

## MISE EN EVIDENCE SEROLOGIQUE DE L'INFECTION A VIRUS DE LA FIEVRE HEMORRAGIQUE CRIMEE-CONGO CHEZ LES PETITS RUMINANTS DANS LE SUD-EST DE LA ROUMANIE \*

Cristian Raileanu<sup>1</sup>, Adriana Anita<sup>1</sup>, Daniela Porea<sup>1</sup> et Gheorghe Savuta<sup>1</sup>



### RESUME

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo (FHCC) est une zoonose largement répandue causée par un virus (Nairovirus) de la famille des Bunyaviridae transmis par les tiques. Les petits ruminants infectés par VFHCC font habituellement une infection bénigne, parfois avec virémie transitoire. Des échantillons de sérum à tester pour les anticorps VFHCC avaient été recueillis auprès de 90 petits ruminants en provenance de différentes localités des départements de Tulcea et de Constanta. Tous les sérums ont été testés pour la présence des anticorps IgG contre VFHCC par un coffret ELISA commercial (Vectorbest, Novosibirsk, Russie), avec des modifications mineures. L'examen sérologique a révélé la présence des anticorps IgG anti-VFHCC pour 16/29 (55 %) chèvres et pour 51/61 (85 %) moutons. Les résultats de notre étude suggèrent la possible circulation du virus de la FHCC dans des élevages de ruminants des départements de Tulcea et de Constanta. En outre, les animaux infectés par le VFHCC constituent une menace potentielle pour les employés des abattoirs et pour la santé publique.

**Mots-clés :** fièvre hémorragique de Crimée-Congo, ruminants, anticorps IgG.

### ABSTRACT

Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) is a widespread zoonotic disease caused by a tick-borne virus (Nairovirus) of the Bunyaviridae family. Small ruminants with CCHF undergo a mild infection, sometimes with transient viraemia. Serum samples to test for CCHFV antibodies were collected from 90 small ruminants in various sites in Tulcea and Constanța Counties. All serum samples were tested for the presence of specific IgG antibodies against CCHFV by a commercial ELISA kit (Vectorbest, Novosibirsk, Russia), slightly modified. The serological examination of serum samples for anti - CCHFV infection evidenced CCHF IgG antibodies in the blood of 16 out of 29 goats (55%) and in 51 out of 61 (85%) sheep. These results suggest that the CCHF virus may be widespread in traditionally reared small ruminant livestock in Tulcea and Constanța Counties. CCHF infected animals also represent a potential threat to abattoir workers and to public health.

**Keywords:** Crimean-Congo hemorrhagic fever, Ruminant, IgG-antibody.



\* Texte de la communication écrite présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA, 19-20 mars 2015

<sup>1</sup> Faculté de médecine vétérinaire, Université des sciences agricoles et de médecine vétérinaire de Iasi, Roumanie

---

## I - INTRODUCTION

---

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo (FHCC) est une maladie provoquée par un virus (*Nairovirus*) de la famille des *Bunyaviridés*, transmis par les tiques. Chez l'Homme, il provoque des flambées de fièvre hémorragique virale sévère, avec un taux de létalité de 10 à 40 % [Whitehouse *et al.*, 2004]. L'infection par le VFHCC a été signalée dans plus de 30 pays, étant endémique en Afrique, dans les Balkans, au Moyen-Orient et en Asie, dans les pays en deçà du 50ème degré de latitude nord, limite géographique de la principale espèce vectorielle, une tique [Krauss *et al.*, 2003]. L'infection chez les humains se produit habituellement par les piqûres de tique ou à partir du contact avec le sang ou les fluides corporels d'animaux infectés et de patients humains [Mardani *et al.*, 2007]. Les tiques du genre *Hyalomma* sont le vecteur le plus important du VFHCC [Estrada Pena *et al.*, 2012]. Les autres tiques, qui servent de vecteurs au VFHCC, comprennent les tiques des genres *Rhipicephalus*, *Ornithodoros*, *Boophilus*, *Dermacentor* et *Ixodes* [Morikawa *et al.*, 2007]. Les animaux jouent un rôle crucial dans le cycle de vie des tiques et, par conséquent, dans la transmission et l'amplification du virus. La virémie

ou des anticorps ont été détectés chez les mammifères sauvages et domestiques. Les principaux hôtes naturels du VFHCC sont le lièvre et le hérisson (pour les tiques immatures) de même que les bovins, les moutons, les chèvres, les chevaux, les porcs et les oiseaux (pour les tiques matures).

En Europe du Sud-Est, des foyers ont été signalés en Crimée (1944-1945), en Bulgarie (1953-1974, 1975-1996 et 1997-2003), en Grèce (2008), en Albanie (2001), au Kosovo (2001) et en Turquie (2002-2005 et 2007-2008), avec des réservoirs pas encore définis [Ertugrul *et al.*, 2009 ; Papa *et al.*, 2001 ; Papa *et al.*, 2010]. En Roumanie, la description de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo a été réalisée par Ceianu *et al.* [2012], qui ont décrit la présence des anticorps IgG anti-VFHCC chez 27,8 % des ovins testés (131 sur 471). De même, Dumitrescu *et al.* [2014] ont réussi à recueillir plus de 300 spécimens de *Hyalomma marginatum* dans la région de sud-est de la Roumanie. Aucune infection humaine par VFHCC n'a été rapportée jusqu'à présent en Roumanie.

---

## II - MATÉRIEL ET MÉTHODE

---

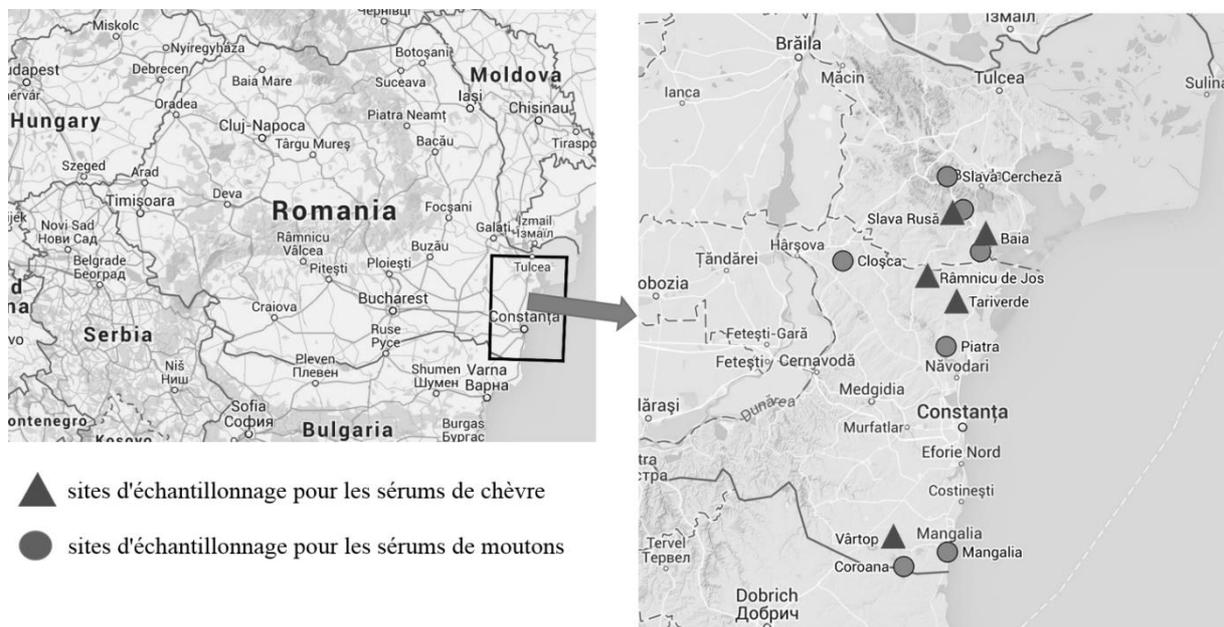
Des échantillons de sérum à tester pour la présence des anticorps anti-VFHCC ont été prélevés chez 90 petits ruminants provenant de différentes localités des départements de Tulcea et de Constanta (figure 1). Vingt-neuf échantillons ont été prélevés chez les chèvres et 61 chez les moutons.

Tous les échantillons de sérum ont été testés pour la présence d'anticorps IgG spécifiques anti-VFHCC à l'aide d'un test ELISA humain (Vectorbest,

Novosibirsk, Russie) avec des modifications mineures. Pour tester les sérums des petits ruminants, le protocole a été adapté par l'utilisation des anticorps secondaires lapin anti-chèvre IgG (HRP) et lapin anti-mouton IgG (HRP) (Covalab, Villeurbanne, France) en concentration de 1/500. La densité optique (DO) a été mesurée à 405 nm avec une référence à 620 nm. Les résultats ont été calculés en respectant la formule de *cut-off* du protocole.

Figure 1

## Distribution géographique des sites d'échantillonnage



## III - RÉSULTATS

Le diagnostic sérologique d'une infection de la FHCC est fondé sur la détection spécifique des anticorps induits par la réponse immunitaire, principalement vis-à-vis de la NP qui est reconnue comme l'antigène dominant [Palacios *et al.*, 2006]. Un seul sérotype de la FHCC a été décrit et la comparaison des souches virales FHCC d'origines géographiques diverses a montré une grande homogénéité antigénique. Le test ELISA est la technique la plus courante pour la détection des anticorps de la FHCC et elle est rapportée comme étant plus sensible que l'IFA [Nichol, 2001].

L'examen sérologique des échantillons de sérum a révélé la présence des anticorps IgG anti-VFHCC

chez 16 des 29 chèvres (55 %) et chez 51 des 61 moutons (85 %) (Tableau 1). La prévalence totale des anticorps IgG anti-VFHCC chez les petits ruminants testés a été de 74 %.

Les animaux ne présentent pas de signes cliniques, mais peuvent agir comme une source d'infection pour l'homme. Le virus se transmet de l'animal à l'homme, par contact direct avec le sang ou les tissus de l'animal infecté. Une tique qui mord ou est écrasée sur la peau ou les muqueuses peut constituer une voie potentielle pour la transmission de la FHCC à l'homme.

**Tableau 1**  
**Distribution des échantillons positifs pour IgG anti-VFHCC**

Département	Localité	Espèce	Nombre de sérums collectés	Sérums positifs pour IgG anti-VFHCC
Tulcea	Baia	chèvre	10	8
		mouton	17	15
	Slava Rusă	chèvre	4	3
		mouton	9	7
	Slava Cercheză	mouton	15	13
Constanta	Rîmnicul de Jos	chèvre	5	2
	Tariverde	chèvre	5	2
	Vârtop	chèvre	5	1
	Coroana	mouton	5	3
	Cloșca	mouton	5	5
	Piatra	mouton	5	3
	Mangalia	mouton	5	5
	<b>Total</b>			<b>90</b>

#### IV - DISCUSSION

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo est une zoonose transmise par les tiques, et par conséquent, le bétail infesté par les piqûres de celles-ci est susceptible de devenir VFHCC positif. De nombreuses espèces de mammifères virémiques peuvent être source de VFHCC pour les tiques. Il est bien documenté que la virémie et les anticorps spécifiques VFHCC se développent dans un élevage infecté, y compris pour les moutons et les chèvres [Burt *et al.*, 1993]. Toutefois, l'infection est généralement asymptomatique et aucune maladie hémorragique clinique n'a été associée avec le VFHCC chez le bétail infecté. En particulier, les petits ruminants pourraient être source de virus pour la transmission chez l'homme par l'intermédiaire des tiques ; ils jouent ainsi un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie.

La distribution des virus de la FHCC semble coïncider avec l'aire géographique des principaux vecteurs, à savoir les membres du genre *Hyalomma*. Les pays où les tiques *Hyalomma* sont présentes devraient être considérés à risque. Plus

précisément, des études épidémiologiques ont montré que *H. m. rufipes* peut héberger naturellement différents génotypes du virus de la FHCC, et dans certaines régions cette sous-espèce de tique joue un rôle principal dans le maintien de la FHCC endémique [Zeller *et al.*, 1997].

Nos résultats sont comparables avec ceux obtenus chez les ovins dans le département de Constanta par Ceianu *et al.* [2012]. De plus, les résultats obtenus dans la présente étude montrent également la présence des chèvres à sérologie positive dans les départements de Constanta et Tulcea. Les résultats de notre étude suggèrent la circulation de virus de la FHCC chez les ruminants élevés traditionnellement dans les départements Tulcea et Constanta. Les résultats sérologiques peuvent être corrélés avec la présence de tiques *Hyalomma* dans la même région, confirmée par Dumitrescu *et al.* [2014]. En outre, les animaux infectés constituent une menace potentielle pour les employés d'abattoir et autres groupes à risque en Roumanie.

## BIBLIOGRAPHIE

- Ceianu C.S., Panculescu-Gatej R.I., Coudrier D., Bouloy M. - First serologic evidence for the circulation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2012, **12**(9), 718-721.
- Burt F.J., Swanepool R., Braack L.E.G.- Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibody to Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in the sera of livestock and wild vertebrates. *Epidemiol Infect.*, 1993, **111**, 547-557.
- Dumitrescu V.G., Vladimirescu A.F., Moraru V.E., Neculescu M., Ciulacu-Purcărea V., Ionescu L.E., Bordea S.M., Danes D., Nicolescu G. - The *Hyalomma marginatum* (potential vector of CCHFv) ectoparasite tick on Spur-Thighed tortoise (*Testudo graeca iberica*) in Dobrudja (Romania). The 19th Conference E-SOVE, oct 2014, Greece.
- Ertugrul B., Uyar Y., Yavas K., Turan C., Oncu S., Saylak O., Carhan A., Ozturk B., Erol N., Sakarya S. - An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in western Anatolia, Turkey. *Int. J. Inf. Dis.*, 2009, **13**(6), 431-436.
- Estrada-Pena, A., Palomar A.M., Santibanez P., Sanchez N., Habela M.A., Portillo A., Romero L., Oteo J.A. - Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ticks, Southwestern Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012, **18**, 179-180.
- Krauss H., Weber A., Appel M., Enders B., Isenberg H.D., Schiefer. H.G, Slenczka W., Graevenitz A.V., Zahner H. - Viral zoonoses. Zoonoses. Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans (3<sup>rd</sup> ed.), Washington, D.C: ASM Press. 2003.
- Mardani M., Rahnavardi M., Rajaeinejad M., Naini K.H., Chinikar S., Pourmalek F., Rostami M., Shahri M.H. - Crimean-Congo hemorrhagic fever among health care workers in Iran: a seroprevalence study in two endemic regions. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2007, **76**, 443-445.
- Morikawa S., Saijo M., Kurane I. - Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2007, **30**(5-6), 375-389.
- Nichol S.T. Bunyaviruses. Knipe D.M., Howley P.M. (eds) *Fields Virology*, Lippincott Raven, Philadelphia, 2001.
- Palacios G., Briese T., Kapoor V., Jabado O., Liu Z., Venter M., Zhai J., Renwick N., Grolla A., Geisbert T.W., Drosten C., Towner J., Ju J., Paweska J., Nichol S.T., Swanepoel R., Feldmann H., Jahrling P.B., Lipkin W.I. - MassTag polymerase chain reaction for differential diagnosis of viral hemorrhagic fever. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, **12**, 692-695.
- Papa A., Bino S., Llagami A., Brahimaj B., Papadimitriou E., Pavlidou V. *et al.* - Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania, 2001. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2002, **21**, 603-606.
- Papa A., Dalla V., Papadimitriou E., Kartalis G.N., Antoniadis A. - Emergence of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Greece. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010, **16**, 843-847.
- Whitehouse C.A. - Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res.*, 2004, **64**, 145-160.
- Zeller H.G., Cornet J.P., Diop A., Camicas J.L. - Crimean-Congo hemorrhagic fever in ticks (Acari: Ixodidae) and ruminants: field observations of an epizootic in Bandia, Senegal (1989-1992). *J. Med. Entomol.*, 1997, **34**, 511-516.



## Remerciements

Ce travail a été mené dans le cadre du "European Social Fund, Human Resources Development Operational Programme 2007-2013, projet no. POSDRU/159/1.5/S/132765."