

MENINGO-ENCEPHALITE A ARBOVIRUS WEST NILE EN TUNISIE

H. TRIKI, S. MURRI, B. LE GUENNO, O. BAHRI, K. HILI, M. SIDHOM, K. DELLAGI

Med. Trop. 2001; **61** : 487-490

RESUME • L'automne 1997 a été marqué par l'écllosion d'une épidémie de méningo-encéphalite dans deux gouvernorats côtiers en Tunisie comptant au total 173 cas dont 8 décédés. Une infection par le Virus West Nile a été retrouvée chez 86 % des patients prélevés avec des tests ELISA immunocapture et indirect pour la recherche d'IgM et d'IgG respectivement. Le virus West Nile sévit à l'état endémique en Asie et Afrique Sub-Saharienne, des épidémies humaines ou équine ont été rapportées dans des pays non endémiques particulièrement en région Méditerranéenne et en Europe du Sud, mais c'est la première fois qu'une telle épidémie est rapportée en Tunisie. Une surveillance attentive de cette arbovirose migrante s'avère nécessaire particulièrement dans les pays à risque de ré-introductions répétitives du virus.

MOTS-CLES • Arbovirus - West Nile - Méningo-encéphalite.

WEST-NILE VIRAL MENINGOENCEPHALITIS IN TUNISIA

ABSTRACT • In autumn 1997 an epidemic outbreak of meningoencephalitis was observed in two coastal districts of Tunisia. A total of 173 cases were recorded with 8 deaths. Detection with IgM capture and indirect IgG ELISAs demonstrated West Nile virus infection in 86 % of patients from whom specimens were collected. West Nile is endemic in Asia and Sub-Saharan Africa. Epidemics in humans and horses have also been reported in the Mediterranean region and southern European countries. However this is the first report in Tunisia. Special West Nile virus surveillance is necessary especially in countries at high-risk for repeated introduction of this arbovirus.

KEY WORDS • Arbovirus - West Nile - Meningoencephalitis.

En 1997, 173 cas de méningite et de méningo-encéphalite ont été notifiés, durant une période de trois mois environ. La grande majorité des patients étaient originaires de deux gouvernorats côtiers de la Tunisie: Sfax et Mahdia. La symptomatologie était caractérisée par un syndrome méningé constant associé le plus souvent à une fièvre et des signes d'atteinte encéphalitique. L'analyse du liquide céphalorachidien (LCR) des patients a confirmé la présence d'une méningite aseptique à prédominance lymphocytaire dans la grande majorité des cas. Devant la négativité des explorations bactériologiques, les aspects cliniques évocateurs d'une étiologie virale et l'absence d'isolement de virus courants (entérovirus, herpèsvirus et adénovirus), l'éventualité d'une arbovirose a été évoquée quoique l'infection par ce groupe de virus n'avait jamais été rapportée dans le pays, du moins en

pathologie humaine. Les explorations sérologiques ont confirmé une infection à virus West Nile (WN) dont l'introduction occasionnelle dans des pays non endémiques a été également rapportée, notamment en Algérie, Maroc et Roumanie (1-3). Nous rapportons ici les résultats de l'investigation sérologique des patients et les principales caractéristiques épidémiologiques de cette épidémie.

MATERIEL ET METHODES:

Patients, prélèvements.

Au total, 173 cas de méningite ou méningo-encéphalite ont été recensés dans le pays; tous ont été hospitalisés dans les hôpitaux de leur gouvernorats d'origine et 129 ont bénéficié d'une exploration sérologique dans le sérum ou le liquide céphalorachidien (LCR): 119 malades ont eu au moins un prélèvement de sang avec un deuxième prélèvement de sang dans 35 cas et un prélèvement de LCR dans 13 cas. Dix malades n'ont eu qu'un prélèvement de LCR sans prélèvement de sang.

Tests sérologiques.

Les anticorps de type IgM et IgG, spécifiques du virus West Nile, ont été recherchés par technique ELISA sur tous les prélèvements de sang (n = 154) et de LCR (n = 23) reçus. Pour la recherche des IgM, il s'agit d'une technique d'immunocapture dans laquelle les prélèvements (sérum ou LCR), dilués au 1/100, sont incubés dans les puits d'une microplaque ELISA sensibilisée par des anti-

• Travail de Laboratoire de virologie clinique (H.T., Médecin virologiste, Maître de conférence agrégé, Chef du Laboratoire; O.B., Médecin virologiste, Assistante hospitalo-universitaire) et du Laboratoire d'Immunologie (K.D., Professeur, Chef du Laboratoire) Institut Pasteur de Tunis Tunisie, du Centre National de Référence/Centre Collaborateur OMS pour les Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques (S.M., Technicienne; B.L.G., Pharmacien virologiste) Institut Pasteur de Paris, France et de la Direction des Soins de Santé de Base (K.H., Médecin épidémiologiste; M.S., Médecin inspecteur général) Ministère de la Santé Publique, Tunisie.

• Correspondance : H. TRIKI, Laboratoire de Virologie Clinique, Institut Pasteur de Tunis, 13, Place Pasteur, BP 74, 1002 Tunis Tunisie • Fax +216 71 791 833 • e-mail : henda.triki@pasteur.rns.tn •

• Article reçu le 14/03/2001, définitivement accepté le 27/09/2001.

IgM humaines (SIGMA). Les IgM anti-WN sont détectées par l'adjonction ultérieure de l'antigène viral purifié à partir du virus cultivé sur cerveau de souris nouveau-né puis d'un anticorps spécifique produit sur souris [Centre National de Référence (CNR) pour les Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques - Institut Pasteur de Paris, France], suivie de l'adjonction d'une anti-IgG de souris couplée à la peroxydase (SIGMA) et enfin du substrat de l'enzyme TMB (KPL). La recherche des IgG a été faite par une technique ELISA indirecte avec des microplaques sensibilisées à l'antigène viral produit sur cultures de cellules VERO (CNR pour les Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques, Institut Pasteur de Paris, France). Après incubation des sérums ou LCR, les IgG spécifiques du virus WN sont révélées par une anti-IgG humaine couplée à la peroxydase (SIGMA) et du substrat de l'enzyme, TMB (KPL). Des contrôles positifs et négatifs (CNR pour les Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques - Institut Pasteur de Paris - France) sont inclus dans chaque série et la sérologie IgM ou IgG est considérée comme positive si la Densité Optique (DO) de l'échantillon est supérieure à la moyenne des contrôles négatifs plus 3 écarts-types. Les 8 premiers sérums et 12 premiers LCR reçus ont été testés, par la même méthodologie, vis à vis d'autres antigènes d'arbovirus et de virus de fièvre hémorragique : dengue, Sindbis, encéphalite à tiques (TBE), fièvre de la vallée du Rift (RVF), Crimée-Congo, fièvre de Lassa, Ebola et Hantavirus.

RESULTATS

Les 173 cas détectés sont survenus durant une période de 3 mois environ, le premier cas date du 7 septembre 1997, le dernier cas a été notifié le 12 décembre 1997. Le nombre de cas détectés par semaine était maximum durant les trois dernières semaines d'octobre et la première semaine de novembre avec plus de 20 cas notifiés par semaine (Fig. 1).

L'évolution a été fatale chez 8 patients, tous âgés de plus de 60 ans (4,6 % des cas).

La grande majorité des cas provenaient des gouvernorats de Mahdia et Sfax : 105 cas (61 %) et 53 cas (31 %) respectivement. Par rapport à la population totale des deux gouvernorats, le taux d'attaque était 4,5 fois plus important à Mahdia qu'à Sfax : 30 et 7 cas pour 100 000 habitants respectivement (Fig. 2). Quelques cas provenaient de gouvernorats différents mais géographiquement proches: 8 cas à Monastir, 6 cas à Sousse et 1 cas à Kairouan. La grande majorité des malades vivaient en milieu rural, les grandes villes, chef lieux des gouvernorats sus-cités ont été épargnées. L'interrogatoire des malades et de leurs contacts n'a pas révélé de morbidité ou de mortalité anormale chez les animaux d'élevage et les équidés dans les régions atteintes.

L'investigation en ELISA IgG et IgM des 8 premiers sérums et 12 premiers LCR reçus, vis à vis de plusieurs antigènes d'arbovirus et de virus de fièvres hémorragiques, n'a révélé de réactivité qu'avec l'antigène WN, seule une faible réactivité croisée a été retrouvée avec l'antigène TBE mais les densités optiques étaient largement inférieures à celles obtenues avec l'antigène WN. Ceci a permis d'orienter vers l'étiologie à virus WN de l'épidémie ; c'est ainsi que tous les prélèvements ultérieurs n'ont été testés que vis-à-vis du virus WN. Sur les 129 patients explorés, des anticorps de type IgM, spécifiques du virus West Nile, ont été retrouvés dans le sang et /ou le LCR de 111 patients (86 %) dont la plupart (93 %) avaient également des IgG spécifiques du virus dans le sang. Sur les 18 malades négatifs, 14 ont eu un prélèvement de sang collecté au moins 3 semaines après le début de la maladie et totalement négatif en IgM et IgG WN. Il n'y a pas eu d'autres sérologies virales pratiquées mais l'infection à virus WN a été totalement écartée. Les quatre autres patients n'ont eu

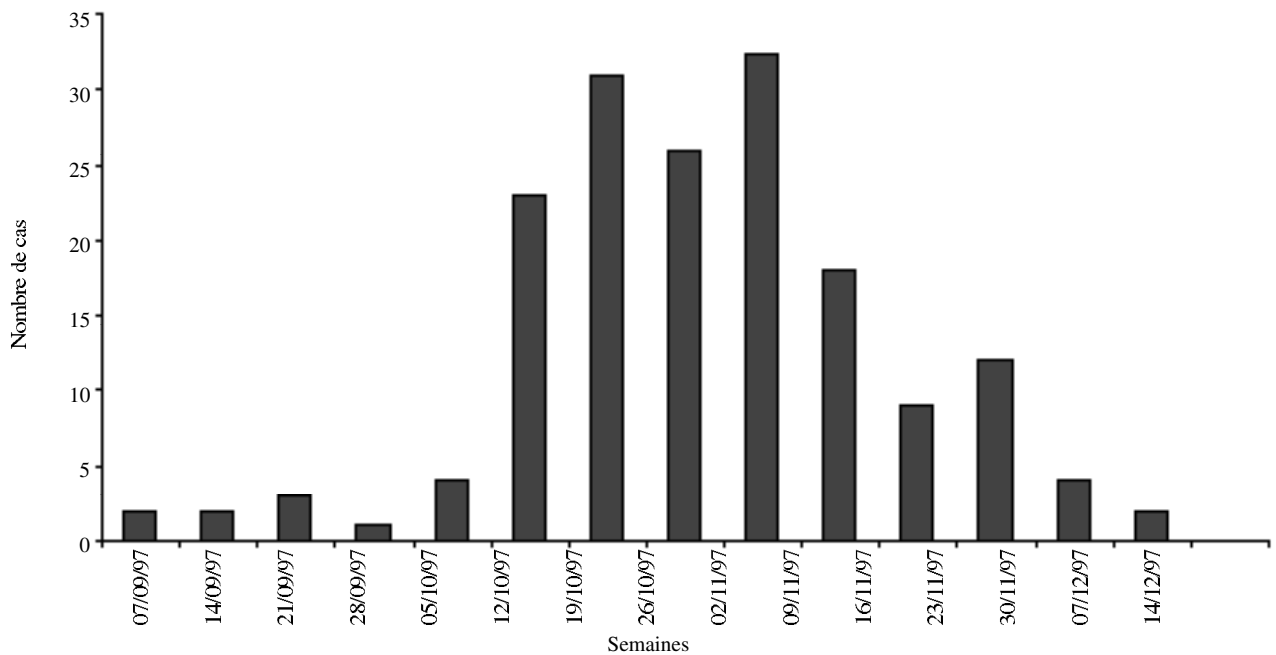


Figure 1 - Distribution des cas de méningo-encéphalite en fonction de la date d'hospitalisation.

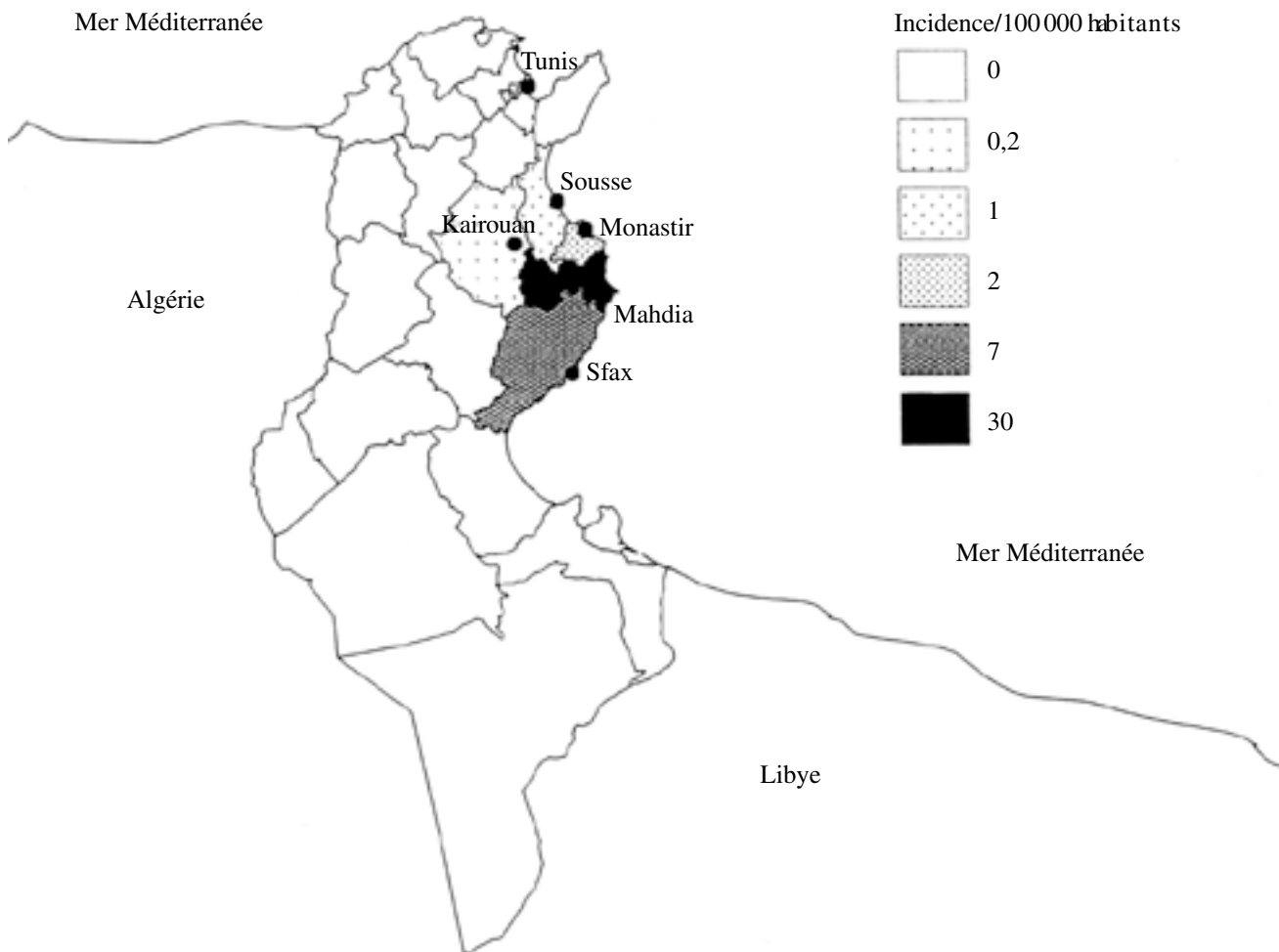


Figure 2 - Taux d'incidence pour 100000 habitants de l'épidémie de méningo-encéphalite. La figure montre la carte de la Tunisie avec sa capitale Tunis et les 5 gouvernorats touchés, lesquels portent le même nom que leur chef-lieux.

qu'un prélèvement de LCR qui s'est révélé négatif en IgG et IgM WN. L'âge moyen des patients pour lesquels le diagnostic a été confirmé était de 38,7 ans (2 à 85 ans). Parmi les 8 malades décédés, 5 ont été prélevés pour investigations virologiques et avaient un âge moyen de 64,2 ans (60 à 69 ans) : 4 ont eu des prélèvements de LCR uniquement, ils étaient tous positifs en ELISA IgM et l'un d'eux était également positif en IgG. Pour l'autre patient, le LCR était ELISA négatif mais le prélèvement de sang s'est révélé positif en ELISA IgM et IgG. Les 35 malades ayant eu un deuxième prélèvement de sang tardif étaient tous déjà positifs, au moins en IgM WN, au premier prélèvement ; le second prélèvement a permis de confirmer l'infection, les IgG étant positives dans tous les cas.

DISCUSSION

Le virus WN est un Flavivirus dont le cycle naturel implique des oiseaux comme réservoir du virus et des moustiques, principalement du genre *Culex*, comme vecteurs. L'infection sévit à l'état endémique dans certaines régions du monde notamment l'Afrique Equatoriale, le Moyen Orient et l'Asie du Sud Ouest. Des cas sporadiques ou épidémiques,

chez l'homme ou l'animal, ont été rapportés dans plusieurs pays habituellement indemnes, suite à des introductions occasionnelles du virus, notamment en Europe (4,5) et plus récemment aux Etats Unis d'Amérique (6). En Tunisie, des enquêtes sérologiques antérieures, réalisées durant les années 1980, sur des sérums humains et/ou animaux, ont suggéré une transmission du virus WN dans le pays (7, 8), mais il s'agit ici de la première description de cas cliniques humains confirmés et regroupés sous forme d'épidémie. Des IgM spécifiques du virus West Nile ont été retrouvées chez 86 % des malades prélevés, accompagnées dans la grande majorité des cas d'IgG spécifiques du virus. Récemment, le virus WN a pu être isolé à partir des biopsies de cerveau d'un des malades décédés, une analyse génétique complète de la souche virale est en cours. Des résultats préliminaires relatifs à la séquence obtenue dans la région E du génome indiquent que la souche est génétiquement très proche de celles ayant circulé en Israël en 1998 et à New York en 1999 (9). Il est à souligner que le virus WN est généralement difficile à isoler à partir des prélèvements humains, du fait certainement d'une virémie faible et brève et de la présence du virus durant une courte période dans les tissus nerveux et le LCR. Quand les signes cliniques apparaissent, le virus n'est souvent plus retrouvé. Dans la plupart des épidémies jusque là décrites, le virus a été plutôt isolé à

partir d'animaux, d'oiseaux ou de moustiques (5). Au cours de l'épidémie de Roumanie, le virus n'a pu être isolé qu'à partir d'un seul prélèvement parmi les 106 échantillons de sang et de LCR explorés. Pour la récente épidémie à New York, le virus n'a été isolé qu'à partir d'un prélèvement d'oiseau, les prélèvements humains n'ont été positifs qu'en PCR (10).

Les espèces animales atteintes lors des épidémies analogues les plus récemment rapportées ont été très variables. L'épidémie du Maroc (2) a été caractérisée par une atteinte des chevaux avec un seul cas d'encéphalite humaine. En Algérie (1) et Roumanie (3), seuls des cas humains ont été répertoriés. L'épidémie de New York (6,10) a intéressé aussi bien l'homme que l'animal (oiseaux et chevaux). Pour l'épidémie tunisienne, seuls des cas humains ont été recensés, l'enquête épidémiologique dans les régions atteintes n'a pas révélé de morbidité ou mortalité anormalement élevée, notamment parmi les chevaux, ânes et oiseaux d'élevage, cibles potentielles de l'infection par le virus. Par ailleurs et comparativement aux épidémies récemment décrites dans d'autres pays, le taux de mortalité de l'épidémie tunisienne est relativement faible: 4,6 %. L'épidémie d'Algérie en 1994 avait un taux de mortalité plus élevé : 16 % (8/50), si l'on considère la totalité des cas cliniques répertoriés et 40 % (8/20), si l'on considère les cas d'encéphalite uniquement. Durant l'épidémie de New York en 1999, le diagnostic a été confirmé chez 62 patients dont 7 décès et, durant l'année 2000, vingt et un cas humains ont été confirmés avec deux décès (11); l'épidémie de méningo-encéphalite humaine survenue en Roumanie en 1996 où, sur les 767 cas cliniques compatibles avec une infection par le virus WN, il y a eu 17 morts (3); celle de Volgograd (Russie) en 1999 a touché plus de 800 personnes, dont 84 cas de méningo-encéphalite parmi lesquels il y a eu 40 décès rapportés (12).

La voie par laquelle le virus s'est introduit dans le pays et a provoqué l'épidémie rapportée reste encore à élucider. En dehors des régions endémiques, la circulation très faible voire absente du virus est généralement liée à l'absence du réservoir du virus et c'est, entre autres, le cas de la Tunisie. Or, la Tunisie se trouve sur le trajet d'importantes migrations d'oiseaux lesquels, lors de leurs déplacements de l'Afrique vers l'Europe et inversement, font escale dans certains points privilégiés des côtes tunisiennes. Pour une traversée rapide et aisée de la Méditerranée, ces oiseaux migrateurs passent souvent par la Tunisie vers l'Italie puisque seuls 140 kilomètres séparent la pointe du Cap Bon tunisien de la Sicile. Malgré l'afflux important et régulier de ces oiseaux, celui-ci n'a jamais eu un impact aussi important sur la santé de l'homme ou de l'animal en Tunisie, probablement parce que leur passage survient généralement avant la saison humide, à une période où les moustiques ne sont pas encore en abondance et de ce fait, le virus n'est pas transmis de façon significative à l'homme ou à l'animal. L'été-automne 1997 a été marqué par une pluviométrie anormalement élevée en Tunisie et une pullulation de moustiques particulièrement abondante ce qui aurait permis la transmission à l'homme. Des facteurs climatiques analogues ont été également suggérés comme facteurs déclenchants potentiels des épidémies de WN en Algérie et au Maroc, précédées, elles aussi, par une pluviométrie anormalement élevée et survenues aux mêmes périodes de l'année.

En conclusion, vu les nombreuses introductions récentes du virus dans plusieurs pays indemnes, notamment en Europe et en Amérique du nord, l'infection au virus WN ne peut plus être considérée comme une infection restreinte aux quelques pays endémiques. Une surveillance attentive de la circulation du virus s'avère d'une importance capitale, notamment dans les pays à risques pour des introductions répétitives. Celle-ci pourrait inclure l'introduction de la recherche de l'infection à virus WN dans les protocoles standards d'investigation des méningites et méningo-encéphalites ou tout autre syndrome clinique pouvant être du à cette infection, ainsi que des enquêtes sérologiques dans la population humaine et chez les espèces animales cibles ou réservoirs potentiels. Les facteurs viraux et/ou liés à l'hôte à l'origine de la variabilité de l'expression clinique de l'infection restent encore à élucider, notamment en ce qui concerne l'espèce animale préférentiellement atteinte et la sévérité de l'infection au cours des épidémies ■

Remerciements • Ce travail a été financé en partie par la Coopération France-Tunisie, Projet: 3C2-003-D. Nos remerciements s'adressent à Hervé Zeller et Bernadette Murgue (Centre National de Référence/Centre Collaborateur OMS pour les Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques - Institut Pasteur de Paris - France) pour leur lecture critique du manuscrit. Nous remercions également les équipes régionales de la santé des gouvernorats de Mahdia et de Sfax pour leurs efforts dans la collecte des échantillons et des renseignements cliniques et épidémiologiques.

REFERENCES

- 1 - LE GUENNO B., BOURGEMOUH A., AZZAM T., BOUAKAZ R. - West Nile : a deadly virus. *Lancet* 1996; **348** : 1315.
- 2 - EL HARRACK M., LE GUENNO B., GOUNON P. - Isolement du Virus West Nile au Maroc. *Virologie* 1997; **1** : 248-249.
- 3 - TSAI T.F., POPOVICI F., CERNESCU C. et Coll. - West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet* 1998; **352** : 767-771.
- 4 - HUBALEK Z., HALOUSKA J. - West Nile fever. A reemerging mosquito-borne disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; **5** : 643-650.
- 5 - ZELLER H.G. - West Nile : une arbovirose migrante d'actualité. *Med. Trop.* 1999; **59** : 490-494.
- 6 - BRIESE T., JIA X.Y., HUANG C. et Coll. - Identification of a Kunjin/West Nile-like flavivirus in brains of patients with New York encephalitis. *Lancet* 1999; **354** : 1261-1262.
- 7 - NABLI B., CHIPPAUX-HYPPOLITE C., CHIPPAUX A., TAMALET J. - Enquête sérologique sur les arbovirus en Tunisie. *Bull. World Health Org.* 1970; **42** : 297-303.
- 8 - CHASTEL C., BACH-HAMBA D., LAUNAY H. et Coll. - Infections à arbovirus en Tunisie: nouvelle enquête sérologique chez les petits mammifères sauvages. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1983; **76** : 21-33.
- 9 - MURGUE B., MURRI S., ZIENTARA S. et Coll. - West Nile outbreak in horses in southern France, 2000. The return after 35 years. *Emerg. Inf. Dis.* 2001; **7** : 692-696.
- 10 - LANCIOTTI R.S., ROEHRIG J.T., DEUBEL V. et Coll. - Origin of the West Nile Virus responsible for an outbreak of encephalitis in the Northeastern United States. *Science* 1999; **286** : 2333-2337.
- 11 - CARTER M., MAYO D., NELSON R. et Coll. - Human West Nile virus surveillance, Connecticut, New Jersey and New York, 2000. *MMWR* 2001; **50** : 265-268.
- 12 - PLATONOV A.E., SHIPULIN G.A., SHIPULINA O.Y. et Coll. - Outbreak of West Nile Virus infection, Volgograd region, Russia 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; **7** : 128-132.