



ISOLEMENT DU VIRUS DE LA DENGUE AU SÉNÉGAL

par Y. Robin ⁽¹⁾, M. Cornet ⁽²⁾, G. Heme ⁽¹⁾ et G. Le Gonidec ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Institut Pasteur, BP 220, Dakar, et
⁽²⁾ Centre ORSTOM, Dakar (Sénégal)

SUMMARY

DENGUE VIRUS ISOLATION IN SENEGAL

Dengue virus type 2 was isolated twice at 4 years interval in Senegal: the first strain from a febrile young girl in 1970 at Bandia Village, the second from a pool of *Aedes (Stegomyia) luteocephalus* mosquitoes collected in Kedougou in 1974. As serological results are difficult to explain, due to the number of flavivirus which are active in Senegal, more accurate virus isolation methods have to be developed to estimate the importance of the disease in human beings and to clear up the selvatic cycle of the virus.

KEY-WORDS: Dengue virus type 2, Senegal, *Aedes (Stegomyia) luteocephalus*; Isolation, Epidemiology.

INTRODUCTION

En Afrique, nombreux sont les arbovirus qui peuvent être à l'origine d'un syndrome ressemblant à la dengue : Chikungunya, O'Nyong Nyong, West-Nile, Ilesha, Bwamba, Tataguine, Zinga, Bangui et la liste n'est pas exhaustive. Certaines formes cliniques de fièvre jaune peuvent également se présenter comme une dengue.

La première manifestation de la dengue en Afrique est l'épidémie de Durban, en Afrique du Sud en 1926-1927, qui toucha plus de 40 000 personnes et qu'une étude sérologique rétrospective permit d'attribuer au virus dengue type 1 [4].

Manuscrit reçu le 9 janvier 1980, accepté le 8 février 1980.

(1) Adresse actuelle : Institut Pasteur, BP 304, 97305 Cayenne

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 1068 ex 1

Cote : B

Date : 23 MARS 1982

Il faut attendre 1964 pour que la première souche de virus de dengue soit isolée à Ibadan, Nigeria [5]. De 1964 à 1970, 27 souches de dengue 1 et 31 souches de dengue 2 ont été isolées au Nigeria la plupart à partir de sang humain. Deux souches seulement ont été obtenues de lots de moustiques en 1969 : l'une, d'un lot de *Aedes (Stegomyia) aegypti* capturés à Ibadan, l'autre d'un lot de *A. (St)* sp. récoltés à Jos, Nigeria. Il s'agissait dans les deux cas du type 2.

Nous rapportons l'isolement, en 1970 et 1974 au Sénégal, de deux souches de dengue de type 2, l'une à partir du sang d'un enfant, l'autre à partir d'un lot de moustiques sauvages.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sérum.

Le prélèvement de sang qui a permis l'isolement de la souche humaine a été pratiqué au 2^e jour de la maladie chez une fillette de 6 ans vue à Bandia (Sénégal) en octobre 1970, et qui présentait un syndrome fébrile avec céphalées. Le sang a été transporté en glacière jusqu'au laboratoire et congelé à -70°C jusqu'à l'inoculation.

Moustiques.

Les moustiques ont été capturés sur appât humain et mis aussitôt dans un congélateur à azote liquide dans lequel ils ont été transportés jusqu'à Dakar.

À l'arrivée au laboratoire, les moustiques ont été transvasés rapidement dans un conservateur à -70°C .

Après constitution de lots monospécifiques sur une table réfrigérée, les moustiques ont été remis à -70°C jusqu'au moment de leur inoculation au souriceau.

Inoculations.

Les inoculations ont été pratiquées chez le souriceau de 24 h. Le sérum a été inoculé pur à deux portées de souriceaux. Les moustiques ont été traités selon la méthode habituelle [8]. Deux portées de souriceaux ont été inoculées. Toutes les inoculations ont été faites par voie cérébrale sous un volume de 0,02 ml. Les passages ont été effectués comme d'habitude [8].

Identification.

Les méthodes utilisées pour l'identification ont été exposées en détail antérieurement [8].

RÉSULTATS

Isolement.

La souche HD 10674 isolée du sang de la fillette vue au dispensaire de Bandia a été inoculée aux souriceaux le jour même. Le premier passage a été effectué à partir de souriceaux trouvés malades au 10^e jour. Au cours des passages ultérieurs, le temps moyen de survie se situe entre 8 et 9 jours et il n'évoluera plus.

La souche a été réisolée sans difficulté à partir du sérum conservé au congélateur à -70°C . Malgré les passages sur souriceau, le titre n'a pas beaucoup évolué et au 25^e passage il était de $10^{4,5}$ $\text{DL}_{50}/0,02$ ml chez le souriceau nouveau-né inoculé par voie cérébrale. La souche n'est pas pathogène par voie péritonéale, de même qu'elle n'est pas pathogène pour la souris adulte, quelle que soit la voie d'inoculation.

Le virus passe à travers un filtre de 220 nm (titre $10^{4,1}$ $\text{DL}_{50}/0,02$ ml après filtration) et se montre sensible au chloroforme ($10^{1,5}$ $\text{DL}_{50}/0,02$ ml après action du chloroforme).

Après extraction par le saccharose-acétone, on obtient, des cerveaux de souriceaux infectés, un antigène de faible titre pour la réaction de fixation du complément, mais pas d'antigène hémagglutinant.

Identification.

L'antigène, dilué à 1/8 ne réagissait, en fixation du complément, qu'avec une ascite immune homologue. D'abord considérée comme nouvelle, la souche fut envoyée à l'Unité de Recherche sur les Arbovirus de Yale où les études ont montré qu'elle donnait une réaction positive en fluorescence indirecte avec un sérum de souris anti-dengue 2 (tableau I) [9].

TABLEAU I. — Résultats de la réaction d'immunofluorescence directe avec Dak HD 10674 sur cellules de « *A. pseudoscutellaris* ».

Conjugué (liquide d'ascite marqué)	Titre avec Dak HD 10674	Titre homologue
Dengue 1	< 2 (*)	8
Dengue 2	32	32
Dengue 3	< 2	16
Dengue 4	4	32

(*) Dilution donnant une fluorescence 3 ou 4 +.
Les cellules ont été récoltées 7 jours après l'inoculation du virus et les lames préparées en utilisant une suspension à 40 000 cellules/ml.

Autre isolement.

En avril 1975 on isolait, d'un lot de *A. (St) luteocephalus* capturés sur appât humain à Kédougou (Sénégal), une souche de virus (Ar D 20761) qui montrait des réactions croisées uniquement avec HD 10674 en fixation du complément (tableau II) et en neutralisation (tableau III).

TABLEAU II. — Réaction de fixation du complément croisée entre les virus HD 10674 et Ar D 20761.

Ascites immunes	Antigènes	
	HD 10674	Ar D 20761
HD 10674	64/8 (*)	32/4
Ar D 20761	32/16	16/4

(*) Inverse du titre de l'ascite/inverse du titre de l'antigène.

TABLEAU III. — Réaction de séroneutralisation croisée entre les virus HD 10674 et Ar D 20761.

Ascites immunes	Virus	
	HD 10674	Ar D 20761
HD 10674	> 2,1 (*)	2,1
Ar D 20761	> 2,1	> 2,2

(*) Log₁₀ de l'indice de neutralisation.

DISCUSSION

Il s'agit des deux premières souches de virus de la dengue isolées au Sénégal. Obtenues à 4 ans d'intervalle, dans des conditions différentes, dans des zones écologiques différentes, elles sont toutes deux des souches de dengue type 2.

Les zones d'études où les deux souches ont été isolées ont été décrites antérieurement [7, 8]. La souche humaine a été isolée du sang d'un enfant qui présentait également un paludisme à *Plasmodium falciparum* au moment du prélèvement, comme c'est assez souvent le cas [7].

La souche isolée du moustique sauvage *A. (St) luteocephalus* offre un intérêt tout particulier car elle met en évidence l'existence d'un cycle selvatique du virus de la dengue dans la région de Kédougou.

A. (St) luteocephalus (Newstead) est de loin le *Stegomyia* le plus abondant dans les zones de savanes semi-humides et sèches telles que celles du Sénégal. Vecteur important d'arbovirus, sa bioécologie a été étudiée en zone soudanienne, dans l'ouest du Sénégal [1] et en zone subsoudanienne, au Sénégal Oriental [2].

Il est abondant en saison des pluies dans toutes les zones boisées, mais sa zone de prédilection est constituée par les galeries de mangrove.

il reste cantonné dans ces zones boisées et s'en écarte peu ; il est en particulier assez mal représenté lors les captures effectuées dans les villages.

Son apparition est assez tardive en début de saison des pluies parce que la mise en eau de ses gîtes habituels, les trous d'arbres, nécessite des pluies importantes et que l'éclosion de ses œufs est très étalée dans le temps [3].

Son cycle d'agressivité présente un important pic crépusculaire et une activité diurne variable selon les conditions climatiques et la couverture végétale. Essentiellement primatophile, son activité « canopéenne » marquée le met en contact étroit avec les singes, et c'est probablement la cause du rôle important qu'il joue dans la circulation des virus touchant habituellement les singes. C'est avec les deux espèces du sous-genre *Diceromyia*, *A. furcifer* et *A. taylori*, l'un des principaux vecteurs impliqués dans les cycles sylvatiques du virus Chikungunya, du virus Zika, du virus amaril et probablement du virus Bouboui. Il est probable que des études plus approfondies lui attribueraient également un rôle essentiel dans la circulation du virus dengue 2.

Les enquêtes sérologiques ne sont d'aucune utilité du fait de la grande fréquence d'autres flavivirus. L'isolement de virus constitue donc la seule preuve irréfutable. Si l'on veut se faire une idée de la circulation du virus en Afrique, il faudra faire appel à des méthodes d'isolement plus sensibles que la méthode sur souriceau [6].

RÉSUMÉ

Le virus de la dengue type 2 a été isolé à deux reprises et à quatre ans d'intervalle au Sénégal : la première souche provient d'un enfant du village de Bandia, isolée en 1970 et la seconde provient d'un lot de moustiques *Aedes (Stegomyia) luteocephalus* capturés à Kédougou en 1974. Pour préciser l'importance de la maladie humaine et surtout pour définir les modalités du maintien de ce virus dans son cycle sylvatique, il faudra faire appel à des méthodes d'isolement plus sensibles que l'isolement sur souriceau, les études sérologiques étant de peu de secours du fait de l'importance de la circulation d'autres flavivirus.

MOTS-CLÉS : Virus de la dengue type 2, Sénégal, *Aedes (Stegomyia) luteocephalus*; Isolement, Épidémiologie.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient S. M. Buckley, R. E. Shope, J. Rodriques et I. Mattes de l'Unité de Recherche sur les Arbovirus de Yale (YARU) pour l'identification de la souche HD 10674.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CORNET, C. & CHATEAU, R., Quelques données biologiques sur *Aedes (Stegomyia) luteocephalus* (Newstead) en zone de savane soudanienne dans l'ouest du Sénégal. *Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol.*, 1974, XII (n° 2), 97-109.
- [2] CORNET, C., CHATEAU, R., VALADE, M., DIENG, P. L., RAYMOND, H. & LORANT, A., Données bioécologiques sur les vecteurs potentiels du virus amaril au Sénégal Oriental. Rôle des différentes espèces dans la transmission du virus. *Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol.*, 1978, XVI (n° 4), 315-341.
- [3] CORNET, M., DIENG, P. L. & VALADE, M., Note sur l'utilisation des pondoirs-pièges dans les enquêtes sur les vecteurs selvatiques de fièvre jaune. *Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol.*, 1978, XVI (n° 4), 309-314.
- [4] KOKERNOT, R. H., SMITHBURN, K. C. & WEINBREN, M. P., Neutralizing antibodies to arthropod-borne viruses in human and animals in the Union of South-Africa. *J. Immunol.*, 1956, 77, 313-323.
- [5] MOORE, D. L. *et al.*, Arthropod borne viral infection of man in Nigeria, 1964-1970. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1975, 69, 49-64.
- [6] Pan American Health Organization, Dengue in the Caribbean, 1977, Scientific Publication, n° 375, 1979.
- [7] ROBIN, Y., CORNET, M., COULANGES, P., LE GONIDEC, G., DHIVER, F., MARTY, M., HERY, G., VLASSAK, C. & GUEYE, A., Les arbovirus au Sénégal. Étude dans la population humaine du village de Bandia. *Afr. méd.*, 1971, 10, 739-746.
- [8] ROBIN, Y., CORNET, M., LE GONIDEC G., CHATEAU, R. et HEME, G., Un nouveau prototype d'arbovirus (Flavivirus) isolé au Sénégal : le virus Kédougou (Ar D14701). *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 1978, 129 A, 239-244.
- [9] SHOPE, R. E., Communication personnelle.