Sénégal oriental. Ces isolements répétés sont évidemment un argument de poids en faveur de l'intervention effective de la transmission transovarienne comme mécanisme du maintien de ces virus dans la nature. De plus les taux d'infection chez ces mâles sont nettement supérieurs aux taux de transmission transovarienne habituellement observés dans les expériences avec les *Flavivirus*, surtout si on considère qu'une faible proportion seulement de ces mâles doit être issue de femelles infectées : 1/422 pour le virus amaril, 1/291 et 1/515 pour le virus dengue 2. Ceci pourrait signifier que les protocoles expérimentaux adoptés biaisent les résultats, par exemple par

le choix d'une souche de moustiques d'élevage peut-être bien différente des populations naturelles. Il est donc possible que les taux de transmission transovarienne dans la nature soient plus élevés que ceux observés dans les expériences; d'après les chiffres ci-dessus ils se situeraient nettement au-dessus de 1 %. Une autre remarque concerne les isolements précoces de juin et juillet; il est logique de penser que plusieurs de ces moustiques ont été infectés par voie transovarienne et le virus aurait donc déjà été présent dès la fin de 1980, sans qu'il ait pu être mis en évidence. De plus trois de ces quatre souches précoces proviennent d'*Ae. taylori* qui pourrait alors être plus apte que les autres espèces à la transmission transovarienne.

La mise en évidence soudaine de la circulation selvatique du virus dengue 2 dans cette partie de l'Afrique de l'Ouest pose évidemment le problème de l'origine du virus. Deux hypothèses peuvent être retenues: introduction du virus dans une zone vierge ou recrudescence d'un foyer local permanent. A l'appui de la première hypothèse signalons l'importance des flambées observées et l'opinion de Cordellier *et al.* (1983), basée sur la faible densité des singes en Côte d'Ivoire et l'absence d'isolement du virus pendant les années précédentes. Au Sénégal la première hypothèse ne peut être retenue puisque deux souches de virus avaient déjà été isolées en 1970 et 1974, dont une dans la même localisation selvatique (Robin *et al.*, 1980); pour essayer de clarifier la situation, nous avons pu tester quelques sérums récoltés au Sénégal oriental en 1974-1975; l'existence de quelques résultats seulement positifs pour le virus dengue 2 nous amène à penser qu'en 1974 ce virus a circulé dans la région à un niveau supérieur à ce que laissait supposer cet isolement unique. Si on se réfère aux observations recueillies sur le virus amaril, nous savons que ce dernier se manifeste sous forme d'épizooties survenant sur un fond d'enzootie permanente difficile à détecter autrement que par les enquêtes sérologiques; l'amplitude des poussées varie avec le taux d'immunité des singes; les poussées de forte amplitude doivent se produire tous les 13 à 15 ans et sont séparées par des poussées de moindre amplitude survenant tous les 4 à 5 ans; une poussée de ce second type vient d'être mise en évidence au Sénégal oriental en 1983, soit cinq ans après la fin de la grande poussée de 1976-78. Il est donc possible que, pour la dengue 2, la poussée de 1981 soit l'équivalent d'une de ces grandes poussées, tandis que l'isolement de 1974 aurait été le signe révélateur d'une poussée de faible amplitude. Dès lors le schéma épidémi-

logique de la dengue 2 pourrait se calquer sur celui de la fièvre jaune, probablement avec une périodicité différente. Au moins au Sénégal le virus serait donc issu d'un foyer local permanent; la situation y est d'ailleurs bien différente de celle rencontrée en Côte d'Ivoire puisque les singes y sont très abondants et que le virus était déjà très certainement présent dans l'année qui a précédé la poussée. Seule la poursuite de l'étude longitudinale de la circulation du virus permettra d'apporter une réponse définitive à cette question lourde de conséquences.

Une des causes principales de la méconnaissance de la dengue dans cette région d'Afrique est certainement l'utilisation habituelle du souriceau nouveau-né comme technique d'isolement de routine; son manque de sensibilité pour les virus dengue est bien connu et nous avons pu le vérifier une fois de plus: 14 *Toxorhynchites* dont la tête avait révélé la présence de virus dengue 2 ont été inoculés un par un à 14 portées de souriceaux; le virus n'a été retrouvé que six fois et la mortalité globale des souriceaux n'a été que de 30%; on peut donc considérer qu'en utilisant le souriceau on manque au moins un isolement sur deux. Ceci n'a que peu d'importance lorsqu'on se trouve en présence de fortes poussées, comme le prouvent les isolements de Côte d'Ivoire et de Haute-Volta; par contre la mise en évidence d'une circulation enzootique ou d'une poussée de faible amplitude devient problématique. Toute étude longitudinale de la dengue selvatique rend donc obligatoire l'utilisation d'un système révélateur plus sensible que le souriceau, *Toxorhynchites* ou cultures de cellules d'insectes. Ce n'est certainement pas un hasard si, dans nos laboratoires, nous avons pu isoler trois des quatre types de virus dengue depuis l'introduction en 1980 des techniques d'inoculation sur *Toxorhynchites* ou sur cultures de cellules d'insectes.

Conclusion

Les observations recueillies tant au Sénégal qu'en Côte d'Ivoire et en Haute-Volta, montrent que la circulation selvatique du virus dengue 2 a de nombreux points communs avec celle du virus amaril: même vecteurs, mêmes hôtes vertébrés, mêmes manifestations épizootiques. Après la poussée amarile de 1976-78 au Sénégal oriental, le virus s'est déplacé vers l'ouest où il s'est manifesté sous la forme épidémique en Gambie en 1978, puis vers le nord, dans la partie occidentale du Sénégal,

en 1979 et 1981. De même, après la poussée de dengue 2 selvatique en Haute-Volta, une épidémie de type urbain a été mise en évidence en 1982 à Ouagadougou (Gonzalez et al., 1984). Il faut donc s'attendre au Sénégal à un déplacement du virus

vers la zone potentiellement épidémique et se tenir prêt à intervenir ; l'isolement récent, en novembre 1983, d'une souche humaine dans le sud-ouest du pays pourrait être le prélude de manifestations épidémiques.

BIBLIOGRAPHIE

- BRANDT (W. E.), BOESCHER (E. L.) et HETRICK (F.), 1967. — Production and characterization of arbovirus antibody in mouse ascitic fluid. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 16 : 339-347.
- CAREY (D. E.), CAUSEY (O. R.), REDDY (S.) et COOKE (A. R.), 1971. — Dengue viruses from patients in Nigeria, 1964-1968. *Lancet*, 1 : 105.
- CASEY (H. L.), 1965. — Standardized diagnostic complement fixation method and adaptation to microtest. Public Health Monograph n° 74, U. S. Government Printing Office, Washington.
- CHIANG (C. L.) et REEVES (W. C.), 1962. — Statistical estimation of virus infection rates in mosquito vector populations. *Am. J. Hyg.*, 75 : 377-391.
- CLARKE (D. H.) et CASALS (J.), 1958. — Technique for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 7 : 561-573.
- CORDELLIER (R.), BOUCHITÉ (B.), ROCHE (J.-C.), MONTENY (N.), DIACO (B.) et AKOLIBA (P.), 1983. — Circulation selvatique du virus dengue 2 en 1980, dans les savanes sub-soudanaises de Côte d'Ivoire. Données entomologiques et considérations épidémiologiques. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 21, 3 : 165-179.
- CORNET (M.), CHATEAU (R.), VALADE (M.), DIENG (P. L.), RAYMOND (H.) et LORAND (A.), 1978. — Données bio-écologiques sur les vecteurs potentiels du virus amaril au Sénégal oriental. Rôle des différentes espèces dans la transmission du virus. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 16, 4 : 315-341.
- CORNET (M.), DÉJARDIN (J.), JAN (C.), COZ (J.), ADAM (C.) et VALADE (M.), 1977. — Note technique sur l'isolement des arbovirus par inoculation au souriceau. Préparation des broyats de moustiques. *Bull. Soc. Path. exot.*, 70, 2 : 137-143.
- CORNET (M.), ROBIN (Y.), CHATEAU (R.), HÈME (G.), ADAM (C.), VALADE (M.), LE GONIDEC (G.), JAN (C.), RENAUDET (J.), DIENG (P. L.), BANGOURA (J.-F.) et LORAND (A.), 1979a. — Isolements d'arbovirus au Sénégal oriental à partir de moustiques (1972-1977) et note sur l'épidémiologie des virus transmis par les *Aedes*, en particulier du virus amaril. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 17, 3 : 149-163.
- CORNET (M.), ROBIN (Y.), HÈME (G.), ADAM (C.), RENAUDET (J.), VALADE (M.) et EYRAUD (M.), 1979b. — Une poussée épidémiologique de fièvre jaune selvatique au Sénégal oriental. Isolement du virus de lots de moustiques adultes mâles et femelles. *Méd. Mal. Infectieuses*, 9, 2 : 63-66.
- COULANGES (P.), CLERC (Y.), JOUSSET (F. X.), RODHAIN (F.) et HANNOUN (C.), 1979. — Dengue à la Réunion : isolement d'une souche à l'Institut Pasteur de Madagascar. *Bull. Soc. Path. exot.*, 72, 3 : 205-209.
- FAGBAMI (A. H.), MONATH (T. P.) et FABIYI (A.), 1977. — Dengue virus infections in Nigeria : a survey for antibodies in monkeys and humans. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 71, 1 : 60-65.
- FERRARA (L.), GERMAIN (M.) et HERVY (J.-P.), 1984. — *Aedes (Diceromyia) furcifera* (Edwards, 1913) et *Aedes (Diceromyia) taylori* Edwards, 1936 : le point sur la différenciation des adultes. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 22, 3 : 179-183.
- GONZALEZ (J. P.), DU SAUSSAY (C.), GAUTUN (J. C.), MCCORMICK (J. B.) et MOUCHET (J.), 1984. — La dengue en Haute-Volta : épidémies saisonnières en milieu urbain à Ouagadougou. *Bull. Soc. Path. exot.*, 77, sous presse.
- HENCHALL (E. A.), MCCOWN (J. M.), SEGUIN (M. C.), GENTRY (M. K.) et BRANDT (W. E.), 1983. — Rapid identification of dengue virus isolates by using monoclonal antibodies in an indirect immunofluorescence assay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32, 1 : 164-169.
- HERVY (J. P.), LEGROS (F.), ROCHE (J. C.), MONTENY (N.) et DIACO (B.), 1984. — Circulation du virus dengue 2 dans plusieurs milieux boisés des savanes soudanaises de la région de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Considérations entomologiques et épidémiologiques. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 22, 2 : 135-143.
- IGARASHI (A.), 1978. — Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. *J. gen. Virol.*, 40 : 531-544.
- JOHNSON (B. K.), OCHENG (D.), GICHOGO (A.), OKIRO (M.), LIBONDO (M.), KINYANJUI (P.) et TUKEI (P. M.), 1982. — Epidemic dengue fever caused by dengue type 2 virus in Kenya : preliminary results of human virological and serological studies. *E. Afr. med. J.*, 59, 12 : 781-784.
- KNUDSEN (A. B.), 1977. — The silent jungle transmission cycle of dengue virus and its tenable relationship to endemic dengue in Malaysia. *The Malayan Nat. J.*, 31, 1 : 41-47.
- METSSELAAR (D.), GRAINGER (C. R.), OEI (K. S.), REYNOLDS (D. G.), PUDNEY (M.), LEAKE (C. J.), TUKEI (P. M.), D'OFFRAY (R. M.) et SIMPSON (D. I. H.), 1980. — An outbreak of type 2 dengue fever in the Seychelles, probably transmitted by *Aedes albopictus*. *Bull. Org. mond. Santé*, 58, 6 : 937-944.
- MONATH (T. P.), LEE (V. H.), FAGBAMI (A. H.), TOMORI (O.) et WILSON (D.), 1974. — Arbovirus studies in Nupeko Forest, a possible natural focus of yellow fever in Nigeria. I. Description of the area and a serological survey. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 68 : 30-38.
- MOORE (D. L.), CAUSEY (O. R.), CAREY (D. E.), REDDY (S.), COOKE (A. R.), AKINKUGBE (F. M.), DAVID-WEST (T. S.) et KEMP (G. E.), 1975. — Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964-1970. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 69 : 49-64.

- ROBIN (Y.), CORNET (M.), HÈME (G.) et LE GONIDEC (G.), 1980. — Isolement du virus de la dengue au Sénégal. *Ann. Virol. (Inst. Pasteur)*, 131E : 149-154.
- ROCHE (J. C.), CORDELLIER (R.), HERVY (J. P.), DIGOUTTE (J.-P.) et MONTENY (N.), 1983. — Isolement de 96 souches de virus dengue 2 à partir de moustiques capturés en Côte d'Ivoire et en Haute-Volta. *Ann. Virol. (Inst. Pasteur)*, 134E : 233-244.
- ROSEN (L.) et GUBLER (D.), 1974. — The use of mosquitoes to detect and propagate dengue viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 23 : 1153-1160.
- RUDNICK (A.), 1978. — Ecology of dengue virus. *Asian J. infect. Dis.*, 2 : 156-160.
- SUDIA (W. D.), CHAMBERLAIN (R. W.) et COLLIER (M.), 1965. — The CDC entomological table, a refrigerated unit for use in processing mosquitoes for virus isolation studies. *Mosq. News*, 25 : 365-389.
- TAUFFLIEB (R.), CORNET (M.), LE GONIDEC (G.) et ROBIN (Y.), 1973. — Un foyer selvatique de fièvre jaune au Sénégal oriental. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 11, 3 : 211-220.
- VARMA (M. G. R.), PUDNEY (M.) et LEAKE (C. J.), 1974. — Cell lines from larvae of *Aedes (Stegomyia) malayensis* Colles and *Aedes (S.) pseudoscutellaris* (Theobald) and their infection with some arboviruses. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 68 : 374-382.