

STIGMATE IMMUNOLOGIQUE DE LA CIRCULATION DES ORTHOPOXVIRUS CHEZ DES SUJETS NÉS APRÈS L'ÉRADICATION DE LA VARIOLE EN CÔTE D'IVOIRE AFRIQUE DE L'OUEST

MEITE S^{1,5}, KOFFI KS^{2,5}, OUATTARA A³, AKRAN AV⁴, BONI-CISSÉ C⁵, KOUASSI KS¹, MLAN A⁵, ADJOUGOUA EV⁴, FAYE- KETTE H⁵, DOSSO M⁵

RESUME

Justification : Depuis l'éradication du virus de la variole, on note une émergence des autres Orthopoxvirus surtout le Monkeypoxvirus en Afrique centrale. A ce jour aucun cas d'infection humaine à Orthopoxvirus n'a été notifié en Côte d'Ivoire. Cependant, l'activité humaine en milieu rural, la présence des réservoirs potentiels et le climat sont des facteurs favorables à la circulation de ce groupe de virus.

Objectif : Mettre en évidence la circulation des Orthopoxvirus en Côte d'Ivoire en situation post éradication de la variole dans la population non vaccinée contre cette maladie. **Matériel et méthode** : 385 sérums de sujets non vaccinés contre la variole, choisis parmi 1353 sérums collectés lors d'une surveillance nationale de la fièvre jaune, ont été analysés. La méthode ELISA a été utilisée pour rechercher les IgG anti Orthopoxvirus.

Résultats : l'âge moyen des patients était de 11 ans et le sex-ratio était de 1,97. Les IgG anti-Orthopoxvirus ont été détectées dans 4,95% des sérums ; seuls 0,78% de ces sérums avaient un titre ≥ 400 . La majorité des sérums contenant ces IgG (84,16%) provenaient d'individus habitant la moitié sud de la Côte d'Ivoire.

Conclusion : le niveau d'exposition aux Orthopoxvirus reste faible chez les sujets non vaccinés contre la variole. Cependant, vu le nombre croissant de sujets susceptibles à ces virus, il est nécessaire de mettre en place des sites sentinelles de surveillance, particulièrement du Monkeypoxvirus

Mots-clés : Immunoglobulines G – Orthopoxvirus – Monkeypoxvirus - ELISA

ABSTRACT

IMMUNOLOGICAL STIGMA OF ORTHOPOXVIRUS CIRCULATION IN SUBJECTS BORN AFTER THE ERADICATION OF SMALLPOX IN CÔTE D'IVOIRE WEST AFRICA

Since the eradication of the smallpox virus, there has been an emergence of other Orthopoxviruses, especially Monkeypoxvirus in Central Africa. To date, no cases of human infection with Orthopoxvirus have been reported in Côte d'Ivoire. However, human activity in rural areas, the presence of potential reservoirs and climate are factors conducive to the circulation of this group of viruses.

Objective: To demonstrate the circulation of Orthopoxviruses in Côte d'Ivoire in the post-eradication situation of smallpox in the non-vaccinated population. **Materials and methods**: 385 sera from unvaccinated subjects from a randomly selected national surveillance of yellow fever out of 1353 were analyzed. The ELISA method was used to look for anti-Orthopoxvirus IgG.

Results: 385 sera were analyzed, the mean age of patients was 11 years with a sex ratio (M / F) of 1.97. Ig G anti-Orthopoxvirus was detected in 4.95% of the sera. Only 0.78% of the sera had an antibody titer greater than or equal to 400. 84.16% sera with anti-Orthopoxvirus Ig G originated from the southern half of Côte d'Ivoire.

Conclusion: The level of exposure to Orthopoxviruses remains low in unvaccinated smallpox. However, with the growing number of susceptible individuals, it is necessary to set up sentinel surveillance sites for the virus, especially Monkeypoxvirus

Keywords: Immunoglobulin G - Orthopoxvirus - Monkeypoxvirus- ELISA

- 1 : Plateforme de biologie moléculaire –Institut Pasteur Côte d'Ivoire,
- 2 : Unité de Chimie et Microbiologie de l'Institut Pasteur Côte d'Ivoire,
- 3 : Département d'Epidémiologie et Recherche Clinique de l'Institut Pasteur Côte d'Ivoire,
- 4 : Département des Virus Epidémiques de l'institut Pasteur Côte d'Ivoire,
- 5 : Département de Microbiologie - UFR Sciences Médicales Abidjan

Auteur correspondant : Meite S, Plateforme de biologie moléculaire –Institut Pasteur Côte d'Ivoire

INTRODUCTION

Les *Orthopoxvirus* font partie de la famille des *Poxviridae*. Il s'agit de gros virus à ADN bicaténaire, à multiplication intra cytoplasmique et responsables d'infection fébrile avec des lésions cutanées. Elle comprend plusieurs espèces dont le virus de la variole, le virus de la vaccine, le *Monkeypoxvirus* et le *Cowpoxvirus*.

Ce groupe de virus infecte de nombreux mammifères dont l'homme [1,2]. Le réservoir serait constitué d'animaux sauvages, majoritairement des rongeurs. *Funisciurus anerythrus*, *Cricetomys*, *Graphiurus*, *Heliosciurus*, *Xerus* et même *Mastomys natalensis* sont suspectés comme réservoir de certaines espèces d'*Orthopoxvirus* dont le *Monkeypoxvirus* [1,2]. Le passage du virus chez l'homme serait principalement lié au contact avec ces petits mammifères et certains animaux sauvages [1, 3]. Ce contact est favorisé par les activités de chasse pour des besoins alimentaires, les activités agropastorales et l'anthropisation liée à la recherche d'espace par l'homme. Une étude réalisée en Côte d'Ivoire et au Nigeria sur les sérums des singes a révélé la présence d'anticorps anti-*Monkeypoxvirus* chez *Cercopithecus* spp [4].

De ce fait, la population surtout rurale en Côte d'Ivoire serait exposée aux *Orthopoxvirus*. Cependant, il y a plus de trente ans, aucun cas d'infection à *Orthopoxvirus* en général et à *Monkeypoxvirus* en particulier n'a été déclaré en Côte d'Ivoire alors que le contact entre les rongeurs et la population rurale est fréquent. Si l'absence de cas chez les sujets nés avant 1980 peut être liée à la vaccination contre la variole car il existe une immunité croisée entre les espèces des *Orthopoxvirus*, qu'en est-il pour cette tranche importante de population née après l'éradication de la variole? A ce jour, la possibilité de circulation d'un autre *Orthopoxvirus* n'est pas exclue. Cette situation constituerait un risque non négligeable pour la population non vaccinée contre la variole dont le nombre ne cesse de s'accroître. L'épidémie à *Monkeypoxvirus* survenue au Kasaï oriental en République Démocratique du Congo en 1996-1997 [3] et aux United States of America (USA) en 2003 [1], provoquée par des rongeurs provenant du Ghana pays voisin de la Côte d'Ivoire illustre cette possibilité. C'est tout l'intérêt de ce travail qui se propose de mettre en évidence la circulation des *Orthopoxvirus* en Côte d'Ivoire, en situation post éradication de la variole, dans la population non vaccinée.

MATERIEL ET METHODES

Cadre de l'étude

La Côte d'Ivoire, pays de l'Afrique de l'Ouest, s'étend sur une superficie de 322.462 km². Ses frontières dessinent approximativement un carré s'inscrivant

entre les coordonnées de 2°30' et 8°30' de longitude ouest, 4°30' et 10°30' de latitude nord. Sa végétation présente une grande diversité du Nord au Sud. Le Sud est occupé par des forêts ombrophiles et méso-phile qui s'étendent d'Ouest en Est. La partie méso-phile sépare la forêt dense des savanes de basse-côte.

Type et période de l'étude

Il s'agit d'une étude transversale à visé descriptive menée sur des sérums archivés dans la sérothèque de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et collectés entre 2013 et 2015, dans le cadre d'une surveillance nationale des fièvres hémorragiques (FH).

Population d'étude

A partir de la sérothèque de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI), représentative sur le plan national, 385 sérums ont été choisis. Ils provenaient de sujets âgés de moins de 30 ans.

Critères de choix des sérums

Les critères d'inclusion étaient :

- Sérums enregistrés dans la sérothèque de l'IPCI ;
- Sérums prélevés dans chaque district de santé, en fonction du nombre de cas collectés par an durant la période de l'étude ;
- Sérums de personnes d'âge ≤30 ans, sans distinction de sexe ;
- Sérums de volume suffisant d'au moins 500µl pour pratiquer les analyses ;
- Sérums de sujets non vaccinés contre la variole

Les critères de non inclusion et d'exclusion étaient : sujet prélevé pour FH mais vacciné contre la variole ; sujet prélevé hors de l'enquête nationale sur les FH ; sujet prélevé pour une étude autre que l'enquête nationale sur les FH ; sujet d'âge >30 ans ; un volume de sérum insuffisant (inférieur à 500 µl).

Au total, sur les 1353 sérums de l'enquête nationale sur les FH, 400 ont été tirés au hasard. Les anticorps de type IgG anti *Orthopoxvirus* ont été recherchés dans 385 sérums échantillons provenant de sujets répondants aux critères d'inclusion.

Test de détection des anticorps IgG anti *Orthopoxvirus*

Les 385 sérums sélectionnés ont été analysés à l'aide du test ELISA indirect proposé par McIntosh et al [5], Il s'agit d'une technique de détection des IgG dirigées contre les *Orthopoxvirus*.

Chaque plaque de microtitration a été divisée en deux parties pour la sensibilisation. Les puits des lignes A à D de la plaque ont été sensibilisés à l'aide d'antigènes dilués au 1/100 dérivés de souche de *Cowpoxvi-*

rus cultivée sur Cellule Véro E6. Par contre, les puits des lignes E à H ne contenaient pas d'antigènes du *Cowpoxvirus*. Les plaques ont été incubées pendant 24H à 4°C. La révélation du complexe (Ag-IgG) a été faite à l'aide d'anticorps secondaire couplé à la peroxydase (Fab anti IgG fragment (H+L) humain marqué à la peroxydase) en présence du substrat (Tétraméthylbenzidine). La lecture de la densité optique (DO) a été faite à une longueur d'onde de 450 nm. La différence de DO (ΔDO) entre un puits sensibilisé par l'antigène du *Cowpoxvirus* et un puits sans antigène contenant chacun le même sérum a été calculée. Les sérums où une ΔDO était supérieure à 0,2 ont été quantifiés à partir d'une série de dilutions de 1/100 au 1/6400.

Chaque plaque était validée lorsque la ΔDO des 2 témoins positifs étaient $> 0,2$; concernant les 3 témoins négatifs, la moyenne des $\Delta DO + 3$ Ecart-Types était calculée, et cette valeur doit être inférieure à 0,2

Analyses des données

La base de données liée à cette sérothèque a été réalisée en utilisant le logiciel Epi Info (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgie). L'analyse des données a été effectuée à l'aide du logiciel R 3.2.0 [6].

RESULTATS

Parmi les 385 personnes dont le sérum a été analysé, 254 (66%) étaient de sexe masculin ; le sex-ratio était de 1,97. Les âges extrêmes étaient de 6 mois et 30 ans ; la moyenne étant 11 ans. La tranche d'âge la plus représentée (41%) était celle de 0-10 ans ; parmi ces patients, 38,28% n'avaient pas 5 ans. (Tableau 1)

Les IgG anti-*Orthopoxvirus* ont été détectées dans 19 des 385 sérums testés (4,93%). Ce pourcentage a varié de 2,0% à 8,4% selon les tranches d'âge (Tableau 1) ; le pic était situé entre 26 et 30 ans. La différence était significative entre cette tranche d'âge et la tranche d'âge inférieure à 25 ans ($p = 0,0139$, Chi-Squares 6,04).

Tableau 1 : Répartition de la population d'étude selon la tranche d'âge

Tranche d'âge	Sujets testés (%) N = 385	Sujets testés positifs N = 19 (4,95%)
0 – 10 ans	197 (41,1%)	04 (2,0%)
11 – 20 ans	105 (27,2%)	08 (7,6%)
21 - 30 ans	83 (21,6%)	07 (8,4%)

Le dosage des IgG anti-*Orthopoxvirus* a montré des titres compris entre 100 et 800. Ce titre était ≥ 400 dans seulement trois échantillons (0,78%)

(Tableau 2).

Tableau 2: Distribution des titres d'IgG anti-*Orthopoxvirus* dans la population d'étude

Région sanitaire	District sanitaire	Age (Ans)	Sexe	Titre d'IgG Anti- <i>Orthopoxvirus</i>
Lagune 1	Bingerville	24	M	100
	Bingerville	28	M	100
	Jacqueville	14	F	100
Lagune 2	Abobo ouest	17	F	200
Agnéby	Akoupé	15	F	100
Denguélé	Adzopé	27	M	100
	Touba	20	M	200
	Odienné	26	M	100
Moyen Cavally	Bloléquin	16	M	200
	Bloléquin	5	F	100
Sud Comoé	Aboisso	9	M	100
Sud Bandaman,	Fresco	3	M	100
	Divo	27	M	200
	Divo	15	M	400
Lac	Tiébissou	3	M	100
	Didiévi	7	F	100
Haut Sassandra	Daloa	26	M	800
Zanzan	Bondoukou	12	F	400
N'zi-Comoé	Daoukro	15	F	100

La majorité (84,16%) des personnes ayant une sérologie IgG anti-*Orthopoxvirus* positive a été prélevée dans la moitié Sud de la Côte d'Ivoire (Figure 1).

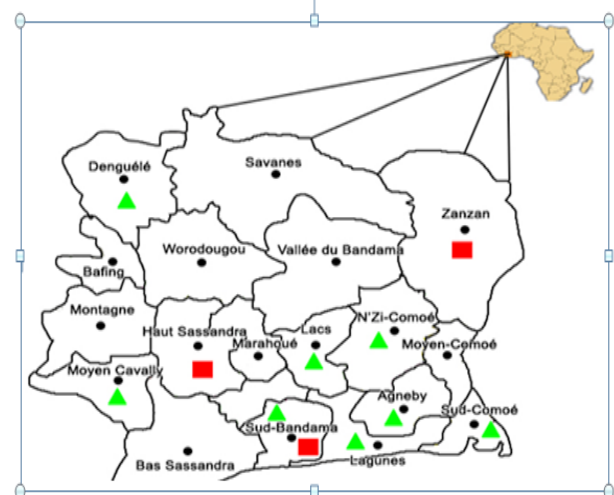


Figure 1 : Répartition géographique des sérums contenant des IgG anti-*Orthopoxvirus* selon les régions sanitaires

□ : Titre d'anticorps supérieur ou égal 400 ▲ : Titre d'anticorps inférieur à 400

DISCUSSION

L'Afrique de l'ouest reste une zone probable de circulation des *Orthopoxvirus* en général et du *Monkeypoxvirus* en particulier [7]. L'épidémie à *Monkeypoxvirus* aux USA en 2003 avait son origine au Ghana,

pays voisin de la Côte d'Ivoire [1] ; cela laisse penser à une circulation possible de ce virus dans notre pays. Une surveillance sérologique post-éradication de la variole, initiée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1982, avait montré la présence d'anticorps anti-Poxvirus (dont les *Orthopoxvirus*) chez des sujets non vaccinés contre la variole [8]. Des études réalisées récemment en Sierra Leone et au Ghana [1, 9] ont corroboré l'hypothèse de la circulation des *Orthopoxvirus* dans la zone ouest de l'Afrique. Lors de notre étude, 4,93% des personnes testées avaient des IgG anti *Orthopoxvirus* ; ce taux était inférieur à celui retrouvé lors d'un travail mené en 1981 - 1982 en Afrique centrale, précisément au Congo Brazzaville, grâce à la technique ELISA qui était de 15,4% [10]. L'Afrique centrale reste une zone endémique de circulation des *Poxvirus*, particulièrement le *Monkeypoxvirus* [10]. Nous avons trouvé un titre d'IgG relativement bas (≤ 100) dans plus de la moitié des sérums positifs ; cette immunité résiduelle qui reste durable [11] pourrait signifier une exposition probable de notre population d'étude aux *Orthopoxvirus*. Cependant une absence d'exposition aux *Orthopoxvirus* n'est pas à écarter dans notre pays à cause des réactions croisées avec d'autres Poxvirus. Grâce à ce travail, nous avons découvert que la zone d'exposition aux *Orthopoxvirus* y compris le *Monkeypoxvirus*, se situait dans la moitié sud de la Côte d'Ivoire principalement. Cela correspond globalement aux zones favorables à la circulation de ce groupe de virus selon les données de la littérature [12, 7]. Rappelons que c'est dans la région du Haut Sassandra, précisément dans les villages de Gbetitappea qui héberge des singes sacrés que l'un des deux cas humains d'infection à *Monkeypoxvirus* confirmés en Côte d'Ivoire a été détecté. Il est à souligner également que le village de Soko dans la région du Zanzan qui héberge aussi des singes sacrés, se trouve à la frontière avec le Ghana, source de l'épidémie de 2003 [1]. A travers les données colligées dans la littérature, il apparait que les anticorps anti *Orthopoxvirus* sont plus fréquemment détectés chez les enfants [13, 14] ; ils participent autant que les adultes aux activités agricoles et forestières.

CONCLUSION

Les orthopoxviroses ne sont pratiquement plus détectées en Côte d'Ivoire malgré l'arrêt de la vaccination contre la variole en 1980. Le niveau d'exposition à ces virus reste faible chez le sujet non vacciné contre la variole malgré des conditions socio-environnementales favorables à leur émergence. Les caractéristiques écologiques de certaines zones nécessitent la mise en place de sites sentinelles de surveillance de ce groupe de virus. Cela permettra d'une part la détection précoce d'orthopoxviroses chez l'homme et d'autre part de mieux faire face à une épidémie

éventuelle dans la zone ouest africaine.

BIBLIOGRAPHIE

1. REYNOLDS MG, CARROLL DS, OLSON VA, HUGHES C, GALLEY J, LIKOS A, and al. A silent enzootic of an orthopoxvirus in Ghana, West Africa : evidence for Multi-Species involvement in the absence of widespread Human Disease. *Am J Trop Med Hyg* 2010;82 (4):746-754
2. GISPEN R, BRAND-SAATHOF BB, HEKKER AC.. Monkeypox-specific antibodies in human and simian sera from the Ivory Coast and Nigeria. *Bull WHO* 1976;53: 355-360
3. HUTIN YVAN J.F, JOEL WILLIAMS R, MALFAIT P, REDODY R, LOPAREV VN, ROPP SL and al . Outbreak of Human Monkeypox, DEMOCRATIC Republic of Congo, 1996 – 1997. *Emerg Infect Dis* 2001;7(3) : 434 – 38
4. R GISPEN, BB BRAND-SAATHOF, AC HEKKER. Monkeypox-specific antibodies in human and simian sera from the Ivory Coast and Nigeria. *Bull WHO* 1976; 53: 355- 60.
5. MCINTOSH K, HENDRY RM, FAHNESTOCK ML, PIERIK LT. Enzyme-linked immunoabsorbent assay for detection of respiratory syncytial virus infection: application to clinical samples. *J Clin Microbiol* 1982; 16: 329-333.
6. R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>
7. LEVINE RS, PETERSON AT, YORITA KL, CARROLL D, DAMON IK, REYNOLDS MG.. Ecological Niche and Geographic Distribution of Human Monkeypox in Africa. *PLoS One* 2007; 2(1): e
8. OMS. Surveillance des Orthopoxvirus : politique pour la période postérieure à l'éradication. *Relevé EpidemHebd*1982 ; 57 : 105 – 109
9. AMACNEIL, J ABEL, MG REYNOLDS, RR LASH, R FONNIE, L D KANNEH, and al . Serologic evidence of human orthopoxvirus infections in Sierra Leone. *BMC Research Notes* 2011; 4:465
10. P TALANI, J MANIANE, J.D KONONGO , A.I GROMYKO, F YALA. Prévalence des anticorps spécifiques du Monkeypox au Congo-Brazzaville. *Mé dAfr Noire* : 1990 ; 46 (8/9)
11. HAMMARLUND E1, LEWIS MW, HANSEN SG, STRELOW LI, NELSON JA, SEXTON GJ,et al. Duration of antiviral immunity after smallpox vaccination. *Nat Med* 2003; 9(9):1131-7.
12. P BOUMANDOUKI , R BILECKOT, JR. IBARA, CSATOUNKAZI, DW WASSA, F LIBAMA and al. Orthopoxvirose simienne (ouvariole du singe: étude de 8 cas observées à l'Hôpital d'Impfondo de la République du Congo.*Bull Soc Pathol Exot* 2007; 100 (1):17-21
13. A MACNEIL, MG. REYNOLDS, DS CAR-

ROLL, K KAREM, Z BRADEN, R LASH and al. .
Monkeypox or Varicelle? Lessons from a rash outbreak investigation in the Republic of the Congo. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80(4): 503 – 507.

14. Y J.F HUTIN, R WILLIAMS, P MALFAIT, R PEBODY, V N LOPAREV, SL. ROPP and al. Outbreak of Human Monkeypox, Democratic Republic of Congo, 1996 – 1997. *Emer Infect Dis* 2001;7(3): 434-8.