

Étude séroépidémiologique de la circulation du virus *West Nile* chez l'Homme en Tunisie

Sero-epidemiological study of West Nile virus circulation in human in Tunisia

O. Bahri · I. Dhifallah · N. Ben Alaya-Bouafif · H. Fekih · J. Gargouri · H. Triki

Reçu le 25 janvier 2010 ; accepté le 21 septembre 2010
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2010

Résumé Le virus *West Nile* (WNV) est un arbovirus dont la circulation est de plus en plus large dans le monde. Il est fréquemment responsable d'épidémies de méningites et de méningoencéphalites. En Tunisie, deux pics épidémiques ont été observés en 1997 et en 2003 ayant touché les régions du sahel tunisien. Peu de données sont disponibles quant à la circulation de ce virus dans les autres régions, d'où le but de cette étude. Au total, 1 854 sujets sains originaires de trois gouvernorats différents, Kairouan, Bizerte et Sfax, ont été étudiés. Les prélèvements ont été collectés durant la période allant de janvier à décembre 2007. Aucun cas d'infection à WNV n'a été rapporté antérieurement à Bizerte, et uniquement deux cas sporadiques à Kairouan ; Sfax par contre a été touché par les deux épidémies. Une recherche des anticorps spécifiques de type IgG a été faite par Elisa indirecte. La séroprévalence globale a été de 12,5 % avec répartition très variable selon les gouvernorats testés. Trois zones d'endémicité différente ont été retrouvées ; forte à Kairouan (27,7 %), moyenne à Sfax (7,5 %) et faible à Bizerte (0,7 %). La séroprévalence a été significativement plus élevée chez les sujets âgés de plus de 40 ans à Kairouan. En conclusion, nos résultats montrent que le WNV présente un risque réel en Tunisie ;

ce risque est présent non seulement dans les zones touchées par les épidémies antérieures mais aussi dans des gouvernorats qui sembleraient indemnes comme dans le cas de la région de Kairouan. Cela nous incite à instaurer une surveillance active, aussi bien à l'échelle humaine qu'animale, sur tout le territoire tunisien. **Pour citer cette revue : Bull. Soc. Pathol. Exot. 104 (2010).**

Mots clés Virus *West Nile* · Épidémiologie · Séroprévalence · Kairouan · Bizerte · Sfax · Tunisie · Maghreb Afrique du Nord

Abstract West Nile virus (WNV) is an arbovirus classified into the family of Flaviviridae, genus *Flavivirus*. It is responsible for neurological diseases that occurred frequently as outbreaks and considered as an emerging infection in different regions of the world. In Tunisia, two outbreaks of meningoencephalitis due to this virus occurred, in 1997 and 2003. The virus circulation is studied only in Sahel, region affected by the two epidemics. The aim of this study is to determine if WNV is present in other regions of the country where, up to now, no data are available. A total of 1,854 sera collected from healthy patients were investigated by ELISA to detect specific IgG, during January to December 2007. Patients included are from three governorates: Kairouan, Bizerte, and Sfax. The governorate of Sfax (center of Tunisia) was affected by the two outbreaks, whereas only two cases were observed previously at Kairouan and no cases at Bizerte. Specific IgG were detected in 12.5% of studied population. This seroprevalence varied largely between the three governorates studied. Globally, three regions with different endemicity were described: high endemicity at Kairouan (27.7%), moderate at Sfax (7.5%), and low at Bizerte (0.7%). At Kairouan, the seroprevalence is significantly higher in individuals aged over 40. Our results suggest that WNV circulates in Tunisia; it has a high risk not only in regions affected by previous outbreaks but throughout the country. An active surveillance should be

O. Bahri (✉) · I. Dhifallah · H. Triki
Laboratoire de Virologie Clinique, laboratoire de recherche
« Hépatites et maladies virales à potentiel épidémique »
Institut Pasteur de Tunis, Tunisie
e-mail : olfa.bahri@pasteur.rns.tn

N. Ben Alaya-Bouafif
Laboratoire d'épidémiologie, Institut Pasteur de Tunis,
Tunisie

H. Fekih
Service de médecine communautaire, hôpital Hédi-Chaker,
Sfax, Tunisie

J. Gargouri
Centre régional de transfusion sanguine,
Sfax, Tunisie

instituted in the country. It must target individuals, and animals, which can be vectors or reservoirs for the virus. **To cite this journal: Bull. Soc. Pathol. Exot. 104 (2010).**

Keywords West Nile virus · Epidemiology · Seroprevalence · Kairouan · Bizerte · Sfax · Tunisia · Maghreb Northern Africa

Introduction

L'infection par le virus *West Nile* (VWN) constitue l'exemple type de la maladie émergente et réémergente. Longtemps resté confiné en Afrique subsaharienne, en Asie et au Moyen-Orient où il sévissait de façon endémique, le VWN possède actuellement une circulation de plus en plus large. Il est présent sur tous les continents, avec des flambées épidémiques de plus en plus rapprochées. Ces pics épidémiques peuvent toucher aussi bien l'Homme que l'animal, avec des répercussions importantes en santé publique et sur le plan économique. La généralisation de l'infection à VWN partout dans le monde est favorisée par la multiplicité du réservoir viral, constitué par plusieurs espèces aviaires, notamment les oiseaux migrateurs, et par la présence abondante du vecteur viral. Le moustique ornithophile du genre *Culex*, principal vecteur du VWN, est largement répandu dans le monde entier [4]. Cliniquement, l'infection par le VWN peut se manifester par des tableaux cliniques très variés, le plus grave étant l'atteinte neurologique à type de méningite ou de méningoencéphalite pouvant mettre en jeu le pronostic vital.

En Tunisie, deux pics épidémiques de méningites et de méningoencéphalites dus au VWN ont eu lieu : l'un en 1997 et l'autre en 2003 [8]. Ces épidémies ont touché les régions du sahel tunisien jusqu'au golfe de Gabès (Bahri et al. 2001, données non publiées). Elles ont eu lieu durant la période estivoautomnale et ont été caractérisées sur le plan climatique par des températures élevées associées à une forte pluviométrie, ce qui aurait favorisé une forte pullulation des moustiques, vecteurs du virus (Bahri et al. 2001, données non publiées). À part les quelques études descriptives de ces deux épidémies, très peu de données sont disponibles concernant la circulation du VWN dans le pays et surtout dans les régions non touchées par ces deux flambées épidémiques. L'objectif de ce travail est de comparer la séroprévalence des anticorps anti-VWN de type IgG retrouvée dans deux gouvernorats, l'un au nord, Bizerte et l'autre au centre, Kairouan à celle observée à Sfax. Les deux premières régions sont caractérisées par l'absence de cas épidémique rapportée jusqu'à ce jour. Le gouvernorat de Sfax, par contre, correspond à la région touchée par les deux épidémies de méningites et méningoencéphalites à VWN.

Matériels et méthodes

Zones et population d'étude

Au total, 1 854 sujets sains ont été inclus dans cette étude : 780 femmes et 1 074 hommes, d'âge moyen 47,3 ans, avec des extrêmes allant de 20 à 69 ans. Ces individus sont originaires des trois gouvernorats suivants : Kairouan, Bizerte et Sfax.

Gouvernorat de Kairouan : au total, 758 sujets d'âge moyen 36–38 ans ont été étudiés. Il s'agit de 226 femmes et de 532 hommes. Ces sujets ont été prélevés durant l'année 2007, dans le cadre d'un dépistage systématique de l'hépatite C en milieu professionnel, non hospitalier. Il s'agit essentiellement de personnel travaillant dans des usines.

Gouvernorat de Bizerte : la sérothèque analysée dans ce gouvernorat a été constituée également entre janvier et décembre 2007, dans le cadre d'un dépistage systématique de l'hépatite C en milieu professionnel. Il s'agit de 883 sujets, 345 hommes et 538 femmes, âgés de 20 à 69 ans (âge moyen : 32,1 ans).

Gouvernorat de Sfax : 213 sujets originaires de ce gouvernorat ont été inclus dans cette étude. Ces sujets sont âgés de 20 à 88 ans, l'âge moyen étant de 73,2 ans ; ils ont été prélevés durant l'année 2007, dans le cadre d'un don de sang.

Prélèvements réalisés

Tous les sujets inclus dans cette étude ont bénéficié d'un prélèvement de 10 ml de sang total sur tube sec. Les sérums, récupérés par centrifugation, ont été conservés à -20°C jusqu'à analyse sérologique.

Technique sérologique

Les anticorps de type IgG spécifiques du VWN ont été recherchés par technique immunoenzymatique de type Elisa indirecte comme décrit précédemment par Triki et al., 2001. L'antigène utilisé a été produit à partir de cellules Vero infectées par la souche du VWN, responsable de l'épidémie de méningite et méningoencéphalite observée en Tunisie en 1997. Pour chaque sérum, une cupule contenant un antigène négatif a été utilisée afin d'éliminer toute réaction non spécifique. L'interprétation des résultats est réalisée par calcul de la différence des DO (ΔDO) obtenues avec les antigènes, négatif et positif. Un sérum est considéré positif si cette ΔDO est supérieure à 0,300. Un sérum est négatif si la ΔDO est inférieure à 0,200.

Analyses statistiques

La comparaison des pourcentages a été effectuée par le test de Chi^2 , en utilisant le logiciel ÉpiInfo™ version 6. Ce test

permet de calculer la valeur exacte de p et de comparer les différentes séroprévalences obtenues. Une différence est significative si la valeur de p est inférieure à 0,05.

Résultats

Séroprévalence globale de l'infection

Sur la totalité des 1 854 sujets étudiés, 232 se sont révélés positifs pour les IgG anti-VWN, ce qui correspond à une séroprévalence globale de 12,5 %.

Répartition de l'infection par le VWN selon les régions

La séroprévalence des IgG anti-VWN est très variable selon les gouvernorats testés : elle est beaucoup plus élevée dans le gouvernorat de Kairouan, où 210 parmi les 758 sujets investigués sont positifs (27,7 %) [$p = 10^{-4}$]. Cette séroprévalence est de 0,7 % (6/882) à Bizerte et de 7,5 % (16/214) à Sfax (Fig. 1).

Distribution selon le sexe

Sur la totalité des 1 074 sujets de sexe masculin testés dans cette étude, 166 sont positifs en IgG spécifiques, ce qui correspond à une séroprévalence de 15,5 %. Cette séroprévalence est significativement plus élevée que chez les sujets de sexe féminin (66/780 ; 8,5 %) [$p = 7 \times 10^{-6}$]. Toutefois, l'analyse par gouvernorat ne montre pas de différence significative de séroprévalence selon le sexe (Tableau 1).

Répartition de la séroprévalence selon l'âge

Étant donné la différence entre les gouvernorats concernant l'âge moyen de la population étudiée et afin d'éviter le facteur de confusion secondaire à l'âge, nous avons étudié la répartition des sujets positifs en IgG anti-VWN selon les différentes tranches d'âge, gouvernorat par gouvernorat.

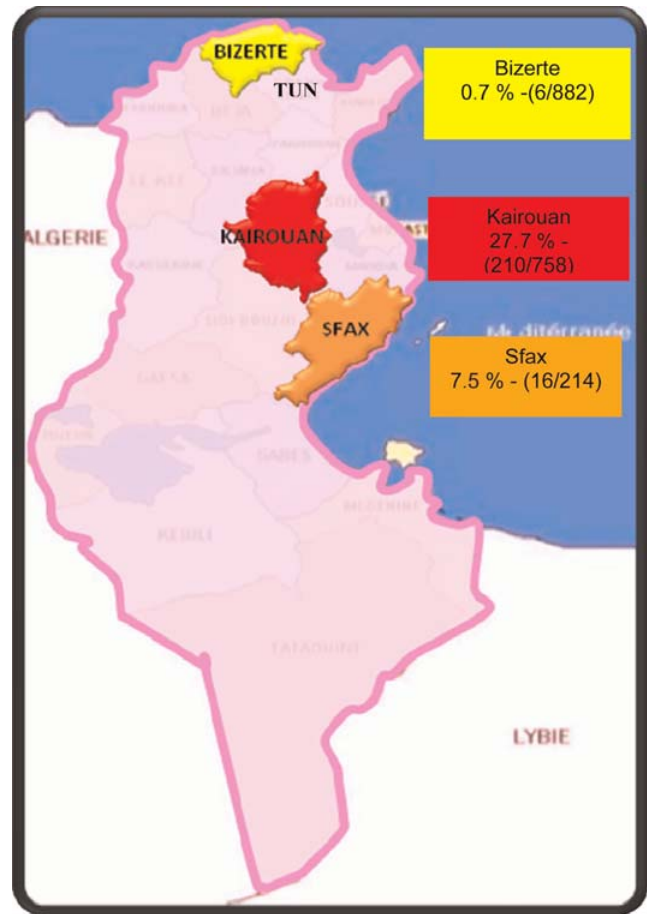


Fig. 1 Répartition de la séroprévalence en fonction des régions étudiées / *Distribution of prevalence by regions studied*

Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau 2. Les sujets ont été regroupés en deux groupes d'âge :

- de 20 à 40 ans ;
- au-delà de 40 ans.

La séroprévalence est significativement plus élevée chez les sujets âgés de plus de 40 ans dans le gouvernorat de Kairouan. Pour les autres gouvernorats, il n'y a pas de différence entre les groupes d'âge.

Tableau 1 Distribution de la séroprévalence des IgG selon le sexe et l'origine géographique / *Distribution of IgG prevalence according to sex and geographic distribution*

| Région | Sujets de sexe féminin | | Sujets de sexe masculin | | p | | |
|----------|------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-----|------|-------|
| | Effectif n | Positifs en IgG | Effectif n | Positifs en IgG | | | |
| | | n | | % | | n | % |
| Bizerte | 538 | 3 | 0,6 | 345 | 3 | 0,9 | 0,435 |
| Kairouan | 226 | 62 | 27,4 | 532 | 148 | 27,8 | 0,494 |
| Sfax | 16 | 1 | 6,3 | 197 | 15 | 7,6 | 0,660 |
| Total | 780 | 66 | 8,5 | 1 074 | 166 | 15,5 | |

Tableau 2 Répartition de la séroprévalence des IgG anti-VWN selon l'âge et le gouvernorat / *Distribution of IgG prevalence according to age and governorate*

| Région | Population étudiée | Groupe d'âge | | Total |
|----------|---------------------|--------------|------------|------------|
| | | [20–39 ans] | ≥ 40 ans | |
| Bizerte | Positifs en IgG (%) | 4 (0,6) | 2 (1,1) | 6 (0,7) |
| | Total testé | 696 | 186 | 882 |
| Kairouan | Positifs en IgG (%) | 120 (23,9) | 90 (35,2) | 210 (27,7) |
| | Total testé | 502 | 256 | 758 |
| Sfax | Positifs en IgG (%) | 0 (0) | 16 (7,5) | 16 (7,5) |
| | Total testé | 0 | 214 | 214 |
| Total | Positifs en IgG (%) | 124 (10,4) | 108 (16,5) | 232 (12,5) |
| | Total testé | 1 198 | 656 | 1 854 |

Discussion

Selon les quelques études antérieurement réalisées en Tunisie, le VWN est caractérisé par une activité cyclique dans notre pays. En effet, dans les années 1970, il a été détecté des stigmates sérologiques de la présence du virus chez des enfants originaires de l'île de Djerba ; les IgG spécifiques du VWN avaient été détectées chez 4,7 % des enfants testés [7]. En 1976–1977, une enquête sérologique réalisée chez les petits mammifères sauvages de Tunisie [1] avait montré une activité très probable du VWN dans l'ensemble du pays. Mais, en 1980, il n'en existait plus de trace, comme l'indiquent les études réalisées chez les petits mammifères ou chez les chevaux [3]. Ces deux dernières décennies ont été caractérisées par deux épidémies de méningites et méningoencéphalites à VWN ; il s'agit là des premiers cas humains symptomatiques observés dans le pays. La première épidémie a été observée durant l'année 1997, avec 173 cas de méningoencéphalite humaine enregistrés entre septembre et la mi-décembre. Les régions touchées étaient essentiellement Mahdia, Sfax, Monastir, Sousse ; une évolution fatale a été observée dans 4,6 % des cas [8]. L'analyse phylogénétique de la souche virale responsable a montré qu'il s'agissait d'une souche appartenant à la lignée I et qu'elle était proche de celle isolée à New York, en 1999 et en Israël, en 1998 [2,6,8,9]. La seconde épidémie à VWN a été observée, cinq ans après, en 2003 ; elle a eu lieu durant la même période, soit durant la saison estivoautomnale, avec 233 cas notifiés essentiellement à Sfax, à Monastir, à Mahdia, à Sousse et à Gabès (Bahri et al. 2004, données non publiées).

Mis à part les quelques travaux décrivant les épidémies de 1997 et de 2003 qui étaient confinées au sahel tunisien et l'étude rapportant la séroprévalence des IgG chez les enfants originaires du Sud tunisien, aucune donnée n'était disponible quant à la circulation du VWN dans le reste du pays. Est-ce que le VWN circule dans d'autres régions du pays ? Est-ce que cette circulation est importante ? Afin de lever le voile sur ces points, nous avons mené notre étude dans

laquelle nous avons comparé la séroprévalence observée dans le gouvernorat de Sfax à celle retrouvée dans deux autres gouvernorats : Bizerte et Kairouan. Le choix de ces deux régions a été fait pour les raisons suivantes :

- régions internes du pays non touchées par les deux épidémies ;
- aucun cas d'infection par le VWN n'a été observé dans ces deux gouvernorats, sauf deux cas sporadiques en 2007 dans la localité de Nasrallah à Kairouan.

Afin d'être le plus précis possible dans la comparaison, nous nous sommes limités à la même période d'étude correspondant à l'année 2007. L'étude de ces trois gouvernorats a retrouvé des séroprévalences variables de 0,7 à 27,7 %, ce qui nous permet de distinguer différents niveaux d'endémicité dans le pays. En fait, des études réalisées dans d'autres pays ont déjà décrit des niveaux d'endémicité différents, définis selon la séroprévalence des IgG retrouvée dans la population générale : une région hyperendémique est caractérisée par un taux d'IgG supérieur à 10 %, alors que dans une région de faible endémicité, les IgG sont retrouvées chez moins de 2 % de la population générale [5].

Ainsi, on peut classer les trois gouvernorats étudiés en trois zones d'endémicité différente :

- une région de faible endémicité du côté de Bizerte, avec une prévalence de 0,7 % : ces résultats concordent avec l'absence antérieure de cas signalés dans cette région ;
- une région de moyenne endémicité, Sfax, avec une prévalence de 7,5 % secondaire aux pics épidémiques observés en 1997 et en 2003 ;
- une région de forte endémicité à Kairouan, avec une prévalence de 27,7 %, malgré l'absence d'épidémies dans cette région. Cette prévalence élevée évoque la circulation active du virus dans cette région.

Kairouan est caractérisé par la présence de plusieurs points d'eau étendus à type essentiellement de barrages. Ces points d'eau favoriseraient le contact entre oiseaux

migrateurs qui séjournent plus longtemps à ce niveau et rentrent ainsi en contact avec les moustiques présents en grande abondance, jouant le rôle d'amplificateurs du virus. Ces résultats sont toutefois à confirmer par une étude séro-épidémiologique sur un échantillonnage représentatif du gouvernorat de Kairouan.

La répartition, selon le sexe, de la séroprévalence dans ces différents gouvernorats ne retrouve pas de différence significative. Cependant, une différence est observée selon l'âge à Kairouan, avec une fréquence plus élevée chez les sujets âgés de plus de 40 ans. On pourrait avancer une supposition concernant cette différence statistiquement significative, mais qui reste à confirmer, selon laquelle les sujets appartenant à cette tranche d'âge seraient plus exposés aux piqûres de moustiques du fait de leur travail à l'extérieur.

Conclusion

Nos résultats montrent que le VWN présente un risque réel dans le pays : il est présent, non seulement dans les zones touchées par les épidémies antérieures, mais aussi dans des gouvernorats qui, jusqu'à présent, semblaient indemnes, comme la région de Kairouan. Cela nous incite à mener des études épidémiologiques plus larges sur la totalité du pays. Il serait également important d'instaurer une surveillance active :

- au niveau humain par une sérologie VWN systématique chez tout cas de méningite et de méningoencéphalite ou pour d'autres tableaux cliniques dans lesquels le VWN peut être incriminé ;
- au niveau animal par la mise en place d'un système sentinelle ciblant le cheval en tant qu'hôte accidentel du

virus et les espèces aviaires pouvant jouer le rôle de réservoir animal ;

- sur le plan entomologique par l'étude de la faune culicidienne du pays afin d'estimer son abondance et d'essayer d'isoler le virus à leur niveau.

Références

1. Chastel C, Rogues G, Beaucournu-Saguez F, et al (1977) Enquête séroépidémiologique mixte arbovirus-arénavirus chez les petits mammifères de Tunisie. Bull Soc Pathol Exot Filiales 70(5):471-9
2. Couissinier-Paris P (2006) Le virus *West Nile* en Europe et en Afrique : vieille connaissance ou menace potentielle pour la santé publique ? Bull Soc Pathol Exot 99(5):348-54 [<http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T99-5-2857-k-7p.pdf>]
3. Haddad N (1980) Contribution à l'étude séroépidémioclinique du virus WN chez les équidés de Tunisie. Thèse de médecine vétérinaire, Tunis, n° 53, 221 p
4. Hubálek Z, Halouzka J (1999) West Nile fever—a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. Emerg Infect Dis 5(5): 643-50
5. Lonchamp C, Migliani R, Ratsitorahina M, et al (2003) Persistence d'une circulation endémique du virus *West Nile* à Madagascar. Arch Inst Pasteur de Madagascar 69(1&2):33-6
6. Murgue B, Zeller H, Deubel V (2002) The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. Curr Trop Microbiol Immunol 267:195-221
7. Nabli B, Chippaux-Hyppolite C, Chippaux A, Tamalet J (1970) Enquête sérologique en Tunisie sur les arbovirus. Bull World Health Organ 42(2):297-303
8. Triki H, Murri S, Le Guenno B, et al (2001) Méningoencéphalite à arbovirus *West Nile* en Tunisie. Med Trop 61:487-90
9. Zeller HG, Schuffenecker I (2004) West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 23(3): 147-56 [Epub 2004 Feb 19]