

INFECTIONS A ARBOVIRUS EN ESPAGNE : ENQUÊTE SÉROLOGIQUE CHEZ LES PETITS MAMMIFÈRES

Par G. CHASTEL (*), H. LAUNAY (**), G. ROGUES (*) & J. G. BEAUCOURNU (**) (***)

L'Espagne, de par sa situation géographique à l'extrémité ouest de la Méditerranée occidentale et sur le trajet d'importantes migrations d'oiseaux entre l'Europe et l'Afrique, doit *a priori* constituer une zone favorable à la circulation d'arbovirus.

Or, on ne dispose que d'informations très fragmentaires sur les infections à arbovirus dans ce pays (8, 10, 11), contrairement au Portugal où plusieurs enquêtes sérologiques ont clairement montré l'activité de plusieurs arbovirus (2, 3, 5, 6) et où les virus West Nile et Dhoré ont été isolés (4, 7).

A l'occasion d'enquêtes entomologiques réalisées en Espagne en 1978 et 1979, de nombreux micromammifères (rongeurs, insectivores, petits carnivores, chéiroptères) ont été capturés et du sang a été recueilli chez 386 d'entre eux. Ce matériel a permis la recherche d'anticorps vis-à-vis de 10 arbovirus différents et les résultats obtenus sont en faveur de l'activité de plusieurs d'entre eux dans cette région de l'Europe méridionale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Lieux et dates de capture ; espèces capturées.

Les captures ont eu lieu par piégeage, d'une part dans le nord du pays en janvier 1978 et janvier 1979 (8 points de capture), et d'autre part dans le sud, en janvier 1979 (7 points de capture). Tous les micromammifères ont été complètement identifiés, tandis que le sexe et le degré de maturité étaient notés.

Les points de capture, reportés sur la *carte* jointe, sont les suivants :

a. Dans le nord de l'Espagne.

— A Villanueva de Sigüenza (Huesca), les points 1 à 5 qui correspondent à 5 biotopes différents, étagés entre 100 et 400 mètres d'altitude ; ils ont fourni 170 sérums : *Mus spretus* (95), *Apodemus sylvaticus* (55), *Crocidura russula* (13), *Pitymys duodecimcostatus* (6) et *Mustela nivalis* (1).

(*) Laboratoire de Virologie, Faculté de Médecine, BP 815, 29279 Brest Cedex.

(**) Laboratoire de Parasitologie (Entomologie Médicale), Faculté de Médecine (U. E. R. Claude Bernard), 35043 Rennes Cedex.

(***) Séance du 16 avril 1980.



Répartition des points de capture des petits mammifères.

— A Albarracín (Teruel), le point 6 (35 sérums), situé à 1 100 m d'altitude correspond d'une part à une galerie dans la falaise : *Pipistrellus pipistrellus* (5) et d'autre part aux rives du Rio Guadalaviar : *P. duodecimcostatus* (8), *C. russula* (7), *Microtus arvalis* (*) (4), *A. sylvaticus* (7), *Mus spretus* (3) et *Mustela nivalis* (1).

— A Galende et à Ribadelago (Zamora), les points 7 et 8, à 1 100 m d'altitude, ont fourni 19 sérums : *A. sylvaticus* (14), *Talpa occidentalis* (2), *C. russula* (2), et *Mustela nivalis* (1).

b. Dans le sud de L'Espagne.

— A El Tranco et Cazorla (Jaen), les points 9 et 10, à 1 100 et 950 m d'altitude respectivement (82 sérums), *C. russula* (8), *M. spretus* (27), *A. sylvaticus* (45), *Rattus rattus* (1) et *P. duodecimcostatus* (1).

— A Ronda (Malaga), les points 11, 12 et 13 correspondent à différents biotopes situés entre 750 et 1 200 m d'altitude (48 sérums) : *P. duodecimcostatus* (14), *M. spretus* (12), *A. sylvaticus* (21) et *C. russula* (1).

— A Merida et Aljucén (Badajoz), les points 14 et 15, se trouvent à 500 et 450 m d'altitude respectivement (32 sérums) : *P. duodecimcostatus* (17), *M. spretus* (13) et *A. sylvaticus* (2).

Toutes ces stations étaient fréquentées par des ovins (points 2, 3, 4, 5, 6, 11), des bovins (points 8, 10, 13), enfin des ovins et des caprins (point 12).

2. Prélèvements de sang et traitement des sérums.

Ils ont été réalisés comme lors d'une précédente enquête en Tunisie (1) : prélèvements sur bandelettes de papier buvard, élution des anticorps, extraction des inhibiteurs non spécifiques par l'acétone à froid répétée deux fois et élimination des hétéro-agglutinines par contact avec des hématies de poussin.

(*) Il s'agit de la sous-espèce *asturianus* Miller 1908.

3. Méthodes sérologiques.

Ce sont également les mêmes que celles qui ont été employées précédemment (1). Toutefois, nous avons utilisé 9 antigènes hémagglutinants : Sindbis (SIND), West Nile (WN), dengue type 2 (DEN 2), Wesselsbron (WSL), encéphalite européenne à tiques (TBE), Calovo (CVO), Tahyna (TAH), Uukuniemi (UUK) et Bhanja (BHA), et un antigène fixant le complément : Tribec (TRB).

Les réactions d'inhibition de l'hémagglutination (IH) et de fixation du complément ont été réalisées en microméthodes (1). Un titre supérieur ou égal à 20 a été considéré comme significatif lors des épreuves de criblage et chaque sérum positif, lors du criblage, a fait l'objet d'un contrôle et d'un titrage complet.

RÉSULTATS

1. En fonction des différents antigènes.

Aucun anticorps n'a été mis en évidence pour les virus SIND, WSL, CVO et TRB. Par contre, des réactions positives ont été obtenues avec les antigènes suivants : WN (3,1 %), DEN 2 (0,5 %), TBE (0,2 %), UUK (2 %), BHA (1 %) et TAH (6,5 %). Les titres les plus élevés en IH ont atteint 160 pour WN et UUK, 80 pour DEN 2 et TAH, 40 pour TBE et BHA. Certains sérums réagissaient sur un seul antigène, par exemple TAH ou WN, tandis que d'autres étaient positifs avec plusieurs flavivirus. Enfin, quelques sérums, correspondant tous à un même point de capture (point 2), répondaient sur plusieurs antigènes simultanément : WN + UUK + BHA ou WN + UUK ou encore WN + UUK + TAH.

Il n'a été observé que deux réactions avec l'antigène DEN 2, chez *Mus spretus* au point 1, s'accompagnant toujours d'anticorps WN : il s'agit certainement de réactions de groupe parmi les *flavivirus*. Enfin, toujours au point 1 on a décelé, également chez *M. spretus*, une unique réaction avec TBE (titre : 40) accompagnée d'autres anticorps flavivirus : DEN 2 (titre : 80) et WN (titre : 40).

2. En fonction des points de capture.

En tenant compte de la répartition géographique de ces réactions positives, on doit noter que nous avons trouvé des pourcentages de positivité équivalents dans le nord du pays, 8,92 % (ou 20/224) et dans le sud, 8,64 % (ou 14/162), mais le type des antigènes concernés n'est pas le même. Dans le nord, et singulièrement au point de capture 2, c'est-à-dire à Villanueva de Sigena (Huesca), en bordure des *Montes*, nous avons la plus forte concentration de sérums positifs, 12 sur 43 (ou 35,3 %) et des réactions positives intéressant le plus large éventail d'antigènes : WN, DEN 2, TBE, UUK, BHA et TAH. Dans le sud, nous n'avons trouvé qu'une seule réaction avec l'antigène WN, d'ailleurs à un titre faible (20), et associée à une réaction pour TAH : il s'agissait du point 15, c'est-à-dire le long du Rio Aljucén. Des réactions positives isolées sur l'antigène TAH ont été décelées à ce même point 15 et au point 13, à Ronda, le long du Rio Guadalquivir.

3. En fonction des espèces animales.

Si l'on s'intéresse aux espèces concernées par les réactions positives, on est frappé par le fait qu'il s'agit essentiellement de deux muridés, *Mus spretus*, la souris méditerranéenne, et *Apodemus sylvaticus*, le mulot sylvestre. *M. spretus* a le plus grand nombre de réactions positives, 21 sur 150 (ou 14 %) et l'on trouve dans son sérum tous les types d'anticorps mis en évidence au cours de cette enquête, surtout dans le nord, mais également dans le sud. *A. sylvaticus* vient en deuxième position avec un nombre de positivités non négligeable, 12 sur 144 (ou 8,3 %), mais chez cet animal les réactions positives ne se voient qu'avec le seul antigène TAH (tableau I). Il n'a été trouvé qu'une seule réaction positive chez un insectivore, *Crocidura russula*, dans le nord du pays et en bordure d'un canal d'irrigation (point 3) ; elle n'intéressait que l'antigène WN. On doit cependant remarquer que la forte prédominance des réactions positives chez *M. spretus* et *A. sylvaticus* tient aussi au fait que ces deux espèces représentent l'essentiel des micromammifères examinés dans cette enquête : 294 sur 386 (ou 76 %). L'absence d'anticorps chez *Pipistrellus pipistrellus* est également remarquable, mais le nombre de chéiroptères examinés est faible.

TABLEAU I

Distribution par espèces et par régions géographiques
des réactions positives

Localité Espèces	Espagne Nord			Espagne Sud			Total	%	Antigènes concernés par les réactions positives
	Huesca	Teruel	Zamora	Jaen	Ronda	Badajoz			
Rongeurs :									
<i>Mus spretus</i>	13/95 (*)	0/3	—	0/27	4/12	4/13	21/150	14	WN, DEN ₂ , TBE-UUK- BHA-TAH
<i>Apodemus sylvaticus</i>	0/55	1/7	5/14	0/45	6/21	0/2	12/144	8,3	TAH
<i>Pitymys duodecimcostatus</i>	0/6	1/8	—	0/1	0/14	0/17	0/46	—	
<i>Microtus arvalis</i>	—	0/4	—	—	—	—	0/4	—	
<i>Rattus rattus</i>	—	—	—	0/1	—	—	0/1	—	
Insectivores :									
<i>Crocidura russula</i>	1/13	0/7	0/2	0/8	0/1	—	1/31	3,2	WN
<i>Talpa occidentalis</i>	—	—	0/2	—	—	—	0/2	—	
Carnivores :									
<i>Mustela nivalis</i>	0/1	0/1	0/1	—	—	—	0/3	—	
Chéiroptères :									
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	—	0/5	—	—	—	—	0/5	—	
Totaux	14/170	1/35	5/19	0/82	10/48	4/32			

(*) Nombre de sérums positifs/ nombre de sérums testés.

COMMENTAIRES

Il n'est pas surprenant que l'on retrouve au niveau des micromammifères d'Espagne la trace de l'activité du virus WN, puisque ce virus a été isolé au Portugal à partir d'*Anopheles maculipennis* (4) et que l'on trouve des anticorps pour ce virus chez l'homme, chez les oiseaux et chez les animaux domestiques au Portugal (2, 3, 5, 6) et chez l'homme, dans le nord-ouest de l'Espagne (8). Les anticorps DEN 2 correspondent sûrement à des réactions croisées.

Plus intéressante est l'unique réaction positive observée pour l'antigène TBE (chez *M. spretus*). La présence d'anticorps contre ce virus a déjà été mentionnée brièvement en Espagne (10) et rien ne s'oppose *a priori* à ce que ce virus soit actif dans ce pays : *Ixodes ricinus*, tique vectrice du virus TBE, est connue sur micromammifères en Espagne, au moins dans le nord-ouest du pays (9). D'autre part, le virus TBE vient d'être isolé de cette tique dans un autre pays méditerranéen, l'Italie (nord de la Toscane) (12). La même remarque peut être faite pour le virus UUK qui est également transmis par *I. ricinus*, en Scandinavie et en Europe centrale.

En ce qui concerne le virus Bhanja dont la répartition géographique est la plus vaste et intéresse, en Europe méridionale, l'Italie, la Yougoslavie et le sud de la Bulgarie, sa présence éventuelle en Espagne est très probable puisque l'un de ses nombreux vecteurs, *Dermacentor marginatus*, y est également connu sur petits mammifères (9). On remarquera que toutes nos réactions positives vis-à-vis d'arbovirus transmis par des tiques (TBE, UUK, BHA) proviennent du nord de l'Espagne et que, jusqu'à présent, *I. ricinus* et *D. marginatus* ne sont connus sur micromammifères que de la même région (9).

Enfin l'activité du virus TAH a déjà été signalée au Portugal (2, 6) et en Espagne (10), et en particulier lors d'une enquête sérologique récente réalisée chez l'homme dans la région de Valence (11). Il est cependant remarquable que ce soit l'antigène le plus fréquemment concerné par les réactions positives (6,48 % des sérums) dans notre enquête alors que celle-ci ne comporte l'examen d'aucun sérum de léporidés, réservoir classique du virus TAH.

Ainsi, il existe une bonne corrélation entre les résultats des enquêtes sérologiques et virologiques effectuées précédemment dans la Péninsule Ibérique, les données de la bio-géographie des vecteurs et nos propres résultats sérologiques. On peut en conclure que les enquêtes sérologiques effectuées sur micromammifères, comme nous avons pu aussi le constater antérieurement en Tunisie (1), représentent une méthode épidémiologique fiable pour déceler d'éventuels foyers d'infections à arbovirus dans une région. Il paraît donc possible de l'appliquer à d'autres pays où, jusqu'à présent, peu d'informations sont disponibles au sujet de ces viroses.

RÉSUMÉ

Les sérums de 386 micromammifères (rongeurs, insectivores, petits carnassiers, chéiroptères), capturés en Espagne en 1978 et 1979, ont été examinés pour la recherche d'anticorps contre 10 arbovirus. Des réactions positives ont

été obtenues avec des flavivirus : West Nile (3,1 %), dengue type 2 (0,5 %), encéphalite européenne à tique (0,2 %) ainsi qu'avec les virus Tahyna (6,5 %), Uukuniemi (2 %) et Bhanja (1 %).

Les réactions positives concernent essentiellement *Mus spretus* et *Apodemus sylvaticus* qui sont aussi les espèces les plus fréquemment capturées lors du piégeage. Une unique réaction intéresse *Crocidura russula* (West Nile).

Il existe une bonne corrélation entre les résultats sérologiques obtenus chez les micromammifères et ceux d'enquêtes réalisées précédemment chez l'homme ou chez l'animal, au Portugal et dans le nord-ouest de l'Espagne.

Mots-clés : ARBOVIRUS, MICROMAMMIFÈRES, SÉRO-ÉPIDÉMIOLOGIE, ESPAGNE.

SUMMARY

Serological evidence of arbovirus infections on small mammals in Spain.

Sera of 386 small mammals (rodents, insectivora, small carnivora and cheiroptera) trapped in Spain in 1978 and 1979 were studied for antibody against 10 arboviruses. Positive reactions were found against flaviviruses : West Nile (3.1 %), dengue type 2 (0.5 %), tick-borne encephalitis, european type (0.2 %), together with Tahyna (6.5 %), Uukuniemi (2 %) and Bhanja (1 %) viruses.

The animal species concerned by positive reactions were essentially *Mus spretus* and *Apodemus sylvaticus* which were also the more numerous species trapped during the survey. In addition, in *Crocidura russula*, an unique reaction against West Nile virus was found.

Results of our serosurvey in small mammals correlated well with those of previous reports in men or animals, from Portugal and from north-western Spain.

Key-words : ARBOVIRUS, SMALL MAMMALS, SEROSURVEY, SPAIN.

Nous remercions M. J. GOSALBEZ (Barcelone), pour son aide lors de la capture et de l'identification de notre matériel.

BIBLIOGRAPHIE

1. CHASTEL (C.), ROGUES (G.), BEAUCOURNU-SAGUEZ (F.), HELLAL (H.), LE GOFF (F.) & BEAUCOURNU (J. C.). — Enquête séro-épidémiologique mixte arbovirus-arénavirus chez les petits mammifères de Tunisie. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1977, **70**, 471-479.
2. FILIPE (A. R.) & PINTO (M. R.). — Survey for antibodies to arboviruses in serum of animals from southern Portugal. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1969, **18**, 423-426.
3. FILIPE (A. R.). — Antibodies against arboviruses in wild birds of Portugal. *Arch. g. Virusforsch.*, 1971, **35**, 395-398.
4. FILIPE (A. R.). — Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. *Acta Virol.*, 1972, **16**, 361.
5. FILIPE (A. R.). — Serological survey for antibodies to arboviruses in the human population of Portugal. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1974, **68**, 311-314.

6. FILIPE (A. R.). — Pesquisa de anticorpos contra arbovirus em animais do centro e sul de Portugal. *An. Inst. Med. trop.*, 1975, 2, 267-271.
7. FILIPE (A. R.) & CASALS (J.). — Isolation of Dhorl virus from *Hyalomma marginatum* ticks in Portugal. *Intervirology*, 1979, 11, 124-127.
8. GAREA GONZALEZ (M. I.) & FILIPE (A. R.). — Antibodies to arboviruses in north-western Spain. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 1977, 26, 792-797.
9. GILOT (B.), PAUTOU (G.), GOSALBEZ (J.) & MONCADA (E.). — Contribution à l'étude des *Ixodidae* (Acarina, Ixodoideae) des Monts cantabriques (Espagne). *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1976, 51, 241-254.
10. HANNOUN (C.). — Progrès récents dans l'étude des arbovirus. *Bull. Inst. Pasteur*, 1971, 69, 241-278.
11. SANCHIS-BAYARRI VAILLANT (V.) & SANCHIS-BAYARRI LAHOZ (V.). — Haemagglutination-inhibition and neutralization antibodies against Tahyna virus in Valencia. *Abstr. 3rd Int. Congr. Virol.*, 1975, 224.
12. VERANI (P.). — *Com. pers.*, 1979.

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE
DES ARBOVIRUS EN CENTRAFRIQUE :
MANIFESTATION DU VIRUS CHIKUNGUNYA
AU COURS DES ANNÉES 1978 & 1979**

Par J.-F. SALUZZO (*), J.-P. GONZALEZ (**), J.-P. HERVÉ (**)
& A. J. GEORGES (*) (***)

Le virus Chikungunya, arbovirus du groupe A de Casals (3), a été isolé pour la première fois par Ross (17) au Tanganyika en 1952 au cours d'une épidémie simulant la dengue. Il a été retrouvé en Afrique à plusieurs reprises chez l'homme et les moustiques : en Ouganda (12), au Congo (15), en Rhodésie (13), en Angola (8), en Afrique du Sud (9), au Sénégal (16) et au Nigeria (14).

En Centrafrique ce virus a été isolé pour la première fois en 1968 d'un prélèvement humain par DIGOUTTE (7) et en 1978, à plusieurs reprises, d'*Aedes (Stegomyia) africanus* Theobald et d'*A. (S.) opok*. Corbet et Van Someren (19).

Au cours de l'année 1978 une souche a été isolée d'un malade fébrile et 33 souches à partir d'*Aedes* du groupe *africanus* récoltés dans les environs du village de Bozo (centre-sud de la Centrafrique) au cours d'un programme de surveillance virologique continue parmi les populations culicidiennes anthropophiles. Ces isollements ont été obtenus pendant la première moitié de la saison des pluies de juillet à septembre.

Plusieurs conversions sérologiques ont été en outre décelées chez des malades au cours de cette même année et durant les 5 premiers mois de l'année 1979 dans différentes localités du sud du pays.

(*) Institut Pasteur de Bangui, BP 923, R. C. A.

(**) O. R. S. T. O. M., BP 893, Bangui, R. C. A.

(***) Séance du 11 juin 1980.