

## Persistance d'une circulation endémique du virus West Nile à Madagascar

Lonchamp C<sup>1</sup>, Migliani R<sup>1,2</sup>, Ratsitorahina M<sup>1</sup>, Rabarijaona LP<sup>1</sup>, Ramarokoto CE<sup>1</sup>,  
Rakoto Andrianarivelo M<sup>1</sup>, Rousset D<sup>1</sup>

**RESUME** □ □ *La large dispersion géographique du virus West Nile et le regain de virulence observé depuis 1994 dans le bassin méditerranéen, en Europe centrale et en Amérique du nord, avec plusieurs épidémies d'encéphalites mortelles, justifie l'importance d'une surveillance régulière des données épidémiologiques concernant ce virus dans le monde. Plusieurs travaux menés par l'Institut Pasteur de Madagascar entre 1975 et 1990 avaient montré que cet arbovirus était le plus abondant à Madagascar où il circulait de façon endémique. Aucune étude n'a été réalisée depuis cette époque. Afin d'évaluer le niveau de circulation, une mesure de la séroprévalence des anticorps anti-West Nile chez les enfants de moins de 15 ans a été réalisée sur deux sérothèques provenant d'enquêtes en population réalisées l'une en 1996 dans la région d'Ambositra sur les Hautes terres et l'autre en 1999 dans la ville de Mahajanga sur la côte nord-ouest. Les séroprévalences étaient respectivement de 2,1% et 10,6% démontrant une circulation toujours importante de ce virus modulée par les faciès climatiques de la grande île.*  
**Mots-clés** □ □ Arbovirus - West Nile - Prévalence - Anticorps anti-West Nile - Madagascar.

**ABSTRACT** □ □ *"Persistence of an endemic circulation of the virus West Nile in Madagascar" : The wide geographic distribution of the West Nile virus and the increase in virulence observed since 1994 in the Mediterranean basin, central Europe and north America, with several outbreaks of lethal encephalitis, demonstrate the importance of regular surveillance of the epidemiological data regarding this virus in the world. The Institut Pasteur de Madagascar has shown between 1975 and 1990 that this arbovirus was most abundant in Madagascar, where it had an endemic circulation. There has been no further study since that time. In order to evaluate the level of circulation, the seroprevalence of anti-West Nile antibodies in children that are 15 or less was measured on two different collections of sera. These collections came from population studies realised respectively in the region of Ambositra in the Highlands in 1996 and in the city of Mahajanga on the north west coast in 1999. The seroprevalence were 2.1% and 10.6% respectively, these results indicate that the circulation of this climatic dependent virus is still significant.*

**Key-words** □ Arbovirus - West Nile - Prevalence - Anti-West Nile antibodies - Madagascar.

### INTRODUCTION

Découvert en 1937 en Ouganda, le virus West Nile (WN), de la famille des Flaviviridae, était largement répandu en Afrique, en Europe et en Asie [1] avant son introduction en 1999 sur le continent nord américain vraisemblablement à partir du virus responsable d'une épizootie en Israël en 1998 [2].

Avant 1994, ce virus était considéré comme un agent infectieux peu pathogène pour l'homme. Plusieurs épidémies avaient ainsi été décrites comme bénignes, avec de très rares cas graves présentant des tableaux neurologiques à type de méningo-encéphalite susceptible d'entraîner la mort [3,4].

Depuis 1994, des épidémies humaines importantes, caractérisées par la survenue de nombreux

cas graves avec atteintes neurologiques mortelles, en particulier chez les personnes âgées ont eu lieu dans plusieurs pays : l'Algérie en 1994, la Roumanie en 1996, la République Tchèque en 1997, la Tunisie en 1997, la République Démocratique du Congo en 1998, la Russie en 1999, les Etats-Unis en 1999 et Israël en 2000 [5,6,7,8,9]. Ces épidémies suggèrent une pathogénicité plus importante du virus.

A Madagascar, des programmes de recherche réalisés entre 1975 et 1990 par l'Institut Pasteur avaient démontré que le virus WN, isolé pour la première fois en 1978, était l'arbovirus le plus abondant de l'île [10], qu'il était avant tout un virus d'oiseau et que le cycle sauvage faisait intervenir plusieurs espèces de Culex [11]. La dernière étude sérologique en 1990 avait mis en évidence une séroprévalence des anticorps anti-WN de 29,9% sur un échantillon non tiré au sort de 3 177 sérums

<sup>1</sup>Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274 □ 101 Antananarivo □ Madagascar.

<sup>2</sup>Département d'épidémiologie et de santé publique, Institut de Médecine Tropicale, BP 46 □ Parc du Pharo, Marseille □ France.

provenant d'enfants scolarisés de 5 à 20 ans de 12 régions différentes de Madagascar. Elle confirmait la forte circulation du virus avec un taux de prévalence des anticorps augmentant avec l'âge en faveur d'une transmission permanente [12].

L'extension géographique du virus WN et le regain notable de virulence observé depuis 1994 démontrent l'intérêt d'une remise à jour régulière des données épidémiologiques concernant ce virus dans le monde et à Madagascar. C'est pourquoi nous avons réalisé une étude de la séroprévalence des anticorps anti-WN sur des sérums d'enfants de moins de 15 ans prélevés pour les besoins d'autres enquêtes et conservés dans les sérothèques de l'Institut Pasteur de Madagascar.

## METHODES

### Zones et populations d'étude

Deux régions correspondant aux valeurs extrêmes de séroprévalence mises en évidence en 1990 [12] ont été étudiées : la région d'Ambositra sur les Hautes Terres Centrales (HTC) à plus de 1 000 mètres d'altitude au sud d'Antananarivo, la capitale du pays, et la ville de Mahajanga au niveau de la mer sur la côte Nord Ouest de la grande île.

Pour Ambositra, la sérothèque analysée avait été constituée entre août et novembre 1996 afin d'estimer la séroprévalence de la peste sur un échantillon tiré au sort de 986 personnes âgées de un an et plus de la population générale des trois districts de cette région.

Pour Mahajanga, la sérothèque avait été constituée en juillet 1999 afin d'estimer la séroprévalence des anticorps anti-cholériques sur un échantillon tiré au sort de 654 personnes âgées de deux ans et plus de la population générale des 26 quartiers de la ville.

Tous les sujets inclus dans les deux études avaient subi le prélèvement sanguin après consentement. Les sérums ont été stockés à -20°C jusqu'au moment des analyses.

La détection des anticorps anti-WN n'a été réalisée que sur les sérums des enfants de moins de 15 ans, classe d'âge pour laquelle le statut sérologique n'est pas connu depuis l'enquête de 1990.

### Technique sérologique

La recherche des anticorps de type IgG spécifiques du virus WN a été effectuée par technique immunoenzymatique ELISA indirecte dérivée de la technique appliquée à d'autres arbovirus [13]. Les IgG sont captés par l'antigène viral (extrait de cerveaux de souris nouveaux-nés infectés par

le virus WN puis inactivé par la beta propriolactone) fixé sur une plaque de microtitration sensibilisée par une ascite immune au virus WN. Des extraits de cerveaux de souris non infectés sont utilisés comme antigènes témoins dans tous les tests. La présence des anticorps est révélée par une antiglobuline anti-IgG humaine couplée à la peroxydase (Kirkegaard®) et son substrat, la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB, Sigma®). Les témoins comme les échantillons sont testés en double et éprouvés envers l'antigène viral comme envers l'antigène témoin. Les différences de densités optiques (DO) lues au spectrophotomètre à 450 et 620 nm sont ensuite évaluées et on calcule : le rapport de la moyenne des  $\Delta$  DO lues avec le sérum étudié réagissant avec l'antigène viral et de la moyenne des  $\Delta$  DO lues avec le sérum négatif réagissant avec l'antigène viral, puis le rapport de la moyenne des  $\Delta$  DO lues avec le sérum étudié réagissant avec l'antigène viral et de la moyenne des  $\Delta$  DO lues avec le sérum étudié réagissant avec l'antigène témoin.

Pour valider le test, la moyenne des  $\Delta$  DO lues pour le témoin positif *versus* celles lues pour l'antigène viral doit être au moins deux fois supérieure à cette moyenne *versus* celle de l'antigène témoin. Pour être considéré comme positif, un sérum doit présenter des rapports au moins égaux ou supérieurs à deux. En l'absence de sérum positif de référence titré en anticorps neutralisants, la sensibilité et la spécificité retenues du test sont celles décrites dans la technique de référence, respectivement 99,7% et 96% [13].

### Analyse statistique

L'ensemble des informations collectées a été saisi sur une base informatique créée avec le logiciel Epi-Info 6.04cFr (Centers for Disease Control, Organisation Mondiale de la Santé). Le test du  $\chi^2$  a été utilisé pour la comparaison des fréquences du portage des IgG en fonction du sexe et de l'âge des enfants. Le seuil de signification des comparaisons statistiques a été fixé à 5%.

## RESULTATS

### Nombre de sérums analysés

A Ambositra, sur les 986 personnes prélevées, 407 sont des enfants de moins de 15 ans dont 385 sérums ont pu être analysés, après exclusion de 22 sérums en quantité insuffisante. L'âge moyen est de 7,8 ans et l'âge médian 8 ans (extrêmes 1-14 ans). Le sex-ratio garçon/fille est égal à 0,97.

A Mahajanga, sur les 654 personnes prélevées, 207 ont moins de 15 ans dont 199 sérums ont pu

être analysés, après exclusion de 8 sérums en quantité insuffisante. L'âge moyen est de 8,9 ans et l'âge médian 9 ans (extrêmes 2-14 ans). Le sex-ratio garçon/fille est égal à 0,93.

### Taux de séroprévalence

Les taux de séroprévalence en anticorps IgG anti-virus WN dans ces deux populations d'enfants de moins de 15 ans sont respectivement de 2,1% dans la région d'Ambositra et de 10,6% à Mahajanga ( $p < 10^{-5}$ ).

Le tableau I indique les taux de séroprévalence selon l'âge et selon le sexe dans les deux régions. A Ambositra, le plus jeune enfant avec des anticorps décelables est âgé de plus de 5 ans, alors qu'à Mahajanga, le plus jeune a moins de 5 ans. A Mahajanga, la prévalence des anticorps anti-virus WN est significativement supérieure chez les garçons (15,6%) par rapport à celle des filles (5,8%) ( $p = 0,02$ ).

Tableau I Taux de séroprévalence des anticorps anti-WN à Ambositra et à Mahajanga chez les enfants de moins de 15 ans selon l'âge et le sexe

	Ambositra			Mahajanga		
	n	positifs (%)	IC95%*	n	positifs (%)	IC95%*
<b>Age (ans)</b>						
1-2	31	0(0)	0,00-11,22	2	0(0)	0,00-10,84
3-4	56	0(0)	0,00-16,38	22	1(4,55)	0,12-22,84
5-6	69	1(1,45)	0,04-17,81	36	5(13,89)	4,67-29,50
7-8	71	1(1,41)	0,04-17,60	27	2(7,41)	0,91-24,29
9-10	45	1(2,22)	0,06-11,77	43	5(11,63)	3,86-25,08
11-12	59	4(6,78)	1,88-16,96	29	2(6,9)	0,85-22,77
13-14	54	1(1,85)	0,05-19,89	40	6(15)	5,71-29,84
<b>Sexe</b>						
Féminin	195	4(2,05)	0,56-15,17	103	6(5,83)	2,17-12,25
Masculin	190	4(2,11)	0,58-15,30	96	15(15,63)	9,02-24,46
<b>Total</b>	<b>385</b>	<b>8 (2,08)</b>	<b>0,90- 4,05</b>	<b>199</b>	<b>21 (10,55)</b>	<b>6,65-15,68</b>

\*IC95% = Intervalle de confiance à 95% (méthode binominale exacte)

## DISCUSSION

Cette étude confirme la circulation du virus WN à Madagascar chez les sujets jeunes, plus forte sur la côte Nord-Ouest que sur les HTC. Les facteurs climatiques, en particulier la température, jouent sans doute un rôle dans cette différence. Aux Etats-Unis, des études entomologiques ont montré que la capacité vectorielle de certains culicidés, principaux vecteurs du virus WN, était diminuée en dessous de 18°C [14]. Ambositra est l'une des villes de Madagascar où les températures les plus froides sont enregistrées. La transmission vectorielle pourrait être limitée par les conditions climatiques locales et expliquer le faible taux de prévalence observé dans cette région. Les différences d'altitude, d'humidité et de végétation observées entre les

deux régions pourraient également influencer le nombre de vecteurs et d'hôtes impliqués dans le cycle du virus.

On observe, dans les deux régions, une augmentation de la prévalence des anticorps anti-WN avec l'âge et une contamination plus précoce sur la côte à Mahajanga. Par contre, la prévalence plus élevée chez les garçons par rapport aux filles, observée dans cette ville pourrait en partie s'expliquer par un biais d'échantillonnage des sérums analysés malgré une méthodologie adéquate. Aucune différence de prévalence selon le sexe n'était retrouvée lors de l'étude sérologique de 1990.

Même si l'importance du virus WN et son impact en santé humaine restent méconnus de la majorité des professionnels de santé à Madagascar, la mise en évidence de l'implication de cet arbovirus dans la survenue de cas d'encéphalites hospitalisés à Antananarivo en 2001 confirme que son pouvoir pathogène n'est pas à négliger et que la surveillance de cette infection doit se poursuivre régulièrement [15].

## REFERENCES

- Hannoun C, Rodhain F. Répartition géographique des encéphalites à arbovirus. *Gazette Med France* 1975; **82** : 3761-3774.
- Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K *et al*. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 1999; **286** : 2333-2337.
- Hayes CG. West Nile Virus : Uganda, 1937, to New York City, 1999. *Ann N Y Acad Sci* 2001; **951** : 25-37.
- Nogues F. Les infections à virus West Nile : des réémergences récentes et inquiétantes. [Thèse du diplôme d'état de docteur en médecine]. Université de Rennes I, 2000.
- Ivan A, Azoicai D, Grigorescu R, Iancu L. Epidemiological consideration of the arbo- and arenaviruses. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 1997; **101** : 60-65.
- Triki H, Murri S, Le Guenno B, Bahri O, Hili K, Sidhom M, Dellagi K. Méningo-encéphalite à arbovirus West Nile en Tunisie. *Med Trop* 2001; **61** : 487-490.
- Nash D, Rostashair F, Fine A, Miller J, O'Leary D, Murray K, Huang A, Rosenberg A *et al*. The outbreak of West Nile virus infection in the New York city area in 1999. *N Engl J Med* 2001; **344** : 1807-1814.
- Klein C, Kiniagar I, Pollak L, Gadelman-Marton R, Itzhaki A, Milo R, Rabey JM. Neurological features of West Nile virus infection during the 2000 outbreak in a regional hospital in Israel. *J Neurol Sci* 2002; **200** : 63-6.
- Zeller HG, Berthet FX, Deubel V, Murgue B. West Nile : regain de circulation dans le bassin méditerranéen et émergence inattendue en Amérique du Nord. *Virologie* 2001; **5** : 409-17.
- Mathiot CH, Clerc Y, Rodhain F, Digoutte JP, Coulanges P. Le virus West Nile et Madagascar. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1983; **51** : 113-24.

- 11- **Fontenille D, Rodhain F, Digoutte JP, Mathiot C, Morvan J, Coulanges P.** Les cycles de transmission du virus West Nile à Madagascar. Océan Indien. *Ann Soc belg Med Trop* 1989; **69** : 233-243.
  - 12- **Morvan J, Chin L, Fontenille D, Rakotoarivony I, Coulanges P.** Prévalence des anticorps anti-virus West Nile chez les jeunes de 5 à 20 ans à Madagascar. *Bull Soc Pathol Exot* 1991; **84** : 225-234.
  - 13- **Johnson AJ, Martin DA, Karabatsos N, Roehrig JT.** Detection of anti-arboviral immunoglobulin G by using a monoclonal antibody-based capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol* 2000; **38** : 1827-1831.
  - 14- **Dohm DJ, Guinn ML, Turell MJ.** Effect on environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol* 2002; **39** : 221-25.
  - 15- **Migliani R, Tehindrazanarivelo A, Rasamoelisoa J, Raobijaona H, Rakotonirina G, Ramamonjisoa J, Ratsitorahina M, Ramarokoto CE, Grosjean P, Rakoto Andrianarivelo M, Rousset D.** Epidémiologie des encéphalites aiguës à Antananarivo. Centenaire de l'Académie Nationale des Arts, des Lettres et des Sciences 1902-2002. Colloque Scientifique International : "Santé, Environnement et Développement". Antananarivo, 24-25 juillet 2002.
-