

DÉTECTION DES ANTICORPS ANTI-VIRUS DE LASSA DANS L'OUEST FORESTIER DE LA CÔTE D'IVOIRE

C. AKOUA-KOFFI, J. TER MEULEN, D. LEGROS, V. AKRAN, M. AÏDARA, N. NAHOUNOU, P. DOGBO, A. EHOUMAN

Med Trop 2006; **66** : 465-468

RÉSUMÉ • La fièvre de Lassa est une fièvre hémorragique virale (FHV) africaine endémique en Afrique de l'Ouest, notamment au Nigeria, en Sierra Leone, au Liberia et en Guinée. La Côte d'Ivoire qui partage des frontières avec le Liberia et la Guinée n'a jamais notifié de cas de fièvre de Lassa. Dans le cadre d'un projet de recherche sur les fièvres hémorragiques virales principalement la fièvre jaune, la fièvre de Lassa et la fièvre Ebola en Guinée et en Côte d'Ivoire, une enquête a été réalisée en mars 2000 chez des travailleurs forestiers des préfectures de Guiglo et Duékoué, dans le but de déterminer le niveau de connaissance sur les fièvres hémorragiques virales et le statut immunitaire vis à vis du virus de Lassa. Cent soixante-trois sujets de sexe masculin professionnels de la forêt ont été interrogés à l'aide d'un questionnaire sur les facteurs de risque d'exposition aux FHV et leurs antécédents médicaux des 12 derniers mois. Les anticorps sériques de type IgG anti-virus de Lassa ont été détectés par technique d'immunofluorescence utilisant les antigènes Lassa des souches Josiah et LAS/AV. La prévalence globale en IgG obtenue était de 26% (42/161). Parmi les sujets positifs, 38,5% étaient des bûcherons dont 20% positifs au 1/40, 46,7% des agents du parc national ou gardes forestiers dont 69% positifs au 1/40 et plus. De plus, 41% des sujets avaient entendu parler des FHV, 14% ont attribué leur origine à des animaux et 2% à des plantes. Les contacts avec les rongeurs étaient fréquents et plus de 50% des personnes ont déjà consommé ou dépecé des rongeurs. La proportion de sujets porteurs d'anticorps IgG anti-virus de Lassa dans cette population semblait élevée. Cependant cette prévalence ne permet pas de conclure à une exposition particulière au virus de Lassa.

MOTS-CLÉS • Virus de Lassa - IgG - Forestiers - Côte d'Ivoire

DETECTION OF ANTI-LASSA ANTIBODIES IN THE WESTERN FOREST AREA OF THE IVORY COAST

ABSTRACT • Lassa fever is an African viral hemorrhagic fever (VHF) known to be endemic in a number of West African countries including Nigeria, Sierra Leone, Liberia and Guinea. Despite having common borders with Liberia and Guinea, Côte d'Ivoire has never reported any cases of Lassa fever. In March 2000, as part of a research project on VHF –mainly yellow fever, Lassa fever and Ebola fever – in Guinea and Côte d'Ivoire, an exploratory survey was conducted to assess knowledge about VHF and immunological status against Lassa virus among forest workers in the Duekoue and Guiglo regions. One hundred and sixty-three male forest workers were interviewed using a questionnaire designed to assess risk factors for VHF exposure and personal medical history over the last 12 months. Detection of IgG antibodies against Lassa virus was performed by immunofluorescence assay with Lassa virus antigens from the Josiah and Las/AV strains. The overall prevalence of IgG antibodies was 26% (42/161). Among the Lassa IgG positive subjects, 38,5% were loggers including 20% that were positive at a serum dilution of 1/40 and 46,7% were national park workers or forest rangers including 69% that were positive at a dilution of 1/40 and more. Forty-one percent of subjects had heard of VHF including 14% who attributed it to animals and 2% who attributed it to plants. Contact with rodents was frequent and more than 50% of subjects had either eaten or skinned rodents. Although the prevalence of anti-Lassa IgG antibodies seemed high in the study population, no conclusion can be about level of exposure to Lassa virus.

KEY WORDS • Lassa virus - IgG - Forest workers - Côte d'Ivoire.

La fièvre de Lassa est une fièvre hémorragique virale grave due à un arnavirus, le virus de Lassa, isolé pour la première fois au Nigeria en 1969. La fièvre de Lassa est endémique en Afrique de l'Ouest, notamment en Sierra Leone, au

Liberia, en Guinée et au Nigeria avec 300 000 à 500 000 infections chaque année et un taux de létalité variant de 10 à 15%. La fièvre de Lassa se caractérise par un syndrome fébrile accompagné de troubles digestifs et respiratoires, et de saignements liés aux lésions capillaires qui accroissent les désordres hémodynamiques. La ribavirine est l'antiviral de choix à condition d'une prise en charge thérapeutique précoce (1-5).

Le virus a été isolé de cas humains notifiés et chez les rongeurs, réservoirs de virus (2,6). Ce réservoir de virus, *Mastomys natalensis*, est présent dans tous les pays ouest-africains, en zones de savanes comme en zones forestières et il est retrouvé dans les habitations (3). Malgré la présence de *Mastomys* aucun cas de fièvre de Lassa n'a jamais été notifié en Côte d'Ivoire avant la survenue du cas fatal contracté par une touriste allemande qui avait séjourné en Côte d'Ivoire, au Ghana et au Burkina Faso en octobre 1999 et décédée en janvier 2000 (7). La région sanitaire des Montagnes comprend

• Travail du Laboratoire des arbovirus/entérovirus (C.A.-K. Maître-assistant, UFR Sciences Médicales d'Abidjan-Cocody, Chef de Laboratoire; V.A., Attaché de recherche; A.E., Directeur de l'Institut Pasteur), Institut Pasteur Côte d'Ivoire, de l'Institut de virologie (J.t.M., Virologiste) Université Philipps de Marburg, du Groupe Européen d'Expertise en Epidémiologie (Epicentre) (D.L., Directeur) Paris, du Centre médical (M.A., Médecin chef) société forestière Thanry, Guiglo, de la Direction départementale de santé Duékoué (N.N., Directeur Départemental de la Santé), Duékoué et de la Direction départementale de santé (P.D., Directeur Départemental de la Santé), Guiglo.

• Correspondance : C. AKOUA-KOFFI, Laboratoire des Arbovirus/Entérovirus, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 ABIDJAN • Fax : 225 23 45 76 23 •

• Courriel : polioci@globeaccess.net / akouamc@yahoo.fr

• Article reçu le 23/11/2005, définitivement accepté le 5/05/2006.

les districts sanitaires de Duekoué, Danané, Guiglo et Man et fait frontière avec la Guinée et le Liberia, pays d'endémie de Lassa. Dans le cadre d'un projet de recherche sur les fièvres hémorragiques virales coordonné par Epicentre dans le but de contribuer à une meilleure connaissance des fièvres hémorragiques virales, une enquête exploratoire a été réalisée parmi les travailleurs forestiers des districts sanitaires de Duekoué et Guiglo. Cette étude avait pour objectif de déterminer le niveau de connaissances de ces travailleurs sur les fièvres hémorragiques et leur statut immunitaire vis-à-vis des virus de Lassa.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude transversale réalisée dans les préfectures de Duekoué et Guiglo, qui comptaient respectivement 195 000 habitants et 390 000 habitants (Fig. 1).

Population étudiée

La population étudiée était composée de travailleurs forestiers : bûcherons, conducteurs de bus et pisteurs d'une entreprise forestière, gardes forestiers et agents des eaux et forêts de cantonnement et des parcs nationaux, agents de la société de développement des forêts (Sodefor), société parapublique. Le critère d'inclusion, après un consentement éclairé, était la résidence dans l'une des deux préfectures. Ont été exclus tous ceux qui refusaient la prise de sang pour la sérologie ou qui refusaient de répondre aux questions de la formule d'enquête.

Questionnaire

A l'aide d'un formulaire d'enquête de type connaissance, attitude et pratique (CAP), une série de questions sur les fièvres hémorragiques a été proposée aux sujets. Ces questions portaient sur les informations démographiques (âge, sexe, district d'origine, durée de séjour dans le district, pro-

fession, religion, voyages récents), sur l'exposition aux facteurs de risque potentiels (contact avec les rongeurs, singes et chauves souris, pratiques à risques en rapport avec la forêt ou les animaux, contact avec sujet suspect vivant ou décédé, facteurs de risque nosocomiaux), sur les antécédents cliniques des douze derniers mois.

Détection des anticorps anti-virus de Lassa

Pour chaque sujet interrogé, 5-10 ml de sang veineux ont été recueillis par ponction au pli du coude, dans des tubes sans anticoagulant pour l'obtention de sérum à tester.

La technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) a été utilisée pour la détection des anticorps de type IgG anti-virus de Lassa comme décrite par ter Meulen *et Coll* (8). Les sérums témoins positifs et négatifs ont été fournis par le Dr ter Meulen. Les antigènes préparés sur cellules Vero puis fixées sur lames d'immunofluorescence au laboratoire P4 de l'Institut de Médecine tropicale Bemhardt Nocht de Hambourg (Allemagne) étaient de deux origines : souche Josuah ou Jos (Sierra Leone) et souche Las/AV (isolée de la touriste allemande décédée de fièvre de Lassa après un séjour en Côte d'Ivoire, au Burkina Faso et au Ghana). Les sérums ont été testés aux dilutions 1/20, 1/40 et 1/80 vis à vis des deux antigènes Jos et Las/AV. Les puits dont au moins 5 cellules infectées présentent une fluorescence verte granulaire de la nucléoprotéine intra-cytoplasmique caractéristique ont été considérés comme positifs. Les doubles des sérums ont été analysés au laboratoire de Hambourg.

Analyse statistique des données

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Epi/info604 et nous avons utilisé le test chi carré avec correction de Yates lorsque les effectifs étaient inférieurs à 5 et le test exact de Fisher.

RÉSULTATS

Données démographiques

Cent soixante-trois sujets, tous des hommes, 39 (24 %) de la préfecture de Duekoué et 124 (76 %) de la préfecture de Guiglo, ont participé à l'enquête. Tous exerçaient une profession qui les obligeait à avoir un contact étroit avec la forêt, car ils devaient y pénétrer dans le cadre de leurs activités professionnelles. Parmi eux, 90 % résidaient dans les préfectures depuis plus de 3 mois, et la durée moyenne de séjour était de 6,2 ans (0-38 ans), 49,3 % séjournaient dans ces préfectures depuis 1 à 3 ans et 53 % des sujets y avaient une durée de travail de 1 à 3 ans.

En effet, 54 % étaient des agents de l'entreprise forestière dont 44 % de bûcherons, 31 % des agents des eaux et forêts de cantonnement et de parcs nationaux (Duekoué et Zagné) et 15 % de la Sodefor. Leur âge variait entre 20 et 65 ans, avec une moyenne de 37,5 ans (écart type = 9,23) et un âge médian de 38 ans.

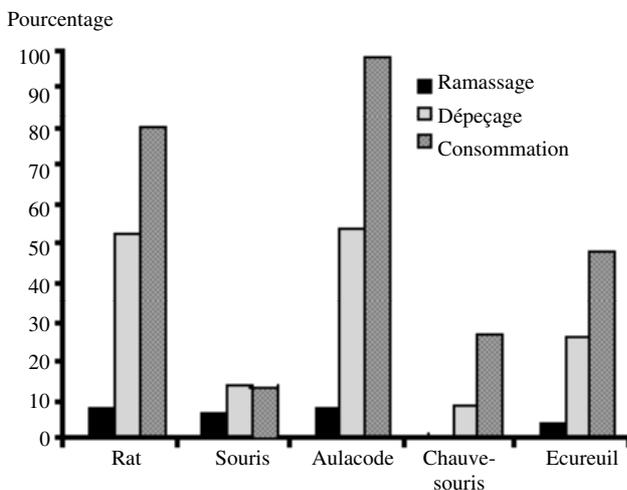


Figure 1 - Fréquence rapportée de contact avec des animaux réservoirs potentiels du virus de Lassa.

Tableau I - Répartition des positifs en IgG anti-virus de Lassa selon la profession.

Profession	Présence IgG anti-virus de Lassa (n = 42)			Absence IgG anti-virus de Lassa (n = 119)
	1/20	1/40	1/80	
Bûcherons (n = 39)	12 (30,8%)	2 (5,1%)	1 (2,6%)	24 (61,5%)
Autres (n = 48)	9 (18,8%)	0	0	39 (81,3%)
Agents du parc / gardes forestiers (n = 51)	4 (7,8%)	8 (15,7%)	1 (2%)	38 (74,5%)
Agents Sodefor (n = 23)	4 (17,4%)	1 (4,3%)	0	18 (78,3%)

Connaissance des fièvres hémorragiques virales et exposition aux facteurs de risque

Parmi les sujets interrogés, 54 % des sujets de l'enquête n'avaient jamais entendu parler des fièvres hémorragiques virales (FHV) notamment la fièvre de Lassa, et 64 % ne connaissaient pas d'animal pouvant être impliqué dans leur transmission mais 28 % et 2 % ont attribué leur origine respectivement à des animaux et à des plantes.

Les contacts avec les rongeurs, notamment le rat et l'aulacode étaient fréquents : plus de 50 % des personnes avaient déjà consommé ou dépecé des rongeurs (jusqu'à une proportion de 80 % de sujets selon l'espèce de rongeur).

Scarifications ou interventions chirurgicales étaient retrouvées respectivement chez 23 et 13 % des sujets et 77 % avaient reçu au moins une injection le plus souvent intramusculaire.

Lors des 12 derniers mois, 12 à 77 % des sujets avaient eu un contact avec un patient pouvant être suspect de fièvre hémorragique virale (patient ictérique, hémorragique, décès suspect).

La notion de fièvre avec saignements et d'hypoacousie ou surdité a été retrouvée respectivement chez 8,6 % des sujets et celle d'ictère fébrile chez 10,4 %.

Sérologie anti-virus de Lassa

Sur 161 sérums testés, 42 possédaient des anticorps IgG anti-virus de Lassa, soit une prévalence globale de 26 % (42/161), 8/39 (21 %) à Duékoué et 33/124 (27 %) à Guiglo. L'âge moyen des sujets porteurs d'anticorps anti-virus de Lassa était 35 ± 11,5 ans, 25 % étaient des gardes forestiers et 29 % des bûcherons.

Parmi les sujets positifs, 38,5 % étaient des bûcherons dont 20 % positifs au 1/40, 25 % des agents du parc national ou gardes forestiers dont 69 % positifs à la dilution 1/40 et plus et 21,7 % des agents de la société forestière (Tableau I).

Vis à vis de la souche d'antigène, 25 (60 %) avaient réagi avec l'antigène Jos seul, 9 (21 %) avec l'antigène Las/AV seul, notamment dans la préfecture de Guiglo et 8 (19 %) avec les deux types d'antigènes dont 5 à Guiglo et 3 à Duékoué.

Par rapport aux facteurs de risque, le seul sujet qui ramassait des chauve-souris mortes s'est révélé porteur d'IgG anti-virus de Lassa, ce qui comparé à ceux qui ramassaient des rongeurs morts a donné un rapport de prévalence de 3,85 (IC 95 % = [2,96 - 5,01]). Il n'y a pas eu de différences statistiquement significatives entre exposés et non exposés pour

les autres facteurs de risques étudiés, même chez les consommateurs de rongeurs dont 18 % de positifs.

Concernant les antécédents cliniques des 12 derniers mois, 14 % avaient signalé un syndrome hémorragique, 16 % un syndrome ictérique, 29 % des douleurs abdominales et 36 % une hypoacousie ; cependant, aucune différence statistiquement significative n'a été observée selon l'existence ou non d'antécédents cliniques chez ces travailleurs forestiers.

DISCUSSION

Les infections par Arenavirus ne sont pas documentées en Côte d'Ivoire. En ce qui concerne la fièvre de Lassa, la seule donnée disponible non publiée provient d'une étude sérologique réalisée par Thonnon *et Coll* et ayant utilisé l'antigène IPPY. Cette étude avait été réalisée dans les populations de la forêt de Taï, dans le district sanitaire de Guiglo, et une prévalence de 2 % (17/7699) avait été obtenue (rapport d'activités IPCI, 1993).

La prévalence de 26 % dans une population exposée par sa profession aux facteurs de risques potentiels a révélé la circulation du virus à un niveau élevé particulièrement chez les bûcherons et les gardes forestiers des parcs nationaux. Le taux de positivité aux deux types d'antigènes pourrait laisser supposer que deux souches circulaient dans la région, avec une distribution restreinte à Guiglo de la souche Las/AV. Une étude à grande échelle et surtout l'isolement de souches permettront de caractériser les souches circulantes en Côte d'Ivoire par rapport aux quatre variants génomiques décrits par Bowen *et Coll*, dont 3 au Nigeria (6). En Afrique centrale, notamment en République Centrafricaine et au Congo-Brazzaville, les taux de prévalence obtenue par IFI, semblent faibles, variant de 0,6 % à 4,8 % (9-11). Nous avons utilisé des antigènes viraux issus de souches virales circulant en Afrique de l'Ouest en IFI, technique permettant de visualiser la nucléoprotéine virale dans les cellules infectées. La technique d'IFI pourra être comparée à une technique immuno-enzymatique type ELISA ou un immunoblot utilisant des anticorps recombinants anti-nucléoprotéines qui permettront des analyses de grandes séries sérologiques (12, 13). En effet, ces résultats considérés comme préliminaires permettent d'envisager une étude en population générale pour déterminer la prévalence générale et aussi un renforcement de la surveillance des fièvres hémorragiques virales par la recherche de symptômes évocateurs de fièvre de Lassa, particulièrement dans les régions forestières du pays.

Les facteurs de risque d'exposition existent : présence de rongeurs réservoirs de virus, contacts avec les rongeurs, pratiques à risques et facteurs de risques nosocomiaux, et constituent un risque potentiel d'épidémisation de fièvre de Lassa.

L'absence de vaccin contre le virus de Lassa impose une surveillance rigoureuse de cette pathologie grave par son caractère épidémique, nosocomial et son taux de létalité élevé. Les études ultérieures porteront aussi sur l'isolement et la caractérisation du virus afin de comparer les souches à celles qui circulent en Afrique de l'Ouest et du Centre.

CONCLUSION

La proportion de sujets porteurs d'anticorps IgG anti-virus de Lassa dans cette population semble élevée et c'est la première fois qu'une telle prévalence est observée dans le pays. Cependant, notre étude préliminaire ne permet pas encore de conclure quant aux différents aspects de l'exposition au virus de Lassa en Côte d'Ivoire. Seules les études ultérieures permettront d'obtenir des réponses aux interrogations suscitées par ces résultats préliminaires.

Remerciements • Nous tenons à remercier le Dr Aristide Aplogan, médecin épidémiologiste, pour sa contribution à cette étude financée par l'Union Européenne, fonds INCO-DC ERBIC18 CT98 0382, et coordonnée par Epicentre.

RÉFÉRENCES

- 1 - FISHER-HOCH SP, MCCORMICK JB - Towards a human Lassa fever vaccine. *Rev Med Virol* 2001; **11** : 331-41.
- 2 - WULFF H, FABIYI A, MONATH TP - Recent isolations of Lassa virus from Nigerian rodents. *Bull World Health Organ* 1975; **52** : 609-13.
- 3 - JAHRLING PB - Hloviuses and Aenavirus. In «Manual of clinical Microbiology». ASM ed, New York, 1995, pp 1068-81.
- 4 - JAHRLING PB, FRAME JD, SMITH SB, MONSON MH. Endemic Lassa fever in Liberia. III Characterization of Lassa virus isolates. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985; **79** : 374-80.
- 5 - JAHRLING PB, FRAME JD, RHODERICK JB, MONSON MH - Endemic Lassa fever in Liberia. IV. Selection of optimally effective plasma for treatment by passive immunization. *Trans. R Soc Trop Med Hyg* 1985; **79** : 380-84.
- 6 - BOWEN MD, ROLLIN PE, KSIAZEK TG *et Coll* - Genetic diversity among Lassa virus strains. *J Virol* 2000; **74** : 6992-7004.
- 7 - GUNTHER S, EMMERICH P, LAUE T *et Coll* - Imported Lassa fever in Germany : molecular characterization of a new lassa virus strain. *Emerg Infect Dis* 2000; **6** : 466-76.
- 8 - TER MEULEN J, LUKASHEVICH I, SIDIBE K *et Coll* - Hunting of peridomestic rodents and consumption of their meat as possible risk factors for rodent-to-human transmission of Lassa virus in the Republic of Guinea. *Am J Trop Med Hyg* 1996; **55** : 661-6.
- 9 - GEORGES AJ, GONZALEZ JP, ABDUL-WAHID S *et Coll* - Antibodies to Lassa and Lassa-like viruses in man and mammals in Central African Republic. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985; **79** : 78-9.
- 10 - NAKOUNNÉ E, SELEKON B, MORVAN J - Microbiological surveillance : viral hemorrhagic fever in Central African Republic, current serological data in man. *Bull Soc Pathol Exot* 2000; **93** : 340-7.
- 11 - TALANI P, KONONGO JD, GROMYKO AI *et Coll* - Prévalence des anticorps anti-fièvres hémorragiques d'origine virale dans la région du Pool (Congo-Brazzaville). *Med Afr Noire* 1999; **46** : 424-7.
- 12 - BAJANI MD, TOMORI O, ROLLIN PE *et Coll* - A survey for antibodies to Lassa virus among health workers in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997; **91** : 379-81.
- 13 - TER MEULEN J, KOULEMOU K, WITTEKINDT T *et Coll* - Detection of Lassa virus antigen and immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies with a simple recombinant immunoblot assay for field use. *J Clin Microbiol* 1998; **36** : 3143-8.