

Epidémies à virus Chikungunya en 1996 et 1997 au Sénégal.

J. Thonnon (1), A. Spiegel (1), M. Diallo (1), A. Diallo (2) & D. Fontenille (3)

(1) Institut Pasteur de Dakar, BP 220, Dakar, Sénégal.

(2) Population et santé, Institut français de recherche et développement (ex-ORSTOM), BP 1386, Dakar, Sénégal.

(3) Laboratoire de zoologie médicale à l'Institut Pasteur de Dakar. (ORSTOM), BP 1386, Dakar, Sénégal.

Manuscrit n°1965. "Virologie". Reçu le 30 juin 1998. Accepté le 1er février 1999.

Summary: Chikungunya Virus Outbreaks in Senegal in 1996 and 1997.

Chikungunya disease is generally recognized in Africa by serosurveys conducted in rural areas. Epidemics are rarely documented. We report two outbreaks in Senegal: one having occurred near Kaffrine in 1996 during an epidemic of yellow fever (YF), the second in Niakhar in 1997. Both diagnoses were conducted by IgM antibodies captures and confirmed by virus isolations.

In Kaffrine, a randomised study was carried out on 447 blood donors whose serum was systematically tested for the most frequently encountered arboviruses in Senegal. The incidence rate was higher for the unrecognized Chikungunya infection (35,3%) than for the notified YF infection (21%).

In Niakhar, Chikungunya infection was initially detected through three cases having occurred in health workers. A serosurvey was then conducted to define the area of prevalence.

We report the clinical forms of Chikungunya virus infections, the interest in detecting IgM for recent arbovirus infections and the duration of these IgM. The difficulties of diagnosis of Chikungunya infection in malaria endemic areas are stressed. The occurrence of arbovirus infections, Yellow fever and Chikungunya viruses, transmitted by the same vectors (*Aedes aegypti*) in Kaffrine are also discussed.

Résumé :

En Afrique tropicale, l'affection à virus Chikungunya est reconnue sous forme endémique en zones rurales par des enquêtes de séroprévalence. Les formes épidémiques de l'affection sont rarement signalées. Nous rapportons deux épidémies à virus Chikungunya, qui sont survenues en zone rurale au Sénégal. La première à Kaffrine en novembre 1996, reconnue au décours d'une épidémie de fièvre jaune, la seconde à Niakhar en février 1997. Leurs particularités cliniques, sérologiques et épidémiologiques sont discutées.

Key-words: Chikungunya - Mac-Elisa - *Aedes aegypti* - Epidemic - Virus - Arbovirus - Senegal - West Africa

Mots-clés : Chikungunya - Mac-Elisa - *Aedes aegypti* - Epidémie - Virus - Arbovirus - Sénégal - Afrique de l'Ouest

Introduction

Le virus Chikungunya (CHIK) est un arbovirus de la famille des *Togaviridae*, genre *Alphavirus*. ROBINSON (12) rapporta la première épidémie survenue en 1952 au Tanganyika et en décrit les principales caractéristiques cliniques que sont la fièvre, l'éruption et les atteintes articulaires. Cette dernière atteinte a donné son nom à la maladie, "Chikungunya" signifie "courbé en avant" en souahéli. L'affection est reconnue comme sévissant sous forme endémique en zones rurales d'Afrique tropicale, et sous forme épidémique dans des populations non immunes, en particulier urbaines (Afrique, Inde, Vietnam) (2).

Nous rapportons deux épidémies à virus Chikungunya qui sont survenues en zone rurale au Sénégal : la première à Kaffrine en novembre 1996, reconnue au décours d'une épidémie de fièvre jaune, la seconde à Niakhar en février 1997. Leurs particularités cliniques, sérologiques et épidémiologiques sont discutées.

Matériels et méthodes

Données géographiques et humaines

La région de Kaffrine (14,05°N 15,51°O) est située à 300 km au sud-est de Dakar, celle de Niakhar (14,51°N, 16,43° O) à 150 km à l'est de Dakar. Dans cette bourgade de 2000 habitants est installée la base administrative d'une station de recherche médicale et démographique. Les deux zones ont une végétation de type savane arborée (figure 1).

Investigations épidémiologiques

Définitions

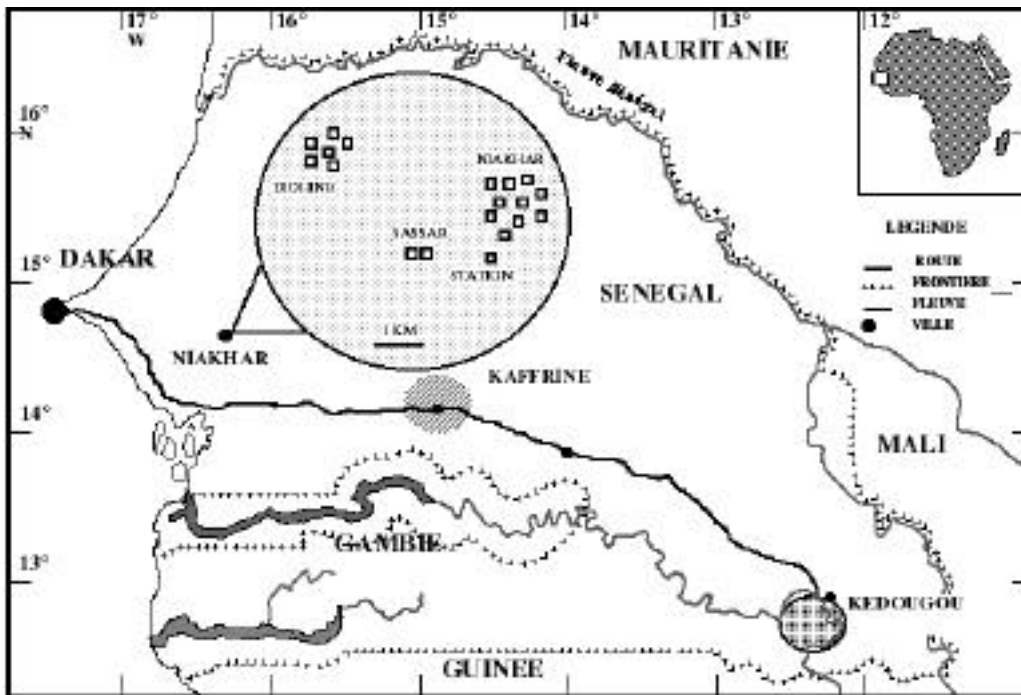
Un sujet porteur d'IgM spécifiques a été considéré comme ayant eu une infection récente vis-à-vis de cet arbovirus.

Un sujet a été supposé immun avant l'épidémie vis-à-vis d'un d'arbovirus si, au moment de l'investigation, son profil sérologique était du type IgG+/ IgM-.

Figure 1.

Carte du Sénégal avec les zones épidémiques de Niakhar et de Kaffrine et le site de surveillance entomologique de Kédougou.

Map of Senegal with epidemic zones of Niakhar and Kaffrine and the site of entomological surveillance of Kedougou.



Un sujet a été supposé non immun avant l'épidémie vis-à-vis d'un d'arbovirus si, au moment de l'investigation, il était porteur d'IgM (infection récente) ou dépourvu d'IgG (pas de contact antérieur).

Kaffrine

En novembre 1996, une épidémie de fièvre jaune a sévi dans la zone de Kaffrine. Les investigations comprenaient : une détection active de cas et une enquête sérologique à partir d'un échantillon représentatif de la population. La recherche systématique dans cet échantillon des IgM vis-à-vis de différents arbovirus, autres que le virus amaril, a permis la découverte fortuite d'une circulation du virus Chikungunya.

Niakhar

Trois cas groupés d'infection à virus Chikungunya chez des personnels de santé travaillant à la station de recherche de Niakhar ont conduit à une enquête clinique et sérologique dans la sous-préfecture de Niakhar.

Observations cliniques

Observation 1

Infirmière de 37 ans, expatriée, en poste depuis 4 ans à Niakhar. Le 9 février 1997 survenait brutalement une fièvre associée à des céphalées, des arthralgies (membres inférieurs, lombes) et une asthénie importante. Le lendemain apparaissait une éruption maculo-papuleuse des membres et du thorax, qui dura deux jours. La patiente a consulté au sixième jour devant la persistance des arthralgies et de l'asthénie. L'examen clinique et le bilan biologique standard étaient normaux : goutte épaisse négative, absence d'IgM anti Chikungunya. Le tableau clinique évoquant une arbovirose, la patiente a été revue 4 jours plus tard, un nouveau prélèvement a attesté la présence d'IgM anti CHIK. Un syndrome du canal tarsien droit, insensible aux anti-inflammatoires non stéroïdiens et aux infiltrations de corticoïdes, a persisté jusqu'en juin 1997.

Observation 2

Sujet africain de 36 ans, travaillant sur le même site, qui a développé le 9 février 1997, un tableau algo-fébrile sans éruption, traité comme un accès paludéen. Prélevé le 14 février, le patient était porteur d'IgM anti CHIK. Après une récurrence fébrile au huitième jour, le sujet a guéri sans complication articulaire.

Observation 3

Sujet africain de 40 ans, qui a présenté, le 8 février 1997, un tableau fébrile brutal avec céphalées, lombalgies, herpès labial, de résolution brève en deux jours. Prélevé 7 jours plus tard, il était porteur d'IgM anti CHIK.

Enquête sérologique

Les 4 sites étudiés ont été : la station de recherche, le village de Niakhar, l'école de Sassar jouxtant la station et le dispensaire de Dihine, drainant les consultants de la sous-préfecture (figure 1).

Les prélèvements ont été obtenus le 26 février pour les personnels de la station et les élèves de l'école de Sassar, et du 3 au 8 mars pour l'échantillon représentatif des villageois de Niakhar, constitué par tirage au sort des concessions. De plus,

entre le 24 février et le 7 mars 1997, les consultants fébriles du dispensaire de Dihine ont été inclus. L'étude a porté, au total, sur 576 personnes. Le 7 mai 1997, une seconde enquête a concerné 77 enfants de l'école de Sassar pour apprécier la persistance de la circulation virale et la durée de vie des IgM.

Méthodes sérologiques

La détection des IgM a été réalisée par une technique d'immuno-capture, adaptée de celle décrite pour les IgM anti amariles (9). Brièvement, une dilution au 1/100° du sérum en tampon PBS - Tween 20 0,5 % - Lait 1 % est déposée sur une plaque de 96 cupules sensibilisée par un immun sérum anti chaîne μ humaine (Cappel). Le temps d'incubation de chaque étape est d'une heure à 37°C, suivi par 3 lavages en PBS Tween. Sont ajoutés successivement : l'antigène CHIK préparé sur cerveau de souris et inactivé à la β -propiolactone, l'immuno ascite de souris anti CHIK, un immun sérum de chèvre anti souris conjugué à la peroxydase (Cappel), puis le substrat (O-toluidine Sigma). La densité optique (DO) est déterminée à 450 nm. Un sérum est considéré positif si la DO est supérieure à la DO moyenne d'une série de sérums négatifs majoré de 3 déviations standard.

Les IgG anti CHIK sont détectées par méthode Elisa sandwich. Le même antigène CHIK est capturé par une immune ascite de souris spécifique. Les anticorps de classe IgG spécifiques de CHIK sont révélés par un sérum anti IgG humain, adsorbé, conjugué à la peroxydase (Cappel). La révélation et le seuil de positivité sont déterminés de façon similaire. La correspondance avec la réaction de séroneutralisation a été contrôlée (donnée non présentée ici).

Méthodes entomologiques.

Deux techniques de piégeage ont été utilisées : capture crépusculaire sur appâts humains et pièges lumineux type CDC. Les moustiques ont été triés, mis en lots monospécifiques et conservés en azote liquide jusqu'aux tentatives d'isolement.

Isolements viraux

Ils ont été réalisés en parallèle sur cellules AP 61 et sur souche nouveau-né par voie intra-cérébrale selon des techniques décrites par DIGOUTTE *et al.* (4).

Tests statistiques

Deux tests ont été utilisés : χ^2 de Pearson et χ^2 de tendance.

Résultats

Epidémie de Kaffrine

L'étude sérologique a porté sur 447 sujets prélevés lors de l'épidémie de fièvre jaune de novembre 1996. L'infection à virus CHIK a été une découverte fortuite. Les taux d'incidence et les taux d'attaque de ces deux infections sont rapportés au tableau I. Pour chaque affection, les taux sont calculés en rapportant le nombre de sujets porteurs d'IgM au nombre de sujets testés (taux d'incidence) ou au nombre de sujets non immuns avant l'épidémie (taux d'attaque).

Tableau I.

Taux d'incidence et taux d'attaque des virus fièvre jaune (FJ) et Chikungunya (CHIK) à Kaffrine en 1996.
Incidence and attack rates of yellow fever virus and Chikungunya (CHIK) in Kaffrine in 1996.

classe d'âge	testés	non immuns avant l'épidémie		taux d'incidence %		taux d'attaque %	
		FJ	CHIK	FJ	CHIK	FJ	CHIK
0-9	141	99	123	34,0	66,0	48,5	75,6
10-19	115	61	59	30,4	40,0	57,4	78,0
> 20	191	16	30	5,8	9,9	68,8	63,3
total	447	176	212	21,0	35,3	53,4	74,5

Le taux d'incidence brute de l'infection à virus CHIK (35,3 %) est significativement plus élevé que celui de la fièvre jaune (21 %) ($p < 10^{-4}$). Les taux d'incidence des deux infections diminuent avec l'âge ($p < 10^{-6}$). Les taux d'attaque de la fièvre jaune et de l'infection à virus CHIK, respectivement de 53,4 % et de 74,5 %, diffèrent statistiquement ($p < 10^{-4}$). Cependant, les taux d'attaque selon l'âge ne sont pas significativement différents ni pour la fièvre jaune ($p = 0,24$) ni pour l'infection à CHIK ($p = 0,3$).

Epidémie de Niakhar

Les résultats des 576 personnes testées sont présentés selon les sites d'études dans le tableau II. Pour l'ensemble de l'échantillon, la prévalence des IgM, qui mesure l'incidence cumulée, était de 8,5 % en mars 1997. Elle variait considérablement selon le site : de 25,9 % à l'école de Sassar (tous les élèves avaient moins de 16 ans) à 3,1 % pour l'échantillon représentatif de la population de Niakhar. Une prévalence élevée (17,5 %) était aussi retrouvée parmi les personnels de la station. Les taux d'incidence et les taux d'attaque diffèrent significativement selon les sites : Sassar -Station d'une part et d'autre part : Niakhar-Diohine ($p < 10^{-4}$). Les sujets considérés

Tableau II.

Taux d'incidence et taux d'attaque en fonction du lieu. Niakhar, 1997.
Incidence and attack rates according to area. Niakhar, 1997.

lieu	échantillons testés		taux d'incidence			taux d'attaque	
	N°	non immun avant l'épidémie %	%	IC 95%	%	IC 95%	
Sassar	116	90	77,6	25,9	18,2 - 34,8	33,3	23,7 - 44,1
Station	40	23	57,5	17,5	7,3 - 32,8	30,4	13,2 - 52,9
Niakhar	353	201	56,9	3,1	1,6 - 5,6	5,4	2,8 - 9,6
Diohine	67	33	49,2	1,5	0,4 - 8,0	3,0	0,1 - 15,8
total	576	347	60,2	8,5	6,4 - 11,1	14,1	10,6 - 18,2

comme non immuns avant l'épidémie représentaient 60,2 % de l'effectif.

Le suivi sérologique a porté sur 77 enfants de l'école de Sassar, pour lesquels un second prélèvement a pu être obtenu 70 jours après la première sérologie. Aucune séroconversion n'a été notée. Sur 30 porteurs d'IgM anti CHIK en février, 5 seulement étaient porteurs en mai. A J60, les 3 patients étaient encore porteurs d'IgM CHIK. La patiente 1, qui a développé une forme compliquée, gardera des IgM jusqu'à J 95.

Résultats virologique et entomologique

Lors de l'épidémie de Kaffrine, 620 moustiques ont été capturés. *Aedes aegypti* constituait 47,2 % des moustiques capturés. Pour les tentatives d'isolement, les moustiques ont été répartis en 108 lots. A partir de lots constitués uniquement d'*Aedes aegypti*, le virus CHIK a été isolé 2 fois et le virus de la fièvre jaune une fois. De plus, 8 souches de virus amaril ont été isolées à partir des prélèvements humains (7).

Lors des investigations à Niakhar, le virus CHIK n'a été isolé ni des sérums des patients fébriles ni des lots de moustiques testés (34 *Aedes aegypti*).

Discussion

Le virus Chikungunya circule largement en Afrique inter tropicale. Ainsi ce virus est fréquemment isolé de vecteurs sauvages essentiellement du genre *Aedes* mais aussi des genres *Anopheles* et *Culex*. En zone forestière, l'existence d'un cycle selvatique entre des hôtes vertébrés (singes) et ces vecteurs sauvages (*Aedes furcifer*, *Aedes taylori*, *Aedes luteocephalus*) assure le maintien sous la forme d'une enzootie du virus (3). Comme pour le virus de la fièvre jaune avec qui il partage les mêmes hôtes et les mêmes vecteurs, le virus CHIK, à la faveur de modifications climatiques (pluies excessives ou prolongées), pourrait diffuser vers des zones de savanes arborées (dites zone d'émergence pour la fièvre jaune) (8). La transmission du virus CHIK serait alors assurée par des vecteurs à la fois sauvages et domestiques (*Aedes aegypti*). Les enquêtes séroépidémiologiques en population humaine réalisées dans différents pays d'Afrique témoignent de l'existence d'infections antérieures inapparentes. Ainsi, 39,8 % de la population de Niakhar était immune avant mars 1997 et 52,6 % des habitants de la zone de Kaffrine avant novembre 1996.

Si les épidémies de fièvre jaune ne passent pas inaperçues (11), à l'inverse la description d'épidémies liées au virus CHIK est plus rare. Au Sénégal, deux épidémies sont survenues en 1966 et 1982 (13, 14). Les manifestations cliniques des trois cas rapportés concordent avec les tableaux habituellement décrits : début brutal, fièvre modérée, céphalées, arthralgies et érythème. Bien que trois cas cliniques aient été observés, nous avons rapporté un cas compliqué de syndrome du canal tarsien, résolutif en 3 mois. Les atteintes articulaires sont les complications les plus fréquemment décrites et les plus évocatrices des affections à virus CHIK et aux virus de ce genre (*Alphavirus*). Le caractère frustré de la symptomatologie, sa brièveté (5 à 7 jours) et l'absence de létalité rendent difficile la détection des cas index. De plus, le diagnostic de ces infections virales frustrées survenant en zone d'endémie palustre est impossible sur des arguments cliniques. En outre, la fièvre peut passer inaperçue pour le patient en zone rurale tropicale (5). Pour Niakhar, ces 3 cas ont permis la reconnaissance de l'épidémie. La détection de ces cas et leur diagnostic ont été possibles car des conditions favorables étaient réunies : sujet

non immun, niveau socioculturel élevé, accès à des structures sophistiquées de soins et de diagnostic. A l'inverse, il a été impossible de rattacher, par l'interrogatoire et l'examen clinique, une symptomatologie évocatrice chez les porteurs, enfants ou adultes, d'IgM CHIK.

Pour Kaffrine, l'épidémie à virus CHIK a été une découverte fortuite lors de la recherche systématique des IgM vis-à-vis de différents arbovirus. Lors de l'investigation de l'épidémie de FJ en novembre 1997, les prélèvements ont été faits pour les cas typiques (fébrile ictéro-hémorragique) mais aussi pour les formes fébriles pures (non ictérique). Des sérums de ces malades, ont été isolées 8 souches de virus amaril et aucun virus CHIK. Ces arguments virologiques sont en faveur d'une épidémie non reconnue à virus CHIK antérieure à l'épidémie de fièvre jaune. Bien que passée inaperçue, l'infection à virus CHIK a affecté plus de sujets que celle du virus amaril (taux d'incidence : 35,3 % versus 21 %).

Les mêmes causes produisent-elles les mêmes effets ? Sur le site de Kédougou, une amplification du cycle selvatique des 2 virus est rapportée à partir de 1992 pour le virus CHIK et 1993 pour le virus FJ par l'augmentation du nombre de virus isolés à partir de moustiques capturés (16). Pour le virus CHIK, la transmission verticale n'a pas été prouvée, à l'inverse du virus de la fièvre jaune (5, 9). La persistance de la circulation du virus CHIK, à la suite de l'immunisation de la population simienne consécutive à l'augmentation de la transmission sylvatique, supposerait alors soit un déplacement du cycle d'amplification soit l'existence d'autres hôtes tels que rongeurs ou ruminants.

L'épidémie de fièvre jaune de Kaffrine en 1996, à 350 km, à l'ouest de Kédougou, était de type intermédiaire impliquant à la fois des vecteurs sauvages et domestiques (15). Ces mêmes vecteurs ont très probablement assuré, un ou au plus deux mois auparavant, compte tenu de la persistance des IgM, la transmission du virus CHIK dans cette zone. Si on estime l'immunité collective vis-à-vis d'un arbovirus donné par la séroprévalence d'anticorps de la classe d'IgG sans IgM, dans la population humaine, cette immunité avant épidémie était à Kaffrine de 60,7 % pour le virus FJ et de 52,6 % pour le virus CHIK. Cette proportion de sujets immunisés a été insuffisante pour empêcher la survenue des épidémies (1). L'extension du phénomène épidémique dépend aussi de facteurs favorisants concomitants. Ainsi, l'immunité de population était globalement plus faible à Niakhar (39,8%), mais l'épidémie se limitera strictement à la station et à l'école, ne diffusant ni dans le village de Niakhar, ni à distance (dispensaire de Diohine, éloigné de 12 km). L'infection des élèves, non immuns à 77,6 %, s'est probablement produite à la station. Elle est un lieu de détente et de repos sur le chemin entre l'école et le village. L'ombrage et le point d'eau créent un milieu favorable à *Aedes aegypti*, vecteur péri-domestique, où les écoliers font halte, en particulier au crépuscule, pour regarder le programme de télévision. Les vecteurs du virus CHIK ont pullulé à la station comme l'ont rapporté les personnels mais avaient déjà diminué lors de l'enquête, comme en témoignent les faibles taux de capture de moustiques.

De plus, la transmission à Niakhar s'est produite au milieu de la saison sèche alors qu'à Kaffrine, le virus CHIK a circulé en fin de saison des pluies. A Kaffrine, la transmission du virus CHIK a cessé du fait du niveau élevé d'immunité de population (87,9 % lors de l'investigation) bien que les vecteurs

soient présents (transmettant le virus de la FJ), alors que pour Niakhar, les facteurs climatiques défavorables ont limité la circulation du virus CHIK à l'école et la station.

La circulation du virus Chikungunya n'est pas facile à mettre en évidence. Des cas surviennent régulièrement, ils passent inaperçus ou sont confondus avec des accès palustres. Sur le continent africain, la reconnaissance de l'émergence d'une affection virale est facilitée par la gravité de l'affection, de l'accessibilité aux soins et des capacités locales de diagnostic. Nombre d'arbovirus, dits orphelins, c'est-à-dire sans pathologie actuellement rapportée, relèveraient peut-être d'investigations incomplètes.

Remerciements

Nous remercions sincèrement tous les personnels de la station de Niakhar, les Sœurs du dispensaire de Diohine et, plus particulièrement, Badara CISSÉ et Jean François ETARD pour leur soutien logistique.

Références bibliographiques

- ANDERSON RM & MAY RM - Vaccination and herd immunity to infectious diseases. *Nature*, 1985, **318**, 323-329.
- CHASTEL C - Human infection in Cambodia with Chikungunya or closely allied virus. III Epidemiology. *Bull Soc Pathol Exot*, 1964, **57**, 64.
- DIALLO M, THONNON J, TRAORE-LAMIZANA M & FONTENILLE D - Vectors of the Chikungunya virus in Senegal: current data and transmission cycles. *Am J Trop Med Hyg*, 1999, **60**, 281-286.
- 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.
- EINTERZ ME & BATES M E - Fever in Africa: do patients know when they are hot? *Lancet*, 1997, **350**, 781.
- FONTENILLE D, DIALLO M, MONDO M, N'DIAYE M & THONNON J - First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in *Aedes aegypti* its epidemic vector. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1997, **91**, 533-535.
- INSTITUT PASTEUR DE DAKAR - Rapport annuel 1996, pp. 26-28.
- JUPP PG & MCINTOSH BM - Chikungunya virus disease. In: Monath TP (Eds) - *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. CRC press Boca Raton Flo., 1989, pp. 137-158.
- LHUILIER M & SARTHOU JL - Intérêt des IgM anti-amariles dans le diagnostic et la surveillance épidémiologique de la fièvre jaune. *Ann Virol Inst Pasteur*, 1983, **134E**, 349-359.
- MOURYA DT - Absence of transovarial transmission of Chikungunya virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. *Indian J Med Res*, 1987, **85**, 593-595.
- ROBERTSON SE, HULL BP, TOMORI O, BALE O, LEDUC JW & ESTEVES K - Yellow fever, a decade of reemergence. *JAMA*, 1996, **276**, 1157-1161.
- ROBINSON MC - An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. Clinical features. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1955, **49**, 28.
- ROCHE S & ROBIN Y - Infections humaines par le virus Chikungunya à Rufisque (Sénégal) octobre-novembre 1966. *Bull Soc Méd Afr Noire Lang Fr*, 1967, **12**, 490-496.
- SALUZZO JF, CORNET M & DIGOUTTE JP - Une poussée épidémique due au virus Chikungunya dans l'Ouest du Sénégal en 1982. *Dakar Méd*, 1983, **28**, 497-500.
- THONNON J, SPIEGEL A, DIALLO M, SYLLA R, FALL A *et al.* - Yellow fever outbreak in Kaffrine, Senegal, 1996: epidemiological and entomological findings. *TMIH*, 1998, **3**, 872-877.
- TRAORE-LAMIZANA M, FONTENILLE D, ZELLER HD, MONDO M, DIALLO M *et al.* - Surveillance for yellow fever virus in Eastern Senegal during 1993. *J Med Entomol*, 1996, **33**, 760-765.