

FIÈVRE DE LA VALLEE DU RIFT : ENQUETE DE SEROPREVALENCE SUR DES RUMINANTS DOMESTIQUES A N'DJAMENA ET ABECHE (TCHAD)*

*David Ringot*¹, *Jean-Paul Durand*², *Hugues Tolou*³,
*Jean-Paul Boutin*⁴ et *Bernard Davoust*⁵

RESUME : Afin d'évaluer l'importance de l'exposition humaine au risque fièvre de la vallée du Rift, une enquête transversale de séroprévalence a été réalisée au Tchad durant la saison des pluies 2002 sur des ovins (300), des caprins (139) et des bovins (114) amenés aux abattoirs de Farcha et d'Abéché.

La mise en œuvre d'une technique ELISA directe pour le dosage des IgG et d'immunocapture pour celui des IgM a permis d'objectiver une circulation récente, voire active, du virus au sein des populations de ruminants domestiques tchadiens dans des proportions significatives. Au total, 10,7% des ovins, 8% des caprins et 4% des bovins présentaient des anticorps de type IgG et 45,4% des animaux séropositifs en IgG l'étaient également en IgM.

SUMMARY : In order to evaluate the importance of the human exposure to the Rift valley fever, a transverse investigation of seroprevalence was carried out in Chad during the rainy season 2002, among sheep, goats and horned cattle led to the slaughter-houses of Farcha and Abéché.

Sera were tested for RVF specific IgG antibodies by direct ELISA method and positive samples were examined for IgM by immunocapture method. The serologic results objectify a recent, even active, circulation, of this virus within the populations of Chad-bred ruminants in significant proportions.

Finally, 10.7% of the sheep, 8% of the goats and 4% of the cattle presented IgG antibodies and 45.4% of the seropositive animals in IgG were it also in IgM.



* Communication affichée lors des Journées AEEMA-AESA, 22-23 mai 2003

¹ Secteur vétérinaire interarmées de Montpellier, BP 40, 30998 Nîmes Armées, France

² Laboratoire de diagnostic des arboviroses, Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées, BP 46, 13998 Marseille Armées, France

³ Unité de virologie, Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées, BP 46, 13998 Marseille Armées, France

⁴ Département d'épidémiologie et de santé publique Sud, Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées, BP 46, 13998 Marseille Armées, France

⁵ Direction du Service de santé en Région Terre Sud-Est, BP 16, 69998 Lyon Armées, France

I - INTRODUCTION

Le Laboratoire de diagnostic des arboviroses de l'Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées (IMTSSA) assure une surveillance des fièvres d'origine indéterminée survenant parmi les militaires séjournant entre autres au Tchad. De deux prélèvements effectués dans ce cadre, ont été isolées, à partir de couches leucocytaires mises en co-culture sur cellules C6/36 et Véro chez deux militaires ayant séjourné dans la région de N'Djaména au cours de l'été 2001, deux souches du virus de la fièvre de la vallée du Rift (FVR) identifiées par immunofluorescence indirecte avec confirmation par PCR et séquençage du produit amplifié [Durand *et al.*, 2002].

Dans le but d'évaluer l'importance de l'exposition humaine au risque FVR, une étude a été menée. Celle-ci se scinde en :

- un travail permettant d'évaluer l'exposition au virus de la FVR subie par les militaires présents sur site au cours de la saison des pluies 2001 au moyen d'une enquête séro-épidémiologique rétrospective,
- un suivi clinique, virologique et épidémiologique prospectif des fièvres d'origine indéterminée chez les militaires ayant séjourné au Tchad au cours de la saison des pluies 2002,
- une enquête vétérinaire destinée à :
 - estimer la circulation du virus aux alentours de N'Djaména via la surveillance clinique et sérologique sur un an d'un troupeau sentinelle implanté à 7 km de N'Djaména,
 - évaluer le taux de séroprévalence des ovins, caprins et bovins durant la saison

des pluies 2002 via une enquête transversale réalisée à partir d'animaux amenés aux abattoirs de Farcha (situé en périphérie de N'Djaména) et d'Abéché.

Ne seront présentés dans cet article que les résultats issus de ce dernier volet de l'étude.

Au Tchad, la fièvre de la vallée du Rift n'a jamais été officiellement déclarée, ni à l'Organisation mondiale de la santé, ni à l'Office international des épizooties. Néanmoins,

- il est classiquement admis que la FVR existe à l'état enzootique en Afrique centrale chez les moutons et les animaux sauvages [Maurice *et al.*, 1967],
- un travail datant de 1967 [Maurice *et al.*, 1967] signale la présence de marqueurs sérologiques de la FVR chez des moutons implantés à N'Djaména et Abéché, mais sans représentativité au sein des cheptels (technique utilisée : inhibition de l'hémagglutination),
- une étude menée à l'Institut Pasteur de Paris en collaboration avec le Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement – Département d'élevage et de médecine vétérinaire tropicale a montré que 4% des moutons de la zone sahélienne (Tchad – Ethiopie) présentaient des anticorps contre la fièvre de la vallée du Rift [Lefèvre, 1997],
- elle a été identifiée au Soudan, au Niger [Mariner, 1995] et au Nigeria [Mariner, 1995], pays limitrophes du Tchad.

II - MATERIELS ET METHODES

1. MODALITES DE PRELEVEMENTS

De fin août à début octobre 2002, au sein des abattoirs de N'Djaména et d'Abéché, des ovins, caprins et bovins ont été l'objet d'un prélèvement (tableau I). Les sites furent choisis, d'une part, en raison de leur proximité géographique avec les zones de

stationnement des troupes françaises et, d'autre part, du fait qu'en particulier l'abattoir de N'Djaména constitue une zone de regroupement de bétails d'origines très variées compensant ainsi partiellement la faible représentativité géographique de l'enquête.

Tableau I
Nombre de prélèvements par espèce et par site

	Abattoir de Farcha	Abattoir d'Abéché	Total
Ovins	211	89	300
Caprins	102	37	139
Bovins	99	15	114
Total	412	141	553

La sélection des animaux soumis à un prélèvement fut totalement aléatoire.

Chaque prélèvement s'est accompagné de l'enregistrement des informations relatives à l'âge de l'animal (examen de la dentition), à sa race, à son sexe et à son origine.

Prélevé sur tube sec, le sang recueilli a été centrifugé au cours des 24 heures qui suivirent. Le sérum a été collecté, puis transvasé dans des cryotubes codifiés (code permettant d'assurer la filiation avec les informations préalablement recueillies) qui ont été ensuite entreposés à -80°C .

Chaque prélèvement a été transmis au Laboratoire de diagnostic des arboviroses de l'IMTSSA pour analyse de telle sorte que les prélèvements arrivent encore congelés (-20°C).

2. PROTOCOLE D'ANALYSE

L'ensemble des prélèvements acheminés a été testé afin de déterminer le statut sérologique de l'animal vis-à-vis de la FVR via un dosage systématique des IgG par une technique

ELISA directe (antigène utilisé : clone 13 : clone issu d'un isolat humain de la République centrafricaine dont le génome possède une délétion de 69% de la région codant pour la protéine non structurale NSs, déterminant majeur de virulence [Muller *et al.*, 1995]).

La positivité des sérums est annoncée si le résultat du rapport entre la densité optique (DO) associée à l'utilisation de l'antigène sus-cité et celle associée à l'utilisation de l'antigène Dugbe (Nairovirus) est supérieur à 5.

Tous les sérums d'ovin et de caprin qui présentaient des anticorps de type IgG anti-FVR ont été testés afin de rechercher la présence d'IgM anti-FVR (par immuno-capture Elisa).

Enfin, les sérums d'ovins positifs en IgG ont été, en parallèle, testés, pour validation, par une méthode d'immuno-transfert (Western Blot). N'ont été déclarés positifs que les sérums qui contenaient les anticorps spécifiques des glycoprotéines d'enveloppe (G1 et G2) ainsi que de la protéine de la nucléocapside (NC).

III - RESULTATS

Les résultats de notre étude de séroprévalence sont présentés dans le tableau II.

Tableau II

Résultats de l'enquête de séroprévalence de la fièvre de la vallée du Rift
chez des ruminants domestiques à N'Djaména et Abéché (Tchad)

	Age moyen	Nombre d'animaux séropositifs en IgG *	Age moyen des animaux séropositifs en IgG	Nombre d'animaux séropositifs en IgG dont l'âge est inférieur ou égal à 1 an	Répartition géographique des animaux séropositifs en IgG	Sexe des animaux séropositifs en IgG (M : mâle F : femelle)	Nombre d'animaux dont la séro-positivité en IgG est confirmée par Western Blot	Nombre d'animaux séropositifs en IgM
Ovins	2,3 ans	32/300 (10,7%)	1,8 ans	8 (12% des ani-maux âgés de moins de 12 mois)	Farcha : 14,8% Abéché : 1,1%	M : 7,5% F : 12,8%	31 + 1 douteux	16 (+ 4 douteux) (53,3% des IgG +)
Caprins	1,7 ans	12 / 139 (8%)	2,2 ans	4 (6% des animaux âgés de moins de 12 mois)	Farcha : 9% Abéché : 5%	M : 6,7% F : 10,8%	/	4 (33,3% de IgG +)
Bovins	7,5 ans	5 / 114 (4%)	6,2 ans	/	Farcha : 5% Abéché : 0%	M : 0% F : 4,7%	/	/
Total	3,2 ans	49 / 553 (8%)	2,8 ans	14 (10,5% des animaux âgés de moins de 12 mois)	Farcha : 11% Abéché : 2%	M : 4,4% F : 11,4%	/	20 (+ 4 douteux) (45,4% des IgG +)

* Positivité définie par un rapport entre la DO associée à l'utilisation de l'antigène FVR sur celle associée à l'utilisation de l'antigène Dugbe (Nairovirus) supérieur à 5.

IV - DISCUSSION

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence une **circulation récente, voire active, et significative** du virus de la FVR au sein des populations de ruminants domestiques tchadiens.

Outre l'actualisation de données qui dataient de plus de trente ans [Maurice *et al.*, 1967], ce constat permet de mettre en évidence la circulation à bas bruit d'un virus qui possède un potentiel épidémique et pathogène important [Durand *et al.*, 2002].

Dans ce cadre, le chiffre relativement élevé de 8% de séroprévalence pour l'ensemble des animaux prélevés et de 11% pour ceux prélevés à N'Djaména (le risque d'épidémie humaine semble se situer à partir d'une prévalence animale de 15-20%) et le fait, d'une part, que 45,4% des animaux positifs en IgG le sont également en IgM (persistance de ces anticorps entre deux et six mois lors d'infections naturelles chez le bétail [Morvan *et al.*, 1992]) et, d'autre part, que les animaux séropositifs soient relativement jeunes laissent à penser que la situation est relativement préoccupante dans ce pays. En effet, sans que l'on puisse accorder à ces chiffres une valeur

prédictive précise, il convient de confronter ces données à la littérature qui mentionne régulièrement que les ruminants domestiques se sont révélés être des marqueurs précoces lors des épidémies observées chez l'homme [FAO, 2001] et que l'apparition d'un foyer d'infection humaine était précédée par un cycle d'amplification chez l'animal [FAO, 2001]. Ainsi, l'épizoo-épidémie qui s'est déclarée en 1987 en Egypte avait été annoncée par l'Institut Pasteur de Dakar qui avait démontré au cours d'une enquête sérologique sur animaux domestiques que le virus circulait depuis au moins six mois chez les animaux et qu'un cycle d'amplification était en cours [Lefèvre, 2000]. Or, il est à redouter, comme cela a été décrit au Burkina Faso en 1987 [Durand *et al.*, 2002], qu'un bouleversement écologique ou des conditions climatiques favorables à la pullulation de vecteurs (relation entre l'intensité des pluies et l'apparition d'épizooties établie au Kenya [Davies *et al.*, 1985] et en Afrique du Sud [Mc Intosh *et al.*, 1980]) puissent dans les régions, où, selon nos résultats, le virus circule, majorer de façon importante le taux de séroprévalence chez les animaux et aboutir ainsi à la survenue de cas

humains [Lefèvre *et al.*, 1987]. Ce risque peut apparaître d'autant plus grand qu'il est admis que le phénomène annonciateur de la survenue d'une éventuelle épidémie serait plus spécifiquement une variation importante du taux de séroprévalence dans les populations animales [Durand *et al.*, 2002] ; or, une étude menée à l'Institut Pasteur de Paris a montré que 4% des moutons de la zone sahélienne (Tchad et Ethiopie) présentaient des anticorps contre la FVR [L'Hostis, 1987] et ces chiffres ont été confirmés à de nombreuses reprises [Lefèvre, 1997].

On s'étonnera du faible taux de bovins séropositifs comparé aux autres espèces. En effet, il est classiquement décrit que le premier cycle d'amplification qui fait suite à la pullulation des vecteurs est observé principalement chez les bovins puis, dans un second temps, chez les autres espèces de ruminants, voire chez l'homme [Lefèvre, 1997].

En ce qui concerne l'origine des animaux (provenance et trajet suivi), il est à regretter que la quête des informations se soit révélée totalement infructueuse pour les animaux prélevés à Farcha (traçabilité des animaux totalement inconnue : absence totale de système d'identification, informations non détenues par les propriétaires et provenances très variées) et relativement floue pour ceux prélevés à Abéché (provenance locale sans précision). Dès lors, il n'a pas été possible de cartographier la répartition des animaux séropositifs et d'estimer ainsi la prévalence régionale. Néanmoins, il est à noter la très faible séroprévalence des animaux prélevés au sein de l'abattoir d'Abéché qui permet de conclure que cette zone semble relativement épargnée par la FVR.

Dans un cadre purement vétérinaire, ces résultats permettent de supposer que la FVR peut, sans nul doute, s'ajouter à l'étiologie déjà complexe des avortements des ruminants domestiques dans ces régions qui sévissent

régulièrement sous forme épizootique [Maurice, 1967]. L'intérêt économique représenté par la prévention de la FVR pour l'élevage tchadien est vraisemblablement loin d'être négligeable.

Les techniques les plus couramment utilisées pour évaluer les statuts sérologiques d'animaux vis-à-vis de la FVR sont l'immunofluorescence, la réduction des plages et les tests immuno-enzymatiques pour la recherche d'anticorps IgG et IgM [FAO, 2001]. Le virus de la FVR étant connu pour présenter des réactions croisées avec de nombreux autres phlebovirus [Mariner *et al.*, 1995], le choix des techniques utilisées pour cette étude fut en partie dicté par leurs performances en terme de sensibilité et surtout de spécificité. Bien que la technique de séroneutralisation soit décrite comme la technique de référence en terme de spécificité [FAO, 2001] (absence de réaction croisée avec d'autres phlebovirus), la nécessité de disposer de cultures cellulaires rend cette technique inutilisable pour réaliser un dépistage à partir d'un grand nombre de sérums [Pretorius *et al.*, 1997]. La technique ELISA a donc été utilisée. Elle est considérée comme une alternative intéressante pour une étape de dépistage du fait de ses performances discriminatives et de sa facilité de mise en œuvre [Pretorius *et al.*, 1997 ; Durand *et al.*, 2002 ; FAO, 2001] avec, dans un second temps, une validation des séropositifs par la méthode d'immuno-transfert avec un seuil de positivité très élevé (sérum déclaré positif que s'il contient des anticorps dirigés contre les protéines G1, G2 et NC). Il est à noter à ce propos que les résultats comparatifs entre les deux techniques permettent de confirmer la bonne spécificité du test ELISA (97% des sérums déclarés positifs par la technique ELISA confirmés par le WB) déjà appréhendée précédemment par un recoupement très favorable avec la technique de séroneutralisation [Pretorius *et al.*, 1997].

BIBLIOGRAPHIE

- Davies F.G., Linthicum K.J., James A.D. - Rainfall and epizootic Rift valley fever. *Bull. World Health Organ.*, 1985, **63** (5), 941-943.
- Durand J.P., Richecoeur L., Peyrefitte C., Boutin J.P., Davoust B., Zeller H., Bouloy M., Tolou H. - La fièvre de la vallée du Rift : infections sporadiques de militaires français hors des zones d'épidémies actuellement connues. *Méd. Trop.*, 2002, **62**, 291-294.
- FAO - Actes du séminaire sur la surveillance épidémiologique et le contrôle de la fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest (Mali - Mauritanie - Sénégal). Dakar, Sénégal, 9-12 Avril 2001. TCP/RAF/8931.
- Lefèvre P.C. - Actualités de la fièvre de la vallée du Rift. Quels enseignements tirer des épidémies de 1977 et 1987. *Méd. Trop.*, 1997, **57**, 61-64.
- Lefèvre P.C. - Impact des arboviroses d'intérêt vétérinaire. Le cas de la fièvre de la vallée du Rift. *Méd. Trop.*, 2000, **60**, 27-30.
- L'Hostis B. - La fièvre de la vallée du Rift : étude bibliographique et enquête sérologique chez les petits ruminants dans cinq pays d'Afrique. Thèse de Doctorat vétérinaire, 1987, Université de Nantes / Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, France.
- Mariner J.C., Morill J., Ksiazek T.G. - Antibodies to hemorrhagic fever viruses in domestic livestock in Niger: Rift valley fever and Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Am. J. Med. Hyg.*, 1995, **53** (3), 217-221.
- Maurice Y. - Premières constatations sérologiques sur l'incidence de la maladie de Wesselsbronn et de la fièvre de la vallée du Rift chez les ovins et les ruminants sauvages du Tchad et du Cameroun. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 1967, 20, **3**, 395-405.
- Mc Intosh B.M., Jupp P.G., Dos Santos I., Barnard B. J. - Vector studies on Rift valley fever virus in South Africa. *S. Afr. Med. J.*, 1980, **58** (3), 127-132.
- Morvan J., Rollin P.E., Laventure S., Roux J. - Duration of immunoglobulin M antibodies against Rift valley fever virus in cattle after natural infection. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **86** (6), 675.
- Muller R., Saluzzo J.F., Lopez N., Dreier T., Turell M., Smith J., Bouloy M. - Characterization of clone 13, a naturally attenuated avirulent isolate of Rift valley fever virus, which is altered in the small segment. *J. Trop. Med. Hyg.*, 1995, **53** (4), 405-411.
- Pretorius A., Oelofsen M.J., Smith M.S., Van Der Ryst E. - Rift valley fever virus: a seroepidemiologic study of small terrestrial vertebrates in South Africa. *Am. J. Med. Hyg.*, 1997, **57** (6), 693-698.

