

BILAN DE DEUX ANNÉES DE SURVEILLANCE DE LA GRIPPE À ABIDJAN

C. AKOUA-KOFFI, B. KOUAKOU, H. KADJO, G. ELIA, S.P. KOFFI, E. ADJOGOUA, M. DOSSO, A. EHOUMAN

Med Trop 2007 ; 67 : 259-262

RÉSUMÉ • La grippe est une maladie virale saisonnière qui peut être bénigne ou redoutable du fait du taux de morbidité et de mortalité occasionné lors des épidémies. En absence de données épidémiologiques et virologiques en Côte d'Ivoire, un réseau de surveillance de la grippe a été mis en place à Abidjan pour déterminer le niveau de circulation de virus grippaux et caractériser les virus isolés. De janvier 2003 à décembre 2004, soit pendant 24 mois, des sécrétions nasales ont été collectées dans les formations sanitaires de la ville d'Abidjan. L'identification des virus grippaux au laboratoire a été réalisée par technique ELISA utilisant des anticorps monoclonaux anti-A et anti-B (immunocapture) et par isolement sur cellules MDCK. Une partie des échantillons d'origine et les isolats ont été envoyés pour confirmation à l'Institut Pasteur de Paris (2003) et au National Institute for Communicable Diseases (NICD) à Johannesburg. Parmi les 211 échantillons analysés, 30 (12,8%) se sont révélés positifs : 22 isolats de virus Influenza A dont 21 de type A(H3N2) et une souche de type A(H1N1), et 8 isolats de virus Influenza B. Ces souches ont été isolées majoritairement chez des patients de 0-5 ans (34%) et 15-59 ans (47%). Bien que plus de 60% des souches aient été isolées en juin et en octobre, il est difficile de définir une saisonnalité du fait de la courte durée de l'étude. La poursuite de cette étude permettra une meilleure appréciation de la saisonnalité, des caractéristiques virologiques et cliniques pour envisager une prévention par la vaccination.

MOTS-CLÉS • Virus Influenza - Surveillance - Abidjan.

RESULTS OF TWO-YEAR SURVEILLANCE OF FLU IN ABIDJAN, CÔTE D'IVOIRE

ABSTRACT • Influenza (flu) is a seasonal viral disease that may have a favorable outcome or be associated with a high morbidity and mortality rate during epidemics. In view of the lack of epidemiological and virological data about flu in Côte d'Ivoire, a surveillance network was set up in Abidjan to monitor the spread of flu and characterize isolated viruses. Over the 24-month period from January 2003 to December 2004, nasal secretions were collected in patients presenting with flu syndrome at various health care centers in Abidjan. Laboratory identification of viruses was performed by the ELISA technique using anti-A and anti-B monoclonal antibodies (immunocapture) and by isolation on MDCK cells. A fraction of the original samples and isolates was sent for confirmation to the Pasteur Institute in Paris, France and to the National Institute for Communicable Diseases (NICD) in Johannesburg, South Africa. Amongst the 211 samples analyzed, 30 (12.8%) proved positive for flu virus. Twenty-two isolates were positive for influenza virus A including 21 for A (H3N2) type and one for A (H1N1) type. The remaining 8 isolates were positive for influenza virus B. Most of these strains were isolated from patients in two age ranges, i.e. 0 to 5 years (34%) and 15 to 59 years (47%). More than 60% of the strains were isolated in June and October but the study duration was too short to define a flu season. Further surveillance data will allow better determination of flu season and definition of clinical and biological characteristics as a prerequisite for a preventive immunization program.

KEY WORDS • Influenza virus - Surveillance - Abidjan.

La grippe, maladie respiratoire aiguë, est mal connue dans les régions tropicales particulièrement en Côte d'Ivoire, du fait d'une part, de l'existence de pathologies dont la symptomatologie est désignée sous le vocable de syndrome pseudo-

grippal, d'autre part de l'absence de preuves virologiques de confirmation. Contrairement aux pays développés, la surveillance des virus grippaux est réalisée dans très peu de pays en Afrique (1-3). L'absence de preuves virologiques attestant de son existence, sa saisonnalité et la distribution des virus dans la population, rendent difficile l'estimation de la morbidité de l'affection grippale et de sa part de responsabilité dans la mortalité liée aux infections respiratoires aiguës (IRA). Au Sénégal, la mise en place d'un réseau de surveillance a permis d'authentifier la circulation de virus grippaux (Dosseh *et Coll*) (4). En Côte d'Ivoire, la circulation de virus grippaux a été confirmée à Abidjan en 2001 et depuis 2003, un réseau de surveillance de ces agents viraux est mis en place avec l'appui des laboratoires Aventis-Pasteur : formation du personnel et fourniture de réactifs et de consommables de laboratoire. L'objectif visé par cette étude était d'analyser les résultats des deux années de fonctionnement du réseau afin de déterminer les acquis et d'apporter des mesures correctives au système pour renforcer les capacités techniques en vue d'un bon ren-

• Travail de l'Unité des virus respiratoires (C.A.-K., Maître de conférences agrégé UFR des Sciences médicales, Chef de département ; B.K., Ingénieur en techniques sanitaires option laboratoire ; H.K., Médecin biologiste ; S.P.K., Technicien supérieur de laboratoire, laboratoire de cultures cellulaires ; E.A., Médecin biologiste, Unité des virus du système nerveux ; M.D., Professeur titulaire, UFR des Sciences médicales, Directeur de l'Institut Pasteur ; A.E., Professeur titulaire, UFR des Sciences Médicales ancien Directeur de l'Institut Pasteur), Unité des virus respiratoires, Département des Virus Epidémiques, Institut Pasteur, Abidjan, Côte d'Ivoire et du Bureau régional, section vaccins (G.E., Médecin), Aventis Pasteur, Abidjan

• Correspondance : AKOUA-KOFFI, Maître de conférences agrégé, Chef de département, Département des virus épidémiques, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Adiopodoumé, 01 BP 490 Abidjan, Côte d'Ivoire • Fax : +225 23 53 79 03.

• Courriel : akouamc@yahoo.fr •

• Article reçu le 10/08/2006, définitivement accepté le 14/05/2007.

dement et d'une efficacité pour la détection de souches hautement pathogènes telles que les souches animales, notamment aviaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Population étudiée

Il s'agit de patients présentant une fièvre accompagnée de pharyngite, d'écoulement nasal et de symptômes évocateurs d'un syndrome grippal. Ils ont été inclus sur la base des critères suivants : début brutal, fièvre supérieure ou égale à 38°C, pharyngite, écoulement nasal et durée d'évolution inférieure à 5 jours. Une fiche d'investigation standard a permis de recueillir les renseignements cliniques et démographiques concernant chaque patient enrôlé.

Prélèvements

Chez chaque sujet inclus, des sécrétions nasales ont été obtenues par écouvillonnage; les écouvillons ont été placés dans un milieu de transport (tryptose phosphate) puis acheminés à + 4°C à l'Unité des Virus Respiratoires, à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire où ils sont conservés à - 80°C jusqu'à la réalisation des différents tests.

Analyses virologiques

Détection directe par technique ELISA (immunocapture) : la sensibilisation a été réalisée à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-grippe A et B dilués en tampon PBS pendant une nuit à +4°C. Après addition des échantillons d'anticorps polyclonaux, la réaction antigène-anticorps est révélée à l'aide d'anticorps de chèvre anti-lapin conjugués à la peroxydase et substrat ABTS, la lecture ayant été effectuée à 405 nm. Les anti-sérums et les antigènes ont été fournis par le « Centre national de référence de la grippe, France Sud » et le « Centre collaborateur OMS » de Lyon.

Isolement viral : il a été réalisé sur cellules MDCK (Madin Darby Canine Kidney) en plaques de 12 puits avec un milieu contenant de la trypsine TPCK à 2 µg / ml (5). Les plaques ont été incubées à 34° sous CO₂ pendant 9 jours. A J3, J5 et J9 a été effectuée une détection d'antigènes spécifiques par technique ELISA (immunocapture) à partir des surnageants de culture comme précédemment. Une partie des échantillons d'origine et le surnageant de culture de 26 échantillons positifs en ELISA et/ou en culture ont été envoyés pour confirmation et caractérisation au « Centre National de la Grippe France-Nord » à l'Institut Pasteur de Paris (2003) et au « National Institute for Communicable Diseases à Johannesburg » (2004).

Analyse statistique.

Le logiciel EPI/INFO a été utilisé pour l'étude statistique des résultats obtenus. Le test chi carré de Pearson avec correction de Yates a servi pour la comparaison des résultats (seuil 0,05).

RÉSULTATS

Données épidémiologiques et cliniques

Du 1^{er} janvier 2003 au 31 décembre 2004, 211 patients présentant un syndrome grippal et ayant un âge moyen de 23,8 ans (extrêmes : 1 mois et 68 ans) ont été inclus. Globalement les sujets de 0 à 14 ans représentaient 42,2 % des cas et ceux ayant un âge supérieur ou égal à 15 ans correspondaient à 47,9 % des sujets. Pour 9,9 % des cas suspects, l'âge n'a pas été précisé (Tableau I). Le sex ratio homme/femme était de 1,4. Ces sujets avaient été reçus dans 5 centres de collecte localisés dans deux communes de la ville d'Abidjan : Cocody, Polyclinique Sainte Anne Marie (PISAM), Yopougon, Clinique le Grand Centre, les formations sanitaires urbaines de Yopougon Attié et d'Adiopodoumé. Les patients étaient de

Tableau I - Caractéristiques épidémiologiques des sujets infectés par les virus Influenza A et B.

	Influenza A (+) (n = 22)	Influenza B (+) (n = 8)	Influenza Virus (-) (n = 181)
Année			
2003 (n = 95)	8 (8,4%)	0	87 (91,6%)
2004 (n = 116)	14 (12,1%)	8 (6,9%)	94 (81%)
Age			
0 -4 ans (n = 66)	4 (6,1%)	1 (1,5%)	61 (92,4%)
5 - 14 ans (n = 23)	1 (4,3%)	0	22 (95,7%)
15-39 ans (n = 67)	9 (13,4%)	3 (4,5%)	55 (82,1%)
40-59 ans (n = 32)	3 (9,4%)	3 (9,4%)	26 (81,2%)
≥ 60 ans (n = 2)	1 (50%)	0	1 (50%)
Non précisé (n = 21)	4 (19%)	1 (4,8%)	16 (76,2%)
Provenance			
Adiopodoumé (n = 82)	11 (13,4%)	2 (2,4%)	69 (84,2%)
C. G. Centre1 (n = 35)	6 (17,1%)	2 (5,7%)	27 (77,2%)
PISAM (n = 39)	1 (2,6%)	0	38 (97,4%)
FS Yopougon2 (n = 55)	4 (7,3%)	4 (7,3%)	47 (85,4%)

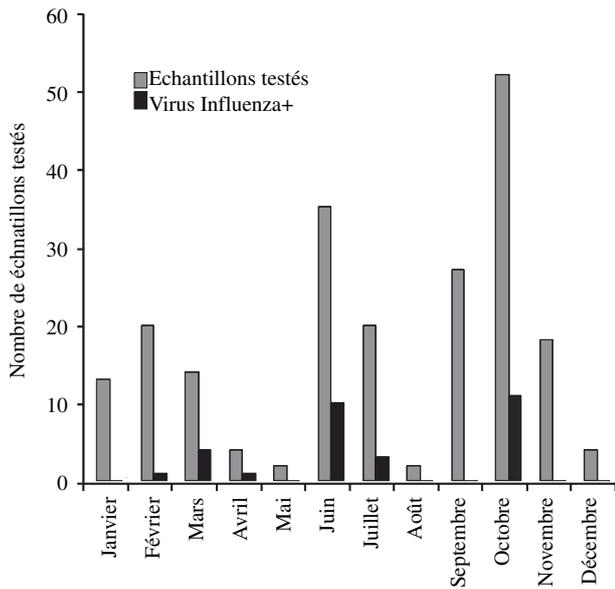


Figure 1 - Positivité des échantillons testés en fonction du mois des collectes.

diverses provenances, notamment de six communes de la ville d'Abidjan.

La fièvre était présente chez 98 % des patients avec une température corporelle comprise entre 38°5 et 40° C. Dans 90 % des cas, les échantillons ont été recueillis dans les 4 premiers jours après le début des symptômes, période propice à l'isolement viral. Par rapport au mois de collecte des échantillons (Fig. 1), plus de 40 % des échantillons ont été obtenus dans les mois de juin et d'octobre.

Données virologiques

Sur les 211 échantillons analysés, 30 se sont révélés positifs, soit 14,2 %. Selon la méthode de mise en évidence, 20 positifs ont été détectés par ELISA et en isolement viral, 4 positifs ont été obtenus par isolement seul et 6 positifs obtenus uniquement par détection directe par technique ELISA. Neuf échantillons (30 %) ont été positifs à la détection directe alors que 26,7 % et 43,3 % ont donné un résultat positif à J3 et à J6 respectivement. Par rapport à l'année, 8 positifs ont été

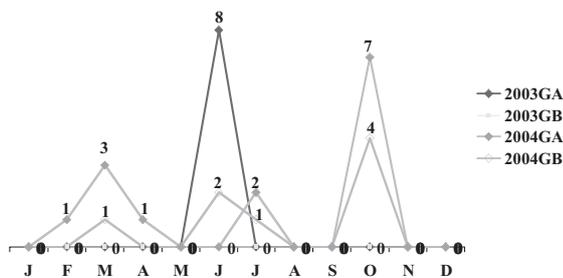


Figure 2 - Evolution des isolats des différents types de virus Influenza en 2003 et 2004.

obtenus en 2003 et 22 en 2004. Parmi ces positifs, 21 souches étaient des virus de type A (H3) : 8 isolées en 2003 et 13 isolées en 2004 et une souche de type A (H1) isolée en 2004. Pour le virus de type B, 8 souches ont été isolées en 2004 ; aucun isolat de type B n'a été obtenu en 2003.

Sur 26 isolats envoyés en confirmation, 21 souches ont été confirmées et identifiées : 7 souches sub-variants A/Chile/6416/01-like isolées en 2003 et caractérisées à Paris, 7 sub-variants A/Fujian/411/02-like, un sub-variant A/NewCaledonian/20/99-like, 5 souches de type B ayant des similitudes antigéniques avec le variant B/Sichuan/379/99-like et un variant B/HongKong/330/01-like isolés en 2004 et caractérisés à Johannesburg. Les variants A/Chile et A/Fujian sont de type H3N2, et le variant A/New Caledonian de type H1N1.

Toutes les souches ont été isolées en juin (2003) et majoritairement en octobre, en mars et juillet en 2004 (Fig. 2).

Caractéristiques des sujets infectés.

Tous les sujets trouvés positifs provenaient du district d'Abidjan-Ouest, commune de Yopougon. Parmi ces sujets trouvés positifs, 57 % avaient un âge supérieur ou égal à 16 ans contre 28,5 % ayant un âge compris 1 et 5 ans. Une souche de type A a été isolée chez un sujet de plus de 60 ans. Tous présentaient une fièvre supérieure ou égale à 39°C, un écoulement nasal et une toux. Aucun d'eux n'a jamais été vacciné contre la grippe.

DISCUSSION

La grippe est une infection aiguë contagieuse bien connue cliniquement mais dont la confirmation virologique n'est pas réalisée dans bon nombre de pays en Afrique subsaharienne (6), ce qui explique l'appellation nosologique syndrome pseudo-grippal qui inaugure diverses pathologies tropicales. Pendant la période étudiée, 85,8 % de cas considérés comme de la grippe se sont révélés négatifs. D'où la nécessité de réaliser la confirmation biologique des syndromes grippaux et pseudo-grippaux pour en déterminer l'incidence réelle qui, avec la sévérité du tableau clinique présenté, constitue un élément déterminant pour la prévention vaccinale anti-grippale comme proposée dans les régions aux saisons grippales bien définies (2, 3). Cette confirmation permettra aussi d'améliorer la prise en charge des infections respiratoires aiguës impliquant d'autres agents viraux (virus respiratoire syncytial, adénovirus, entérovirus) et bactériens (1). Dans nos régions, il est rare de parler d'épidémie grave de grippe, confirmée ou non. En effet, au Sénégal, plus précisément à Dakar où une surveillance virologique est établie, des taux de positivité annuels de 5,6 %, 12,5 % et 5,9 % ont été obtenus respectivement en 1996, 1997 et 1998 (4) sans que cela ait été déclaré comme épidémie grippale. Contrairement à Dakar où aucune souche de virus grippal n'a été isolée dans la tranche d'âge supérieur ou égal à 55 ans, nous avons obtenu des isolats de type A à toutes les tranches d'âge. Cependant la tranche d'âge de 15 - 39 ans est la plus représentée avec 17,9 % des positifs (Tableau I). Les différences de taux de positivité sont

significativement plus élevées chez les adultes que chez les sujets de moins de 15 ans ($p < 0,01$), contrairement à ce qui a été observé à Dakar, bien que dans la littérature, il n'existerait pas de prédominance ni d'âge ni de sexe (7,8). Concernant la saisonnalité, la durée de l'étude ne permettait pas d'affirmer une tendance saisonnière bien que les mois de juin et octobre paraissent être les mois pendant lesquels la fréquence de positivité est la plus élevée, des isolats ayant été obtenus sur trois périodes de l'année : février-avril, période de saison sèche (6 souches), juin - juillet, période de grande saison des pluies (12 souches) et octobre, période de petite saison des pluies (11 souches). Un bon échantillonnage réparti sur toute l'année pendant 3 à 5 ans est nécessaire pour déterminer une saison grippale réelle à Abidjan. Le nombre d'échantillons est très variable, ce qui dénote une certaine irrégularité dans la collecte. Cette collecte est dépendante, d'une part, de la motivation des médecins participant recrutés sur la base du volontariat et qui doivent inclure tout cas suspect de grippe, d'autre part, du système de ramassage des échantillons des centres sentinelles pour leur acheminement au laboratoire. Le faible nombre ou l'absence d'échantillons certains mois, mars et juillet en 2003 et mai et décembre en 2004 pourraient être imputés à ces deux facteurs plus qu'à une absence de cas suspects observés. La bonne sensibilisation des praticiens est une étape préalable à la notification et au recueil d'échantillons en vue de la confirmation du syndrome grip-pal.

Pour ce qui est des isolats identifiés, différents variants du virus Influenza A et B semblent circuler comme en témoignent l'isolement de deux sous-types de A, A (H3N2) et A (H1N1) et de virus B avec des isolats présentant des similitudes avec les variants, B/Sichuan/379/99 et B/Hongkong/330/01. Une bonne connaissance des variants circulants est indispensable si le vaccin anti-virus Influenza doit être utilisé dans le pays puisque la composition antigénique du vaccin est influencée par les variants géographiques (9, 10). Le typage de tous les isolats a été effectué à l'extérieur ; après deux années de fonctionnement, il importe de ré-aliser l'identification des souches sur place, ce qui permettra un gain de temps en cas d'épidémie.

CONCLUSION

La circulation des virus grippaux est une réalité à Abidjan. La confirmation de cas de grippe pendant ces deux années a démontré la capacité de diagnostic et de surveillance

virologique de ces agents viraux à Abidjan. Cependant, le bon fonctionnement du réseau nécessite une motivation de tous les acteurs, notamment des praticiens dont la bonne collaboration est indispensable pour obtenir des échantillons de cas suspects à analyser. La mise en place de méthodes d'identification telle que l'inhibition de l'hémagglutination est indispensable pour le typage rapide des isolats, ce qui permettra en cas d'épidémie, voire en situation de pandémie, de détecter les souches hautement pathogènes.

Remerciements • Nous adressons nos sincères remerciements au Pr. M. Aymard du Centre collaborateur OMS et de Recherche sur les Virus Grippaux de Lyon, pour nous avoir fourni les réactifs pour le test ELISA, au Dr T. Besselar du Laboratoire de la grippe du NICD, et aux Dr A-M. Bruyère, J-C. Manuguerra et Pr. S van der Werf du Centre National de la Grippe France-Nord, à l'Institut Pasteur de Paris, pour l'identification des isolats, à tous les médecins des centres sentinelles pour leur collaboration et aux Laboratoires Aventis-Pasteur pour leur soutien financier.

RÉFÉRENCES

- 1 - COLLEGE DES UNIVERSITAIRES DE MALADIES INFECTIEUSES TROPICALES - Infections virales - grippe. In «PILLY E - Collège des universitaires de maladies infectieuses tropicales». 2M2 ed, Montmorency, 2001, pp 417-20.
- 2 - HANNOUN C - Les réseaux de surveillance de la grippe. *Immunol Med* 1991 ; **8** : 216-20
- 3 - CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION UPDATE - Influenza activity -United states and Worldwide, 2000-01 season. *MMWR* 2001 ; **50** : 1084-6.
- 4 - DOSSEH A, N'DIAYE N, SPIEGEL A *et Coll* - Epidemiological and virological influenza survey in Dakar, Senegal: 1996-1998. *Am J Trop Med Hyg* 2000 ; **62** : 639-43.
- 5 - HARMON W - Influenza viruses. In «LENNETTE EH - Laboratory diagnosis of viral infection». Second Edition. Berkeley ed, California, pp 515-35.
- 6 - AYMARD M - Influenza: epidemiology, etiology, physiopathology, diagnosis, treatment, prevention. *Rev Prat* 1994 ; **44** : 2771-9.
- 7 - MC GLONE FB, ARDEN NH - Impact of influenza in geriatrics and an action plan for prevention and treatment. *Am J Med* 1987 ; **82 Suppl 6A** : 55-7.
- 8 - RYAN-POIRIER K. Influenza virus infection in children. *Adv Pediatr Infect Dis* 1995 ; **10** : 125-56.
- 9 - WORLD HEALTH ORGANISATION - Recommended composition of Influenza virus vaccines for use in the 1998-1999 season. *Weekly Epidemiol Rec* 1998 ; **74** : 57-63;
- 10 - WORLD HEALTH ORGANISATION. Recommended composition of Influenza virus vaccines for use in the 2001-2002 season. *Weekly Epidemiol Rec* 2001 ; **76** : 58-61.