

## Approche intégrée de la surveillance de la fièvre jaune : étude pilote au Sénégal en 2003-2004.

O. Faye (1), M. Diallo (1), I. Dia (1), Y. Ba (1), O. Faye (1, 3), M. Mondo (1), R. Sylla (1), P.C. Faye (2) & A.A. Sall (1)

(1) Institut Pasteur de Dakar, 36 avenue Pasteur, BP 220, Dakar, Sénégal. Tél. : 221 839 92 23, fax : 221 839 92 10, e-mail : asall@pasteur.sn

(2) Ministère de la santé et de la prévention médicale, Fann résidence, rue Aimé-Césaire, BP 25955, Dakar, Sénégal.

(3) Université Cheikh-Anta-Diop, Dakar, Sénégal.

Manuscrit n° 3003. "Épidémiologie". Reçu le 1<sup>er</sup> septembre 2006. Accepté le 31 octobre 2006.

**Summary:** Integrated approach of yellow fever surveillance: pilot study in Senegal in 2003-2004.

The aim was to undertake a pilot study of integrated surveillance of yellow fever (YF) in Senegal, based on i) a human surveillance involving healthcare centers in the 11 administrative regions of the country ii) an entomological surveillance including domestic and sylvatic environment and iii) screening mosquitoes for YF virus using RT-PCR method. The integrated approach of human and entomological surveillance was conducted for 2 years (2003-2004). Surveillance in human population was based on screening samples of YF suspected cases (i.e. patients with acute ( $\leq 15$  days) febrile illness with jaundice) for YF specific IgM antibodies. The entomological surveillance was carried out by collecting mosquitoes using human landing catch method and attempt to detect YF virus on them by RT-PCR. Forty five percent of the healthcare centres notified at least one suspected YF case during 2003-2004 periods. Among the 342 sera collected over 2 years, 2 revealed anti-YF IgM antibodies leading to investigations which allowed identification of the source and place of infection and implementation of a reactive focused YF immunization campaign. In addition, YFV was detected by RT-PCR from 49 out of 1762 mosquitoes tested and distributed as follows: in the sylvatic environment, 29 from *Aedes furcifer* and 1 from *Aedes aegypti* while in the domestic area, 15 *Aedes aegypti* and 4 *Aedes furcifer*. RT-PCR was found more sensitive and rapid than viral isolation for YF virus detection in mosquitoes. The pilot study in Senegal for YF surveillance integrating human and entomological parameters in domestic and sylvatic areas showed that this approach is very efficient in detecting yellow fever virus circulation due to the complementarity of the two systems. Therefore, in the light of the encouraging results presented herein, similar studies in different context and areas are needed to further validate and allow the extension of its application to other endemic regions of Africa.

**Résumé :**

L'objectif de ce travail était de mener au Sénégal, pendant la période 2003-2004, une étude pilote de la surveillance épidémiologique humaine et entomologique intégrée de la fièvre jaune (FJ). La surveillance humaine reposait sur le recrutement de cas suspects de FJ qui ont été confirmés au laboratoire par la recherche d'anticorps IgM anti-amaril. La surveillance entomologique a été faite à partir de captures de moustiques par des hommes volontaires, vaccinés contre le virus de la fièvre jaune. La présence de virus chez les moustiques a été recherchée par RT-PCR. Un total de 342 sérums a été collecté, puis testé. Deux cas de FJ ont été identifiés en 2003-2004. Les investigations complémentaires ont permis de retracer leur itinéraire et de mettre en œuvre une campagne de riposte. Le virus de la FJ a été détecté par RT-PCR chez 49 des 1762 moustiques testés : 29 à partir d'*Aedes furcifer* et 1 d'*Aedes aegypti* en milieu sauvage, tandis qu'en milieu domestique 15 *Aedes aegypti* et 4 *Aedes furcifer* ont été positifs. Nos résultats ont montré que la surveillance de la FJ intégrant le volet humain et entomologique en milieu domestique et sauvage a été une approche très appropriée, du fait de la complémentarité des deux volets. La RT-PCR permet d'améliorer la sensibilité et la rapidité de la détection du virus chez les moustiques. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour la valider et généraliser son application.

### Introduction

La fièvre jaune (FJ) est une maladie infectieuse aiguë virale transmise par des moustiques du genre *Aedes*. Elle constitue une menace pour la santé publique dans les zones tropicales d'Afrique et d'Amérique du Sud, où le virus responsable est endémique et ré-émerge régulièrement, même après de longues périodes de silence (15).

Le virus de la fièvre jaune (VFJ) est transmis selon un cycle selvatique, intermédiaire ou urbain (9). Le cycle selvatique se

produit dans les forêts tropicales, où le VFJ circule entre les singes et les moustiques sauvages : l'homme peut se contaminer lors de séjours en forêt. Le cycle intermédiaire a lieu dans les savanes humides ou semi-humides africaines et le virus qui circule entre les singes et les hommes en Afrique est transmis par des vecteurs sauvages (*Aedes furcifer*, *Aedes luteocephalus*, *Aedes africanus* et *Aedes bromeliae* entre autres) et domestiques (*Aedes aegypti*). Dans le cycle urbain, dont l'origine est généralement l'introduction du virus dans une agglomération, seul le vecteur domestique *Aedes aegypti* assure la transmis-

*Aedes aegypti*  
*Aedes furcifer*  
surveillance  
mosquito  
yellow fever  
RT-PCR  
Diourbel  
Koungheul  
Kaffrine  
Bambey  
Touba  
Kédougou  
Dakar  
Senegal  
Sub Saharan Africa

*Aedes aegypti*  
*Aedes furcifer*  
surveillance  
moustique  
fièvre jaune  
RT-PCR  
Diourbel  
Koungheul  
Kaffrine  
Bambey  
Touba  
Kédougou  
Dakar  
Sénégal  
Afrique intertropicale

sion. Outre cette dynamique basée sur la nature des vecteurs, la transmission du VFJ comporte une dimension spatiale qui a conduit CORDELLIER (3) à proposer un modèle incluant des zones d'endémicité et d'émergence du virus. Dans la zone d'endémicité, le virus circule en permanence ou selon un rythme saisonnier parmi les populations de vertébrés sauvages et les moustiques vecteurs, tandis que les épidémies humaines se produisent dans les zones d'émergence.

Entre 1965 et 2002, 5 épidémies majeures de FJ ont été rapportées au Sénégal : à Diourbel en 1965, avec 243 cas et 216 décès (2), en 1995 à Koungheul, avec 79 cas et 46 décès (21), en 1996 à Kaffrine, avec 128 cas et 60 morts (22), à Bambey en 2001, avec 14 cas et 11 décès (12) et à Touba en 2002, avec 134 cas et 35 morts (13). Outre ces épidémies, des cas sporadiques ont été décrits à Toubacouta en 1979 (7) et à Mékhé en 1981 (16). Toutes ces épidémies sont de type intermédiaire et ont eu lieu dans la partie centrale du pays qui est considérée comme la zone d'émergence épidémique de la FJ. Par ailleurs, un programme de surveillance entomologique dans le foyer de circulation selvatique du VFJ à Kédougou au Sénégal oriental a permis :

- d'isoler 734 souches de VFJ entre 1976 et 2002 ;
- de mettre en évidence un intervalle de 6 à 8 ans entre les amplifications selvatiques majeures du virus ;
- de remarquer que, depuis 1976, les épidémies au Sénégal ou dans les pays d'Afrique occidentale coïncidaient ou étaient précédées d'amplifications majeures du VFJ dans cette zone. Cette dernière observation a conduit TRAORÉ-LAMIZANA *et al.* (23) à considérer le site de Kédougou comme un excellent observatoire de la circulation de la FJ en Afrique de l'Ouest : ceci suggère qu'il pourrait être exploré comme un outil d'aide à la décision de vaccination des populations humaines en fonction la circulation de la FJ dans cette zone.

Malgré l'existence d'un vaccin efficace, la FJ a connu une recrudescence en Afrique au cours de ces dernières années (20, 19) à cause de la faible couverture vaccinale, qui est en moyenne de 45 % dans la plupart des pays (17). Puisque la surveillance reste la meilleure stratégie pour détecter précocement, prendre en charge et contrôler rapidement une flambée épidémique, elle a été renforcée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), dans la région africaine, avec la mise en place d'un réseau de laboratoires de diagnostic de la FJ, présent dans 15 des 33 pays à risque (19).

Dans un tel contexte, la surveillance de la FJ a été repensée au Sénégal et 3 innovations majeures ont été apportées. Tout d'abord, toutes les structures sanitaires du Sénégal ont été mises à contribution pour que les cas suspects de FJ soient systématiquement prélevés et testés au laboratoire pour confirmation du diagnostic clinique. Ensuite, pendant une année, une surveillance entomologique a été introduite sous la forme de captures domiciliaires de moustiques dans 2 régions pilotes, afin de rechercher si le virus circule chez les moustiques dans ces zones où la population humaine a été majoritairement vaccinée contre la FJ ou exposée à une épidémie et, le cas échéant, évaluer le risque d'épidémisation. Enfin, le VFJ a été recherché dans les populations de moustiques par la RT-PCR, pour évaluer la faisabilité d'une telle démarche dans la surveillance et disposer d'une réponse plus rapide que celle obtenue avec l'isolement viral.

Cet article rapporte les résultats obtenus en 2003 et 2004 avec cette nouvelle approche intégrée de surveillance de la FJ au Sénégal.

## Matériels et méthodes

### Organisation du système de surveillance humaine

Pour la surveillance de la FJ chez l'homme, un « cas suspect » est défini par « un ictere fébrile évoluant depuis 15 jours » (17). Lorsqu'un cas suspect a été identifié, une notification a été faite par les divers relais de la surveillance du Ministère de la santé et de la prévention médicale (MSPM), depuis la périphérie jusqu'au niveau central, à la Direction de la prévention médicale (DPM). Devant chaque cas, un prélèvement de sang veineux a été effectué et une fiche d'investigation remplie, puis transmise à la DPM et au laboratoire des arbovirus de l'Institut Pasteur de Dakar (IPD) pour la recherche d'anticorps de type IgM anti-amarils. Les résultats du laboratoire ont été ensuite envoyés à la DPM qui a assuré la rétro-information auprès du district et de la région médicale concernés. En présence d'un cas confirmé, une investigation multidisciplinaire (épidémiologique, entomologique et virologique) a été organisée pour évaluer l'étendue de l'épidémie.

### Détection des anticorps IgM anti-amarils

La recherche d'anticorps IgM anti-amarils a été effectuée par immuno-capture, à partir de sérums humains, selon la méthode décrite par LHUILLIER & SARTHOU (11). Un diagnostic différentiel a été effectué systématiquement, pour tous les échantillons reçus, en recherchant des anticorps IgM dirigés contre les virus Dengue 2, Chikungunya, fièvre de la Vallée du Rift, fièvre hémorragique de Crimée-Congo et West Nile. Les sérums positifs ont été confirmés par un titrage des anticorps IgM anti-amarils et par une deuxième méthode ELISA développée par les *Centers for Diseases Control* (CDC) (18).

### Système de surveillance entomologique

La surveillance entomologique de la fièvre jaune repose généralement sur deux approches :

- une recherche du virus chez les vecteurs culicidiens, afin de mettre en évidence sa circulation ;
- une estimation de la densité vectorielle, particulièrement celle d'*Ae. aegypti* sur la base de prospection des stades pré-imaginaux et de calcul d'indices (Breteau, Récipient, Maison, etc.) pour définir le risque épidémique dans une zone géographique donnée.

Au Sénégal, la surveillance entomologique de la FJ utilise ces deux approches, avec la recherche du virus chez des vecteurs selvatiques à Kédougou et l'estimation des indices de risque, lors des investigations épidémiques. Dans le cadre de la surveillance entomologique renforcée au cours de l'année 2003, outre le site de Kédougou qui est une zone de circulation selvatique du VFJ, les districts sanitaires de Koungheul, Bambey et Diourbel (figure 1) ont été choisis, car ils sont dans la zone d'émergence épidémique.

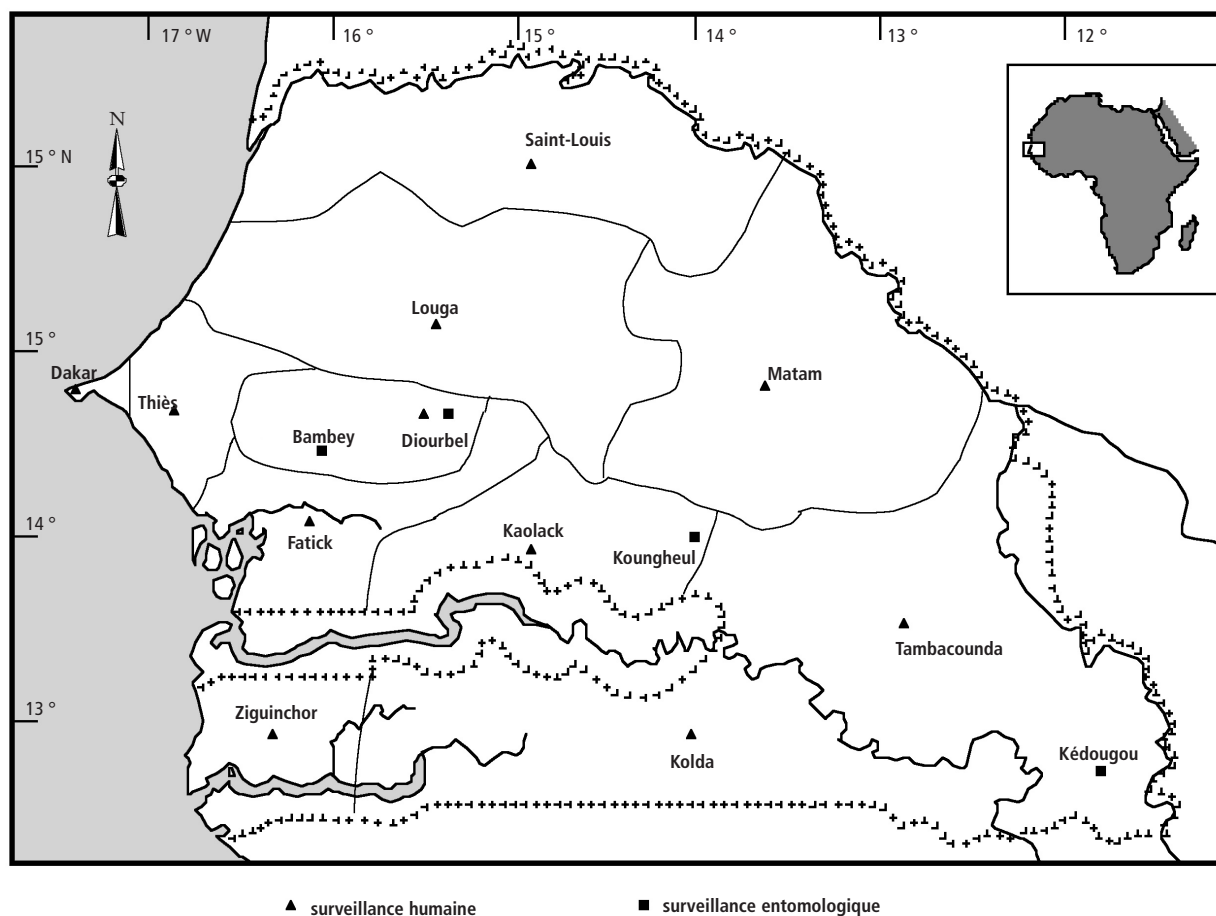
Dans ces districts, les moustiques sont capturés pendant deux à six jours au crépuscule (entre 17 h 30 et 21 h) par des volontaires vaccinés contre la FJ et sous prophylaxie anti-palustre. Les captures de moustiques ont été réalisées aux mois d'octobre et novembre, correspondant à la période d'amplification maximale du virus de la FJ (23). Les moustiques ont été identifiés sur une table froide, placés individuellement dans des tubes et conservés en azote liquide sur le terrain et à -80 °C, au laboratoire, jusqu'à leur utilisation pour l'isolement ou la RT-PCR.

### Recherche des virus par isolement et par RT-PCR

Pour déterminer la taille des lots à constituer pour la détection moléculaire du VFJ chez les moustiques capturés, des tests de mise au point ont été réalisés. Ainsi, des moustiques d'élevage ont été inoculés par voie intra-thoracique avec le

Figure 1.

Localisation des régions pour la surveillance de la fièvre jaune dans ses composantes culicidienne et humaine au Sénégal.  
 Geographical areas for yellow fever surveillance according to culicidian and human parameters in Senegal.



VFJ. Après un temps d'incubation de 15 jours, les moustiques ont été broyés individuellement dans 250 µl de milieu Leibovitz 15 (Gibco™, France) filtrés (Minisart<sup>®</sup>, RC 4, 0,20 µm, Sartorius, Goettingen, Germany) et 20 µl du filtrat ont été inoculés à une cupule de microplaque (Nunclon™, Danemark) contenant des cellules de lignée continue d'*Aedes pseudoscutellaris* (AP 61). Après 10 jours d'incubation à 28 °C, les cellules ont été colorées par immunofluorescence indirecte, selon la technique décrite par DIGOUTTE *et al.* (6) pour identifier les moustiques effectivement infectés. Ces derniers ont été utilisés pour déterminer le nombre minimal de moustiques infectés détectables par RT-PCR dans un lot. Ainsi, des broyats de moustiques, infectés ou non, ont été mélangés en lots de 10 dans des proportions qui permettent d'avoir 1 à 10 moustiques infecté(s) par lot. Ensuite, chaque mélange a été testé par RT-PCR.

Lorsque la méthode de criblage par RT-PCR a été optimisée, la recherche du VFJ chez les moustiques a été effectuée parallèlement par isolement viral et RT-PCR, pour une partie de la population de moustiques capturés dans chaque site. Seuls les vecteurs connus du VFJ ont été testés et, pour chaque espèce, les individus ont été sélectionnés par tirage au sort. Par ailleurs, deux espèces (*Ae. vexans* et *Cx. decens*), non connues comme vecteurs de la FJ, ont été testées comme témoin. Pour tester les moustiques par RT-PCR, ils sont broyés individuellement dans du milieu de Leibovitz 15, puis regroupés en mélanges de 1 à 10 surnageants. Chaque mélange de broyats est ensuite réparti en 2 fractions destinées respectivement à la RT-PCR et à l'isolement viral. La recherche du virus sur les lots ainsi constitués a été effectuée par isolement viral sur cul-

ture d'une lignée des cellules AP61, selon la technique décrite par DIGOUTTE *et al.* (6) et par RT-PCR selon la méthode de BROWN *et al.* (1). Pour chaque mélange trouvé positif par RT-PCR, le broyat initial de chaque individu a été testé séparément, pour confirmer l'infection et évaluer le nombre exact de moustique(s) infecté(s) dans chaque mélange.

## Résultats

### Surveillance de la fièvre jaune dans les populations humaines

Les résultats de la surveillance de la FJ, au niveau de la population humaine dans les 56 districts des 11 régions médicales en 2003 et 2004, sont résumés dans le tableau I.

Trois cent quarante-deux échantillons ont été collectés pendant cette période et la majorité provenait des régions de Dakar (50 %) et de Diourbel (27 %). Au niveau des districts sanitaires, 24/56 (43 %) et 21/56 (38 %) ont notifié au moins un cas suspect de FJ en 2003 et 2004 respectivement. Au cours de cette période, des anticorps IgM anti-amarils ont été détectés chez deux patients. Le premier, âgé de 35 ans, de sexe masculin, avait été hospitalisé en 2003 dans un hôpital public à Dakar, mais l'enquête menée a montré que les IgM anti-amarils observés chez ce cas étaient très probablement liés à une vaccination (8). Le second patient, également de sexe masculin et âgé de 41 ans, avait été hospitalisé, suite à une asthénie et des céphalées, au centre de santé de Touba (région de Diourbel) pendant 10 jours et avait développé une fièvre avec ictère. Deux sérums prélevés pendant les phases

Tableau I.

Résultats de la surveillance de la fièvre jaune au niveau des districts sanitaires du Sénégal en 2003 et 2004.

Results of yellow fever surveillance in sanitary districts in Senegal in 2003 and 2004.

région médicale	2003			2004		
	D/R	E	positifs en IgM	D/R	E	positifs en IgM
Dakar	8/8	96	1	6/8	75	0
Diourbel	2/4	17	0	2/4	77	2
Fatick	2/6	13	0	1/6	1	0
Kaolack	1/4	1	0	0/4	6	0
Kolda	1/4	2	0	0/4	1	0
Louga	3/5	6	0	3/5	5	0
Matam	1/3	1	0	1/3	1	0
Saint-Louis	1/4	2	0	0/4	3	0
Tambacounda	1/6	1	0	1/6	2	0
Thiès	1/8	3	0	5/8	12	0
Ziguinchor	3/4	10	0	2/4	7	0
<b>total</b>	<b>24/56</b>	<b>152</b>	<b>1</b>	<b>21/56</b>	<b>190</b>	<b>2</b>

D = nombre de districts sanitaires ayant notifié au moins un cas

R = nombre total de districts sanitaires de la région médicale

E = nombre d'échantillons reçus

aiguë et de convalescence de la maladie ont révélé la présence d'IgM anti-amaril à des titres de 1 600 et 800 respectivement. L'enquête réalisée pour ce second cas a indiqué qu'il résidait dans la banlieue de Dakar et rendait régulièrement visite à sa famille à Touba et qu'aucune personne dans son environnement immédiat à Dakar ou Touba n'avait été en contact avec le virus amaril (12). Le diagnostic différentiel effectué systématiquement pour tous les échantillons reçus n'a pas révélé la présence d'anticorps IgM dirigés contre les virus Dengue 2, Chikungunya, fièvre de la Vallée du Rift, fièvre hémorragique de Crimée-Congo et West Nile.

### Surveillance de la circulation du virus dans les populations culicidiennes

Les résultats de la surveillance entomologique sont résumés dans le tableau II.

Au total, 4 199 moustiques ont été collectés dans les 4 districts sanitaires visités, avec une large prédominance d'*Ae. aegypti* et d'*Ae. furcifer*, qui ont constitué 86 % de l'effectif. *Ae. furcifer* (78 %) a été majoritaire à Kédougou, tandis qu'*Ae. aegypti* a été plus fréquent à Kounghoul (95 %), Bambey (98 %) et Diourbel (86 %). Les moustiques capturés ont été testés par RT-PCR, avec un seuil de détection d'un moustique positif dans un lot de 10 (figure 2).

Dans chacun des sites, au moins un tiers des effectifs de moustiques a été testé. C'est ainsi que 1 762 moustiques, soit 44 % de l'effectif capturé, ont été répartis en 230 lots mono-spécifiques d'une taille maximale de 10 moustiques et testés par RT-PCR et par isolement sur culture cellulaire. Le génome du VFJ a été détecté dans 14 lots correspondant à 49 spécimens (30 à Kédougou et 19 à Kounghoul), à partir desquels il n'a pas été possible d'isoler le virus sur culture cellulaire AP 61.

Tableau II.

Résultats de la surveillance entomologique de la fièvre jaune au niveau de 4 districts sanitaires du Sénégal en 2003.

Results of entomological surveillance of yellow fever in the 4 sanitary districts in Senegal in 2003.

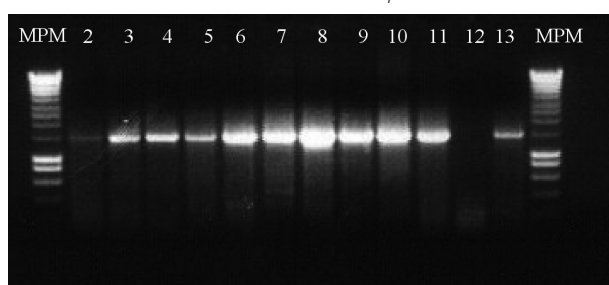
espèces de moustiques	districts sanitaires												total		
	Kédougou			Kounghoul			Bambey			Diourbel			C	T	P (%)
	C	T	P (%)	C	T	P (%)	C	T	P (%)	C	T	P (%)			
<i>Ae. aegypti</i>	33	5	1 (20)	471	465	15 (3)	423	120	0 (0)	317	82	0 (0)	1 244	672	16 (2)
<i>Ae. furcifer</i>	2 290	702	29 (4)	18	8	4 (50)	7	6	0 (0)	48	23		2 363	739	33 (4)
<i>Ae. luteocephalus</i>	317	160	0 (0)	1	1	0 (0)	0	0	-	0	0	-	318	161	0 (0)
<i>Ae. taylori</i>	258	184	0 (0)	0	0	-	0	0	-	0	0	-	258	184	0 (0)
<i>Ae. metallicus</i>	8	4	0 (0)	0	0	-	1	0	0 (0)	3	0	-	12	4	0 (0)
autres espèces*	1	1	0 (0)	3	1	0 (0)	0	0	-	0	0	-	4	2	0 (0)
<b>total</b>	<b>2 907</b>	<b>1 056</b>	<b>30 (3)</b>	<b>493</b>	<b>475</b>	<b>19 (4)</b>	<b>431</b>	<b>126</b>	<b>0 (0)</b>	<b>368</b>	<b>105</b>	<b>0 (0)</b>	<b>4 199</b>	<b>1 762</b>	<b>49 (3)</b>

C = nombre de moustiques capturés / T = nombre de moustiques testés / P = nombre de moustiques positifs / \* *Aedes vexans*, *Culex decens*

Figure 2.

Expérience de mise au point pour déterminer la taille des lots à constituer pour tester les moustiques capturés.

Development of experiment to determine the size of lots to test the collected mosquitoes.



lot	N mos +	N mos -	résultat PCR	photo
lot 1	1 (20 µl)	9 (180 µl)	+	ligne 2
lot 2	2 (40 µl)	8 (160 µl)	+	ligne 3
lot 3	3 (60 µl)	7 (140 µl)	+	ligne 4
lot 4	4 (80 µl)	6 (120 µl)	+	ligne 5
lot 5	5 (100 µl)	5 (100 µl)	+	ligne 6
lot 6	6 (120 µl)	4 (80 µl)	+	ligne 7
lot 7	7 (140 µl)	3 (60 µl)	+	ligne 8
lot 8	8 (160 µl)	2 (40 µl)	+	ligne 9
lot 9	9 (180 µl)	1 (20 µl)	+	ligne 10
lot 10	10 (200 µl)	0 (0 µl)	+	ligne 11
lot 11	0 (0 µl)	10 (200 µl)	-	ligne 12

N mos+ = nombre de moustiques positifs

N mos- = nombre de moustiques négatifs

MPM = marqueur de poids moléculaire

L'expérience indique que la RT-PCR détecte le VFJ à partir d'un mélange contenant 1 seul moustique infecté parmi 10 (ligne 2), puisque la bande détectée possède la taille attendue correspondant à celle qui est obtenue avec le témoin positif de l'expérience (ligne 13).

À Kédougou, où la galerie forestière et les villages environnants ont été les lieux de capture, un taux d'infection de 3 % a été obtenu. Les moustiques positifs provenaient tous de la galerie forestière.

À Kounghoul, où les captures ont eu lieu uniquement en milieu domestique, un taux d'infection de 4 % a été obtenu. L'analyse comparative des taux d'infection des populations de moustiques dans ces deux zones n'a révélé aucune différence significative ( $\chi^2 = 1,413$  à 1ddl,  $p = 0,2$ ). Cependant, les taux d'infection des deux espèces retrouvées associées au VFJ – *Ae. furcifer* et *Ae. aegypti* – ont été significativement différents à Kounghoul – où la tendance a été favorable à *Ae. furcifer* ( $\chi^2 = 44,628$  à 1ddl,  $p < 10^{-4}$ ) – mais pas à Kédougou ( $\chi^2 = 3,077$  à 1ddl, et  $p = 0,08$ ).

Par ailleurs, à la suite de l'identification d'un cas confirmé de FJ dans la région de Diourbel (voir surveillance de la FJ dans les populations humaines), l'investigation entomologique réalisée a permis de collecter 4 241 moustiques appartenant à 6 espèces et 3 genres, *Cx. quinquefasciatus* étant l'espèce dominante (92,6 %). *Ae. aegypti* (5,2 %) et *Ae. furcifer* (0,0007 %) étaient les seuls vecteurs connus de FJ. Aucun virus n'a pu être isolé de ces moustiques. Les prospections larvaires ont révélé des indices de Bre-



teau et Récipients largement au-dessus du seuil de risque épidémique.

## Discussion

La surveillance épidémiologique humaine et entomologique de la FJ au Sénégal en 2003 et 2004 a indiqué que le VFJ a circulé dans au moins trois régions (Diourbel, Kaolack et Tambacounda) (figure 1).

Le faible nombre de cas humains de FJ détectés indique que la définition des cas suspects de FJ est sensible mais pas assez spécifique. Compte tenu du fait que cette définition a été proposée récemment, en remplacement d'une définition de cas jugée trop spécifique, il est nécessaire de l'évaluer après quelques années d'utilisation, avant de pouvoir décider de sa pertinence. En juillet 2004, un cas sporadique de FJ a été identifié à Touba dans la région de Diourbel. Aucun cas secondaire n'a été rapporté à la suite du diagnostic de ce patient, probablement parce qu'une campagne de vaccination ciblée dans l'entourage du cas avait été effectuée et que la couverture vaccinale contre le virus amaril était supérieure à 95 % dans les zones où le patient avait séjourné (14). Dans un tel contexte, le patient a dû certainement s'infecter au contact des populations de moustiques infectés dans ces zones en dehors de toute flambée épidémique, comme ce fut le cas par exemple à Toubacouta en 1979 (7). Ce cas sporadique à Touba indique que le virus circule dans la zone et que des flambées épidémiques peuvent se produire lorsque des populations non vaccinées contre la FJ y affluent massivement, comme lors des pèlerinages annuels. En effet, de tels regroupements entraînent une très forte augmentation de la population et conduisent, non seulement à une diminution importante de la proportion de la population immunisée contre la FJ favorisant la dissémination du virus par les moustiques infectés présents dans la zone, mais aussi à l'extension du foyer épidémique à d'autres régions du Sénégal. Ce fut par exemple le cas en 2002, lorsque des cas de FJ avaient été confirmés à Diourbel, Fatick, Louga, Thiès, Kolda, Tambacounda et Dakar, à la suite de migrations de populations ayant séjourné dans cette zone (13). Le raisonnement présenté pour la situation à Touba – avec des rassemblements massifs et des migrations pour une courte période de populations non immunisées dans des zones endémiques pour le VFJ – peut être aussi valable dans d'autres régions d'Afrique, avec l'afflux de réfugiés par exemple. C'est pourquoi, dans les zones endémiques pour la FJ qui abritent de grands rassemblements de populations, il est essentiel de renforcer la surveillance de la FJ et la vaccination des populations immigrantes, même si la population résidente présente une couverture vaccinale élevée contre la FJ.

Les résultats préliminaires de la surveillance humaine de la FJ au Sénégal en 2003-2004, bien qu'encourageants en termes de performance dans la déclaration des cas pour les deux premières années, ne doivent pas occulter le fait que le système doit être amélioré pour ce qui est de la notification des cas d'ictères fébriles, puisque près de la moitié des districts sanitaires n'ont pas atteint le niveau de complétude d'un cas suspect par district et par an recommandé par l'OMS (19). Dans cette perspective, la sensibilisation des personnels de santé impliqués dans ces districts sur l'importance de la notification de cette pathologie à potentiel épidémique doit être une recommandation prioritaire et permanente.

La surveillance entomologique de la FJ présentée dans cette étude a permis de détecter par la RT-PCR la circulation du VFJ à Kounghoul et Kédougou. L'absence de confirmation

par isolement sur culture cellulaire du VFJ à partir des mêmes lots de moustiques positifs en RT-PCR peut s'expliquer par un problème de contamination entre les tubes lors de l'amplification, une mauvaise conservation des moustiques ou bien une sensibilité moindre de l'isolement viral par rapport à la RT-PCR. Il est très peu probable que les moustiques trouvés infectés par le VFJ soient le résultat d'une contamination lors de la RT-PCR car, outre les précautions usuelles prises pendant les manipulations pour les éviter (*i.e* séparations physiques des étapes pré et post RT-PCR, utilisation et changement réguliers d'embouts à filtres, broyages individuels des moustiques...), tous les lots positifs ont été confirmés en identifiant, à partir des broyats individuels, le ou les moustique(s) infecté(s) dans chaque mélange, alors que les autres moustiques du lot et les témoins négatifs de l'expérience restaient négatifs pour la présence de VFJ. Aussi, comme les moustiques ont été identifiés sur table froide et conservés dans de l'azote liquide sur le terrain, la mauvaise conservation des prélèvements ne peut pas expliquer l'absence d'isolement de virus. C'est pourquoi nous pensons que nos résultats traduisent plutôt une plus grande sensibilité de la RT-PCR par rapport à l'isolement viral. Cet argument est conforté par des observations similaires rapportées chez des patients ayant développé des signes cliniques de la FJ (5), mais aussi dans le cadre de la surveillance du virus West Nile chez les chevaux (10). Ces derniers auteurs ont montré que les limites inférieures de titre du virus West Nile détectables par isolement viral et RT-PCR étaient respectivement de  $10^{4,5}$  pfu/100  $\mu$ l et  $10^8$  pfu/100  $\mu$ l. À la lumière de ces résultats, il apparaît que la RT-PCR est une méthode sensible, fiable et rapide de criblage des moustiques dans la surveillance entomologique de la FJ, ce qui permet de fournir dans un délai assez court des informations sur la circulation du virus.

De plus, nos résultats montrent l'apport de la surveillance entomologique et l'intérêt de l'intégrer avec le système de surveillance humaine dont elle est complémentaire, puisqu'à Kounghoul, le virus a été détecté chez les moustiques en 2003, sans que des cas humains de FJ n'aient été rapportés. Cependant, cette étude pilote d'intégration des deux systèmes de surveillance n'a été effectuée que dans trois districts et encourage à mener une évaluation plus large de ce modèle.

Aussi, nos résultats montrent non seulement que le virus circule dans cette zone où la majorité de la population est immunisée contre la FJ, mais aussi indique que la surveillance entomologique de la FJ pourrait être utilisée pour estimer les risques d'épidémies dans les zones contiguës où les populations humaines n'ont pas été vaccinées. Cette possibilité d'évaluer les risques de flambées est d'autant plus importante que les épidémies de FJ, en 1996 et en 2002, s'étaient déclarées respectivement à Kaffrine (22) et Touba (12), qui étaient situées à la limite des zones vaccinées l'année précédente.

Par ailleurs, l'approche de surveillance entomologique utilisée à Kédougou a permis de mettre en évidence la circulation du VFJ dans la forêt galerie, en dehors des périodes d'amplifications majeures pendant lesquelles plusieurs dizaines de souches sont isolées. Cette observation suggère que le virus circule toujours à bas bruit en forêt et que son activité est détectable avec des outils sensibles, tels que la RT-PCR. En outre, elle nous a conduit à l'hypothèse qu'il existe un seuil de circulation selvatique qui, une fois atteint, entraîne une circulation à grande échelle du virus, notamment au niveau de la sous-région ouest africaine; ceci pourrait expliquer que les épidémies majeures en Afrique occidentale coïncidaient avec les amplifications de grande amplitude du VFJ à Kédougou (23). En somme, notre étude montre, qu'à Kounghoul et Kédougou, la surveillance entomologique et humaine de la

FJ sont complémentaires et synergiques pour la prévention et le contrôle de la FJ à l'échelle locale et sous-régionale et encourage d'étendre cette approche à d'autres sites.

Dans cette perspective, nos résultats donnent des indications sur les zones et les espèces de moustiques à cibler pour un programme de surveillance entomologique au Sénégal. Du fait des niveaux d'infection comparables des moustiques entre les milieux domestique et selvatique, la surveillance entomologique doit inclure au moins ces deux milieux. À Kédougou et Koungheul, le VFJ a été trouvé associé à *Ae. aegypti* et *Ae. fuscifer* dans des contextes de silence, suggérant que ces deux espèces pourraient jouer un rôle important dans le cycle de maintien du virus dans la nature et, à ce titre, elles doivent être toutes les deux des cibles de cette surveillance entomologique. De plus, elles ont la particularité d'être présentes dans les habitats domestique et sauvage et cette étude a montré leur présence dans toutes les localités prospectées (tableau II). Dans la région ouest africaine, *Ae. aegypti* et *Ae. fuscifer* sont souvent associées aux épidémies, selon une transmission de type intermédiaire qui est la plus courante (9, 21, 22). Une analyse plus approfondie des résultats suggère qu'*Ae. fuscifer* doit être la cible prioritaire de la surveillance entomologique, même si les schémas épidémiologiques généralement admis ne recommandent qu'*Ae. aegypti*, car il est le vecteur épidémique (3). Plusieurs arguments confortent cette hypothèse :

– le taux d'infection d'*Ae. fuscifer* a été plus élevé ou comparable à celui d'*Ae. aegypti*, respectivement à Koungheul et à Kédougou ;

– *Ae. fuscifer* est plus facile à capturer selon les méthodes d'échantillonnage disponibles actuellement car il est bien représenté dans les milieux domestique et selvatique et son comportement plus anthropophile en forêt constitue un avantage par rapport à *Ae. aegypti*, qui y est connu pour ses tendances plutôt zoophiles (4) ;

– contrairement à *Ae. fuscifer*, *Ae. aegypti* n'a jamais été trouvé associé aux épizooties de FJ selvatique.

Afin de confirmer cette hypothèse, des études complémentaires dans d'autres pays d'Afrique occidentale sont nécessaires.

## Conclusion

Cette étude préliminaire montre qu'une approche de surveillance de la FJ intégrant un volet humain et entomologique devrait conduire, non seulement à une détection plus précoce et exhaustive des épidémies et, par conséquent, à un contrôle plus efficace de cette maladie, mais aussi pourrait aider à améliorer les connaissances sur les mécanismes de maintien du virus dans la nature et la prévention des émergences.

## Remerciements

Nous remercions particulièrement tous les médecins chefs de district et Peinda Ogo LY, doctorante à l'Institut Pasteur de Dakar, de leur collaboration pour la réalisation de ce travail. Celui-ci a été réalisé grâce au soutien financier de la fondation *Wellcome Trust* (financement 069552).

## Références bibliographiques

- BROWN TM, CHANG GJ, CROPP CB, ROBBINS KE & TSAI TF – Detection of Yellow fever virus by polymerase chain reaction. *Clin Diag Virol*, 1994, 2, 41-51.
- CHAMBON L, WONE I, BRES P, CORNET M, CIRE L et al. – Une épidémie de fièvre jaune au Sénégal en 1965. *Bull Organ Mond Santé*, 1967, 36, 113-150.
- CORDELLIER R – Epidemiology of Yellow fever in West Africa. *Bull Organ Mond Santé*, 1991, 69, 73-84.
- CORNET M, CHATEAU R, VALADE M, DIENG PY, RAYMOND H & LORAND A – Données bio-écologiques sur les vecteurs potentiels de virus amaril. *Cahier ORSTOM Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 1978, 16, 315-341.
- DEUBEL V, HUERRE M, CATHOMAS G, DROUET MT, WUSCHER N et al. – Molecular detection and characterization of yellow fever virus in blood and liver specimens of a non-vaccinated fatal human case. *J Med Virol*, 1997, 53, 212-217.
- DIGOUTTE JP, CALVO-WILSON MA, MONDO M, TRAORE-LAMIZANA M & ADAM F – Continuous cell lines and immune ascitic fluid pools in arbovirus detection. *Res Virol*, 1992, 143, 417-422.
- DIGOUTTE JP, PLASSART H, SALAUN JJ, HEME G, FERRARA L & GERMAIN M – À propos de trois cas de fièvre jaune contractée au Sénégal. *Bull Organ Mond Santé*, 1981, 59, 759-766.
- DIOP OM, NDIAYE M, SALL AA & FAYE O – *Activités du laboratoire des arbovirus et virus des fièvres hémorragiques*. Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar, 2003, 17-25.
- GERMAIN M, FRANCY DB, FERRARA L, SANYANG Y, MONATH TP et al. – Yellow fever in the Gambia, 1978-1979: entomological aspects and epidemiological correlations. *Am J Trop Med Hyg*, 1980, 29, 929-940.
- JOHNSON DJ, OSTLUND EN, PEDERSEN DD, SCHMITT BJ – Detection of North American West Nile Virus in Animal Tissue by a Reverse Transcription-Nested Polymerase Chain Reaction Assay. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7, 739-741.
- LHUILIER M & SARTHOU JL – Intérêt des IgM anti-amariles dans le diagnostic et la surveillance épidémiologique de la fièvre jaune. *Annales de Virologie de l'Institut Pasteur*, 1983, 134<sup>e</sup>, 349-359.
- MINISTÈRE DE LA SANTÉ DU SÉNÉGAL – *Fièvre jaune dans la région de Diourbel, Sénégal*. Rapport de mission effectuée du 18 au 23 Décembre 2001 par l'Institut Pasteur de Dakar, Service National des Grandes endémies, Institut de Recherche pour le Développement et Université Cheikh Anta Diop, 2002.
- MINISTÈRE DE LA SANTÉ DU SÉNÉGAL – *Rapport conjoint OMS/IPD/MSPM sur la gestion de l'épidémie de la fièvre jaune au Sénégal*, juillet 2003.
- MINISTÈRE DE LA SANTÉ DU SÉNÉGAL – *Rapport conjoint MSPM/OMS et IPD sur l'investigation de l'épidémie de fièvre jaune dans les districts sanitaires de Touba, de Pikine et de Dakar centre*, août 2004.
- MONATH TP – Yellow fever: an update. *Lancet Inf Dis*, 2001, 1, 11-20.
- OMS – Surveillance de la fièvre jaune au Sénégal. *Rel épid hebdom*, 1982, 22, pp 22.
- OMS, BUREAU RÉGIONAL POUR L'AFRIQUE – Lutte contre la fièvre jaune en Afrique : Progrès, contraintes et défis. *Bulletin des maladies évitables par la vaccination*, 2003, 31.
- OMS – *Manual for the monitoring of yellow fever virus infection. Immunization, vaccines and biologicals*. Avril 2004.
- OMS – Progrès de la lutte contre la fièvre jaune en Afrique. *Rel épid hebdom*, 2005, 80, 49-60.
- ROBERTSON SE, HULL BP, TOMORI O, BELE O, LEDUC JW & ESTEVES K – Yellow fever, a decade of reemergence. *JAMA*, 1996, 276, 1157-1161.
- THONNON J, FONTENILLE D, TALL A, DIALLO M, RENAUDINEAU et al. – Re-emergence of yellow fever in Senegal in 1995. *Amer J Trop Med Hyg*, 1998, 59, 108-114.
- THONNON J, SPIEGEL A, DIALLO M, SYLLA R, FALL A et al. – Yellow fever outbreak in Kaffrine, Senegal 1996: epidemiological and entomological findings. *Trop Med Int Health*, 1998, 3, 872-877.
- TRAORE-LAMIZANA M, FONTENILLE D, ZELLER HG, MONDO M, DIALLO M et al. – Surveillance for yellow fever virus in Eastern Senegal during 1993. *J Med Entomol*, 1996, 33, 760-765.