

UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



Faculté de Médecine, Pharmacie et d'Odontostomatologie

Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée

Année : 2015

ETUDE DE LA SÉROPRÉVALENCE DU CHIKUNGUNYA DANS LA RÉGION DE KÉDOUGOU, SÉNÉGAL ORIENTAL

Mémoire de Master II Spécialité : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

Présenté et publiquement soutenu le 28/11/2015

Par **Mr OUMAR NDIAYE**

MEMBRES DU JURY :

| | | | |
|-------------|--------------------------|------------------------------|------|
| Président : | Mr Cheikh Saad Bouh BOYE | Professeur | UCAD |
| Membres : | Mme Amy Gassama SOW | Professeur | UCAD |
| | Mr Makhtar CAMARA | Maître de conférences agrégé | UCAD |

Directeur de Mémoire : Mr Amadou Alpha SALL Chef de Service Pole de virologie-IPD

Co-directeurs de mémoire : Mr Abdourahmane SOW Chercheur Pole de virologie-IPD

Mr Oumar FAYE Chargé de recherche Pole de virologie-IPD

DEDICACES

A mes chers parents :

Vous avez toujours été une référence pour moi. Votre dignité, votre courage et votre abnégation m'ont toujours donné le courage de surmonter les difficultés et les défis de la vie. Ce travail est le fruit de votre éducation ; sans vous je ne serais jamais parvenu à ce niveau. Je continuerais toujours à suivre votre exemple et vos conseils si fructueux.

A ma très chère Tante Fatou Leyti Ndiaye et mon Oncle Alé Ndiaye,

A mon défunt grand frère Leyti Ndiaye, Paix à son âme !

A mes frères sœurs et cousins :

Je ne voudrais surtout pas représenter pour vous un exemple à suivre, mais plutôt à dépasser. Je serais toujours à vos côtés pour vous assister et vous conseiller. Bon courage !

Ce travail est aussi dédié à ma très chère épouse Sadio Keita, je te remercie pour toute ta compréhension, ton amour ainsi que ton soutien indéfectible dans tous mes projets, tu es la boussole qui a su m'orienter aussi loin dans mes ambitions.

REMERCIEMENTS :

Je voudrais rappeler que ce mémoire n'est pas seulement le fruit de mon travail ; il est le résultat d'un travail d'équipe, de concertation, de travail et de critique. Si ce travail a eu lieu, c'est parce que des personnes y ont crut et m'ont soutenu. Ce mémoire m'a offert ainsi l'agréable opportunité d'exprimer mes sentiments et ma profonde gratitude à un certain nombre de personnes dont le soutien indéfectible a permit sa réalisation.

Je tiens d'abord à exprimer toute ma gratitude au Dr Amadou Alpha Sall, Chef du Pôle virologie et Directeur Scientifique de l'Institut Pasteur de Dakar (IPD), qui a accepté d'être mon encadreur durant cette période et qui n'a cessé depuis de m'apporter conseils et soutiens. Merci, Monsieur, de m'avoir fait confiance et de m'avoir fait bénéficier de formidables opportunités professionnelles.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur de lire et critiquer ce travail.

Nos vifs remerciements aussi au Pr Cheikh Saad Boye pour nous avoir permis de compléter notre cursus universitaire par cette formation si enrichissante. Votre largesse, votre disponibilité et votre sagesse nous ont beaucoup marqué au cours de cette formation. Nous vous en remercions profondément.

Je souhaite remercier tout particulièrement le Dr Abdourahmane SOW médecin épidémiologiste au pole de virologie, pour avoir dirigé mon travail avec tant d'enthousiasme et de gentillesse. Je te remercie pour m'avoir communiqué ton énergie et m'avoir encouragé lors des moments difficiles. Avec toute mon amitié.

Mes sincères remerciements au Dr Oumar Faye chargé de recherche au Pole de Virologie pour avoir bien voulu co-diriger ce travail de mémoire, votre disponibilité et vos conseils m'ont beaucoup inspiré.

Je tiens aussi à remercier particulièrement Mme Rouguiétou SYLLA, ma maman, ma référence pour l'excellente formation dont j'ai pu bénéficier avec vous. Mes remerciements vont aussi à tout le personnel de l'Unité des Arbovirus et Virus des Fièvres Hémorragique de l'IPD : Maguèye NDIAYE, Moussa DIA, Arame BA, Seynabou SARR, Fatou Sow DIOP, Moussa Moise, Martin FAYE, Ndèye BOB, Fatou DIA, Fatim BA, Henriette NDIONE,

Aissatou NDIAYE, Carlos FORTEZ, Modou NDIAYE, Mbaye GUEYE, Makhtar FALL pour m'avoir si gentiment apporté leur collaboration.

Je tiens aussi à remercier toute l'équipe de terrain de la station Pasteur de Kédougou Mr Bakary SADIO, Mr Bidiel FALL et Monsieur Lucien BINDIA.

Enfin, je remercie mes parents, mon épouse, mes sœurs frères et cousins pour avoir toujours été présents et m'avoir aidé à réaliser mes projets

LISTE DES ABBREVIATIONS

| | |
|---|--|
| Δ DO: Delta DO | Mac-ELISA: IgM Capture ELISA |
| °C : degré celsius | ml : millilitre |
| Ac: Anticorps | nm : nanomètre |
| ADN: Acide désoxyribonucléique | ONNV: On'yong N'yong Virus |
| Ag: Antigène | OR: Odd ratio |
| ARN: Acide ribonucléique | P: p value |
| CDC: Center for DiseasesControl | PAMP: Pathogen associated molecular pattern |
| CHIKV: Chikungunya virus | PBS: Phosphate Buffered saline |
| CN: Contrôle négatif | PCR :Polymerase Chain reaction |
| DDT: dichloro diphényltrichloroéthane | pH : Potentiel hydrogène |
| DO: Densité optique | RPA: Recombinase pokymerase Amplification |
| ELISA:Enzyme Linked ImmunosorbentAssay | TLR: Toll Like receptor |
| FJ: Fièvre Jaune | TMB : Tetramethylbenzidine |
| HRP : Horseradish peroxidase | UFP: Unité Formant Plages |
| IC: Intervalle de confiance | μ l: microlitre |
| IFN : interferon | WHO: World Health Organization |
| IgG : immunoglobuline G | X ² : Khi-Deux |
| IgM : immunoglobuline M | |

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques sociodémographiques de la population étudiée

Tableau 2 : Séroprévalence en fonction de l'origine géographique

Tableau 3 : Séroprévalence en fonction du type d'habitat

Tableau 4 : Séroprévalence en fonction des caractéristiques sociodémographiques

Tableau 5 : Analyses des facteurs de risque associés à l'exposition au chikungunya

Figure 1 : Distribution Géographique du virus chikungunya.

Figure 2 : Représentation schématique du virus

Figure 3 : Représentation schématique du génome viral

Figure 4 : Cycle de réplication du virus du chikungunya

Figure 5 : Les vecteurs

Figure 6 : Cycles de transmission du chikungunya

Figure 7 : Réponse immunitaire et Signes cliniques

Figure 8 : Cinétique des marqueurs virologiques utilisés pour le diagnostic

Figure 9: Villages investigués dans la Région de Kédougou en Janvier 2012

Figure 10 : Distribution de l'âge des sujets inclus dans l'étude

Figure 11: Distribution du type d'habitat en fonction du district

Figure 12: Carte de la répartition de la séroprévalence du CHIKV dans la région de Kédougou

SOMMAIRE

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION..... | 1 |
| PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE..... | 2 |
| 1 HISTORIQUE..... | 3 |
| 2 L'AGENT PATHOGENE..... | 5 |
| 2.1 Structure et organisation génomique..... | 5 |
| 2.2 Viabilité et Sensibilité..... | 7 |
| 2.3 Cycle de réplication du virus..... | 7 |
| 3 ECOLOGIE ET MODES DE TRANSMISSION..... | 8 |
| 3.1 Les Vecteurs..... | 8 |
| 3.2 Cycles de transmission..... | 9 |
| 3.2.1. Le cycle selvatique..... | 9 |
| 3.2.2. Le cycle endémo-épidémique..... | 9 |
| 4 PATHOGENESE ET REPONSE IMMUNITAIRE..... | 10 |
| 4.1 Physiopathologie et symptomatologie clinique..... | 10 |
| 4.2 Réponse immunitaire..... | 11 |
| 5 DIAGNOSTIC DU CHIKUNGUNYA..... | 12 |
| 5.1 Diagnostic Clinique..... | 12 |
| 5.2 Diagnostic de Laboratoire..... | 12 |
| 5.2.1 Isolement viral | 13 |
| 5.2.2 Le Diagnostic Moléculaire..... | 13 |
| 5.2.3 Le diagnostic sérologique..... | 13 |
| 5.2.4 Limites du diagnostic de laboratoire..... | 14 |
| 6 TRAITEMENT ET PREVENTION..... | 15 |
| 6.1 Traitement..... | 15 |
| 6.2 Prévention..... | 15 |
| 6.2.1Lutte anti vectorielle..... | 15 |
| 6.2.2Développement de vaccins..... | 15 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| | DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EXPERIMENTAL..... | 16 |
| 1 | CONTEXTE DE L'ETUDE..... | 17 |
| 2 | OBJECTIFS..... | 17 |
| 3.1 | Objectif général..... | 17 |
| 3.2 | Objectifs spécifiques..... | 17 |
| 3 | CADRE ET TYPE D'ETUDE..... | 18 |
| 3.1 | Cadre de l'étude..... | 18 |
| 3.2 | Type d'étude et critères d'inclusion..... | 19 |
| 4 | MATERIEL ET METHODES..... | 19 |
| 4.1 | Protocole d'échantillonnage..... | 19 |
| 4.2 | Collecte des données..... | 19 |
| | 4.2.1 Données de l'interrogatoire..... | 19 |
| | 4.2.2 Procédure de recueil des échantillons..... | 20 |
| 4.3 | Dosage des immunoglobulines..... | 20 |
| | 4.3.1 Détection des immunoglobulines de type IgG par ELISA | 20 |
| | 4.3.2 Détection des immunoglobulines de type IgM par ELISA..... | 22 |
| 5 | ANALYSE DES DONNEES..... | 24 |
| | RESULTATS ET DISCUSSION..... | 25 |
| 6 | RESULTATS..... | 26 |
| 6.1 | Analyse descriptive de la population..... | 26 |
| 6.2 | SEROPREVALENCE DANS LA REGION DE KEDOUGOU..... | 29 |
| | 6.2.1Séroprévalence en fonction de l'Origine géographique..... | 29 |
| | 6.2.2Séroprévalence en fonction du Type d'habitat..... | 30 |
| | 6.2.3Séroprévalence en fonction des caractéristiques sociodémographiques..... | 31 |
| | 6.2.4Analyse des Facteurs de risque..... | 33 |
| 7 | DISCUSSION..... | 34 |
| | CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... | 36 |
| | REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 37 |

INTRODUCTION

De nos jours, dans les zones tropicales et subtropicales la première maladie recherchée en cas d'accès fébrile est le paludisme à cause de sa fréquence élevée, cependant un certain nombre de pathologies infectieuses sont susceptibles d'être à l'origine de ces accès fébriles et sont pour certaines dues à un groupe de virus émergents et ré émergents dénommés « arbovirus » qui vient de l'expression anglaise « Arthropod borne virus », il s'applique à plus de 400 virus de familles différentes, leur mode de transmission naturel comporte par définition l'inoculation à l'hôte sensible (homme, animal) par une piqûre d'Arthropode (moustique ou tique par exemple) qui héberge le virus dans sa salive. C'est dans ce groupe que nous retrouvons le chikungunya, il est du au virus du chikungunya (CHIKV) qui appartient à la famille des *Togaviridae* et au genre *Alphavirus* et est transmis par des moustiques du genre *Aedes*. La maladie se manifeste principalement par un syndrome infectieux associé à de fortes douleurs articulaires et des myalgies pouvant se compliquer par des encéphalites ou des hémorragies (1). Elle a été décrite pour la première fois en Afrique, en Tanzanie en 1952 (2) mais depuis lors, plusieurs épidémies ont par la suite été notifiées en Afrique et en Asie (3), plus tard des épidémies de CHIKV ont été signalées en Europe notamment en Italie en 2007 (4) et en France en 2011 (5). En 2014, le virus fait son apparition pour la première fois sur le continent américain (6). Au Sénégal, plusieurs épidémies de chikungunya ont été déclarées dans l'Ouest du pays en 1966 et 1982 (7) à Niakhar et à Kaffrine en 1996-1997 (8). Dans la région de Kédougou, malgré plusieurs amplifications selvatiques (7), aucune épidémie majeure n'a été rapportée. C'est dans ce cadre qu'un programme de surveillance des syndromes fébriles aigus a été mis en place en 2009 pour surveiller la circulation des arbovirus au niveau des populations humaines et mesurer leur poids réel dans les accès fébriles non palustres. Ce programme a mis en évidence une circulation du CHIKV en 2009-2010 avec 20 cas confirmés principalement dans les districts de Kédougou et de Saraya (9). Par ailleurs, lors de l'investigation de l'épidémie de Fièvre jaune (FJ) déclarée dans la région de Kédougou en 2011, une étude de séroprévalence pour évaluer l'immunité de la FJ chez les populations avait été menée pour identifier les populations les plus à risque et d'orienter les stratégies de riposte vaccinale. Comme le CHIKV est transmis par les mêmes vecteurs que le virus de la FJ et qu'il a été plusieurs fois détectés en milieu selvatique, il nous a semblé donc intéressant d'étudier la séroprévalence du CHIK dans la région à partir des mêmes échantillons collectés pour estimer la susceptibilité des populations de la région face à ce virus et d'identifier les groupes et les zones les plus à risque en cas de nouvelle flambée épidémique.

PREMIERE PARTIE

REVUE DE LA LITTERATURE

1. HISTORIQUE DE LA MALADIE

Le Chikungunya a été décrit pour la première fois lors d'une épidémie en Tanzanie au niveau du plateau de Makondé dans la province de Newala en 1952 ou 1953 selon d'autres sources (2). D'ailleurs des études phylogénétiques ont montré que le virus a dû circuler pendant une bonne centaine d'années de manière enzootique à l'intérieur du continent africain avant de s'étendre à travers le monde (10). Des épidémies ont été décrites par la suite en Afrique tropicale (Sénégal, Centrafrique, Angola, Ouganda, Zambie, Zimbabwe) ainsi qu'en Asie (Inde, Sri Lanka, Vietnam, Cambodge, Birmanie, Thaïlande, Indonésie...) (11). Mais des épidémies antérieures à 1952 ont été identifiées rétrospectivement aux vues des connaissances actuelles sur cette maladie. Ainsi, le Chikungunya aurait touché le Caire et Jakarta en 1779, Zanzibar en 1823 et 1870, l'Inde en 1823, 1824, 1825, 1871 et 1872, Hong Kong, la Birmanie et Madras en 1901-1902 et les Etats-Unis au début des années 1900 (12). A partir des années 1960 la maladie connut une progression fulgurante surtout en Asie du Sud et dans l'Océan Indien où de grosses épidémies furent notifiées (13). Ainsi, en Inde on dénombre 400000 cas en 1964, entre 1999 et 2003, l'Indonésie a quant à elle connu 25 épidémies avec des taux d'attaque très élevées (14). À partir de février 2005, une importante flambée de chikungunya s'est produite dans la même zone de l'Océan Indien (15). Un grand nombre de cas importés en Europe ont été imputés à cette flambée. On dénombra à l'île de la Réunion 266000 infections dont 22 cas sévères et 44 cas de transmission mère-enfant (16). Une flambée importante de chikungunya est survenue en Inde en 2006 et en 2007, plusieurs autres pays de l'Asie du Sud-est ont également été affectés (17). Durant la même année, la transmission a été enregistrée pour la première fois en Europe, à l'occasion d'une flambée localisée dans le Nord-est de l'Italie au cours de laquelle 197 cas ont été enregistrés (5) Le 21 octobre 2011, la France a confirmé 4 cas de chikungunya contractés localement à Montpellier (4). A la fin de l'année 2013, la première transmission locale de chikungunya est signalée dans les Caraïbes (6) et s'étend rapidement, et présentement en 2015 des flambées épidémiques ont été enregistrés dans 42 pays en Amérique Centrale et du Sud avec 1094661 cas suspects et 26606 cas confirmés (6). Le Canada, les États-Unis d'Amérique et le Mexique ont également enregistré des cas importés (18).

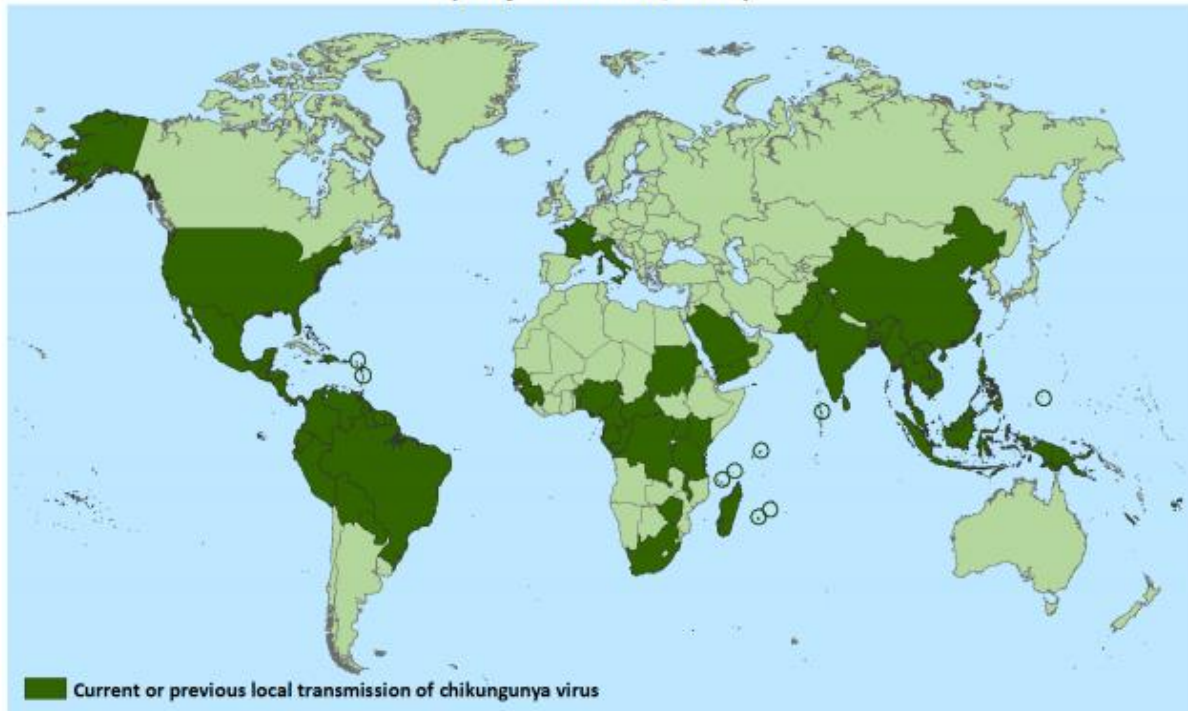
En Afrique, entre 1960 et 1990, le virus a été isolé à maintes reprises dans les pays d'Afrique Centrale du Sud et de l'Ouest (19). Les plus récentes épidémies sont celles de la République Démocratique du Congo (2004), Kenya (2004) Soudan, Seychelles (2005) Sénégal, Guinée et Cameroun en 2006, Gabon en 2007 (20). Au Sénégal, les premiers isolements du virus datent

de 1962-1963 et ont été réalisés à partir de glandes salivaires de chauves souris du genre *Scotophilus* capturés à Gagnick (Kaolack), en 1962 à Rao (Saint-Louis) et en 1963 à Kédougou (8). A la suite de ces isolements, plusieurs épidémies dues au virus ont été rapportées dans la partie occidentale du pays. De Septembre à Novembre 1966, une intense circulation du virus s'est manifestée à divers endroits (Bandia, Saboya, Rufisque, Mbouf-Malem, Ndiop, N'dofène, Bangadj, Galague N'guagane) (7). A Rufisque, onze cas ont pu être identifiés et 4 souches du virus ont été isolées (7). Les principaux vecteurs incriminés sont *Aedes luteocephalus* et *A.aegypti* ; *Aedes furcifer* et *Aedes taylori* tous les deux abondants dans les villages ont pu jouer un rôle dans ces épidémies. En juillet et en Novembre 1982, deux épidémies de Chikungunya ont été observés dans l'Ouest du Sénégal, respectivement à Touba et à Thiadiaye treize souches ont été isolées (21). En 1996 et 1997, deux autres épidémies de CHIKV sont survenues respectivement à Kaffrine et Niakhar (8). A Kaffrine au cours d'une épidémie de FJ (22) le diagnostic différentiel des autres arbovirus a permis la découverte fortuite de l'épidémie de CHIK, l'enquête sérologique a permis de retrouver un taux d'incidence de 35,1% . A Niakhar, trois cas chez des agents de Santé ont permis de déceler une épidémie dans la zone avec 39,08% de la population touchée (8).

Au Sénégal oriental, des amplifications selvatique du virus ont été détectées dans des pools de moustiques en 1975, 1979, 1983, et 1992 dans la région de Kédougou (23). Ainsi il fut isolé 178 souches à partir de moustiques de galeries forestières (*Aedes luteocephalus* 27 souches, *Aedes furcifer-taylori* 129 souches, *Aedes dalzieli* 12 souches. Il fut aussi isolé chez l'homme (une souche en 1975 et deux souches de 1983) et des singes (*Cercopithecus aethiops* en 1972, *Papio papio* en 1975 et *Erythrocebus patas* en 1983). Des cas humains de chikungunya ont été décelés en 2004 à Kédougou parmi les volontaires du Peace Corps américain. En 2009 on nota la première épidémie documentée de chikungunya au niveau de la région de Kédougou en concomitance avec une épidémie de Dengue (9). Actuellement il est noté une flambée épidémique dans toute la région de Kédougou avec à ce jour une trentaine de cas confirmés par biologie moléculaire et une cinquantaine par MAC-ELISA. Les investigations entomologiques et virologiques sont toujours en cours pour identifier les vecteurs ainsi que la souche circulante.

Ainsi, du fait de l'augmentation des échanges mondiaux et des changements climatiques favorisant l'expansion géographique des vecteurs du chikungunya, cette maladie est devenue un véritable problème de Santé publique à travers le monde (24).

**Countries and territories where chikungunya cases have been reported*
(as of October 20, 2015)**



*Does not include countries or territories where only imported cases have been documented. This map is updated weekly if there are new countries or territories that report local chikungunya virus transmission.

Figure 1 : Répartition géographique du virus chikungunya à travers le monde (24)

2. L'AGENT PATHOGENE

Le virus du chikungunya est un arbovirus transmis appartenant à la famille des *Togaviridae* et au genre *Alphavirus*. Ce genre comprend 30 espèces classifiés en 7 complexes antigéniques présentant les mêmes manifestations cliniques chez l'homme le CHIKV appartient au complexe antigénique Semliki Forest Virus (SFV) (25). Il n'existe qu'un seul sérotype de CHIKV, néanmoins on distingue 3 grandes lignées génétiques selon le lieu où ils sévissent à savoir le génotype de l'Afrique Centrale du Sud et de l'Est (ECSA), le génotype asiatique et le génotype Ouest-Africain (26).

2.1 Structure et organisation génomique

Le virus Chikungunya (environ 60-70 nm de diamètre) est sphérique, enveloppé et possède un génome constitué d'ARN à polarité positive. Le génome du virus est de 11 805 nucléotides de long et code pour deux polyprotéines, la polyprotéine non structurale composée de quatre protéines (nsP1, nsP2, nsP3 et nsP4) et de la polyprotéine structurale constituée de cinq protéines (capside, E3, E2, 6K et E1). L'extrémité 5' de la molécule d'ARN est coiffée d'un 7-méthylguanosine tandis que l'extrémité 3' est polyadénylée. Un brin d'ARN positif

subgénomique dénommé 26SRNA est transcrit à partir d'un ARN à brin négatif intermédiaire. Cet ARN sert d'ARNm pour la synthèse des protéines structurales virales. Les Alphavirus ont conservé des domaines qui jouent un rôle important dans la régulation de la synthèse de l'ARN viral. Ces domaines sont trouvées aux extrémités 5' et 3' ainsi que dans la région intergénique. Les glycoprotéines E1 et E2 jouent un rôle dans l'attachement aux cellules (27).

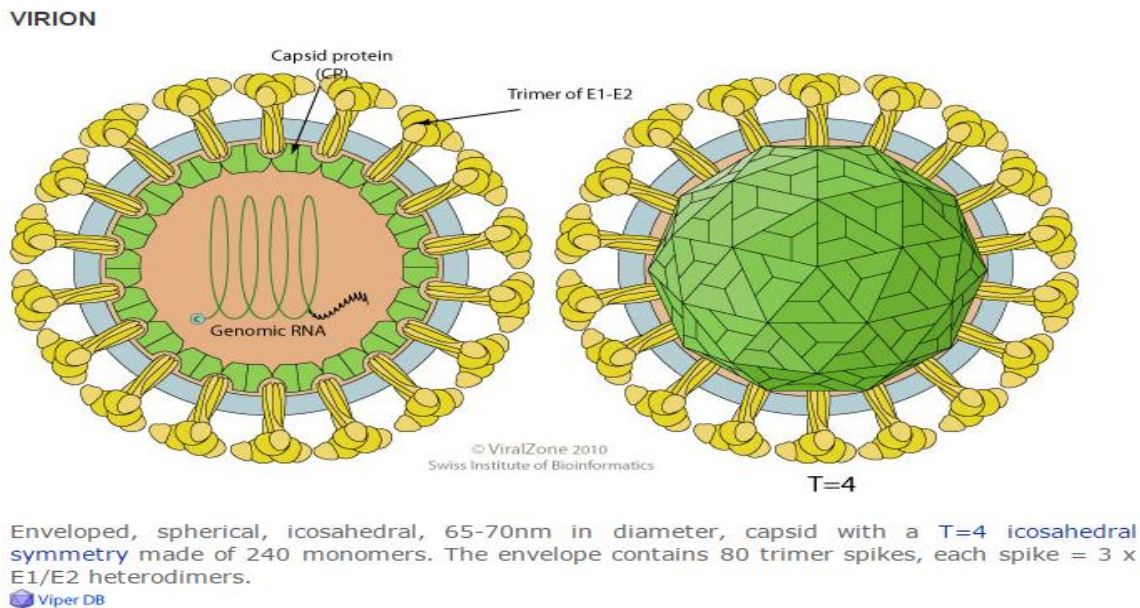


Figure 2: Représentation schématique du virus (27)

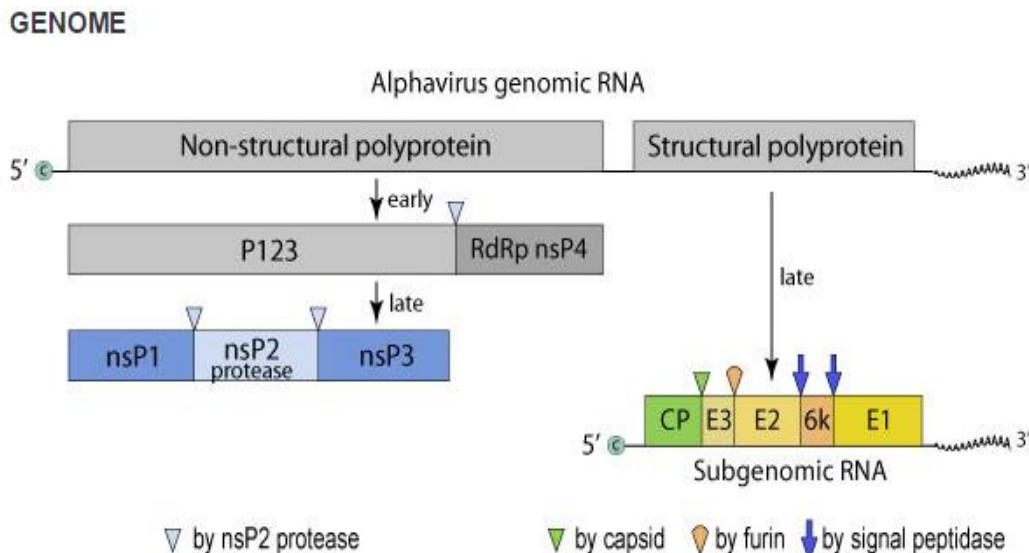


Figure 3 : Représentation schématique du génome viral (27)

2.2 Viabilité et Sensibilité

Comme la plupart des virus à enveloppe lipidique, le virus est sensible à l'éthanol 70°, à l'hypochlorite de sodium, au formaldéhyde, au glutaraldéhyde, aux phénoliques, aux iodophores et aux composés d'ammonium quaternaire. Il peut aussi être inactivé par la dessiccation et des températures supérieures à 58°C. La durée de survie à l'extérieur de l'hôte est inconnue (28).

2.3 Cycle de réplication

Les virions situés sur la surface de la membrane cellulaire pénètrent dans les cellules hôtes par la fusion de l'enveloppe virale avec celle de la cellule cible (pH Dépendante). La décapsidation des virions se produit dans le cytoplasme. Le site de transcription de l'ARNm est intra cytoplasmique et l'assemblage a lieu au niveau de la membrane cytoplasmique. La réplication n'est pas limitée à un tissu ou organe particulier de l'hôte de sorte que la réplication virale se produit dans divers organes mais avec une prédominance pour les tissus musculaires, les organes lymphoïdes et les articulations. Le cycle de réplication est rapide et dure environ 4 heures (29).

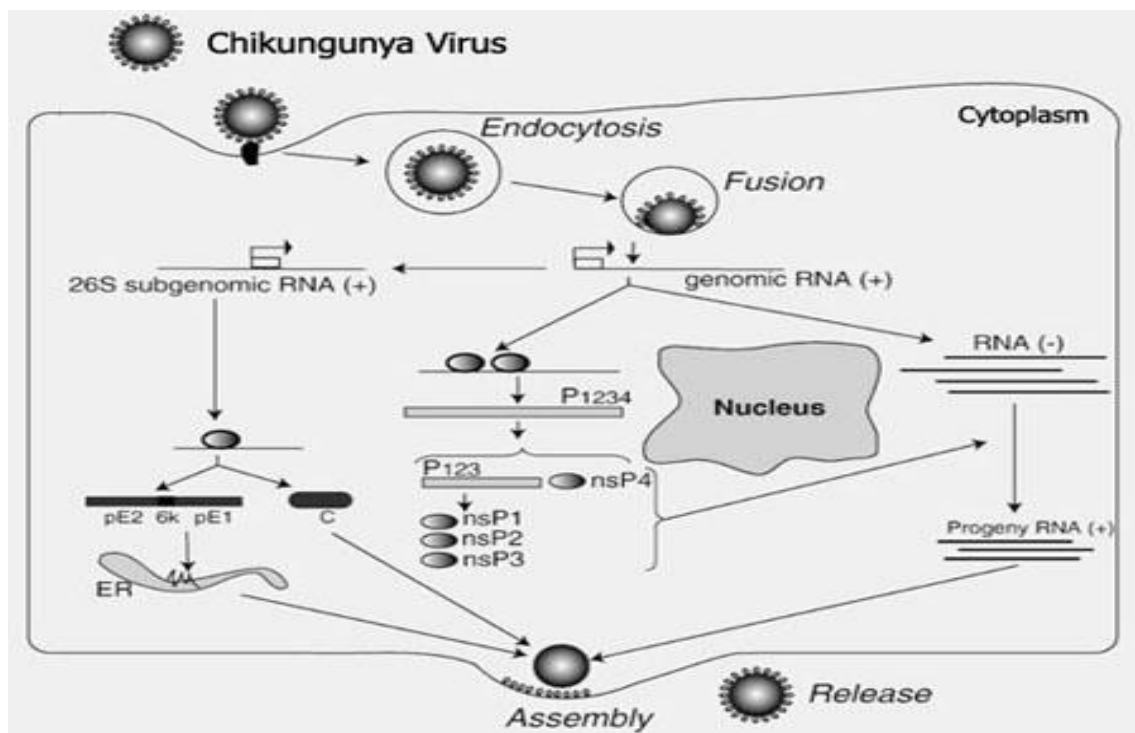


Figure 4 : Cycle de réplication du virus du chikungunya (29)

3. ECOLOGIE ET MODES DE TRANSMISSION

3.1 Les vecteurs

Le virus est transmis par les femelles des moustiques du genre *Aedes* principalement, qui se nourrissent du sang pour achever la maturation des œufs. Après un repas de sang sur un hôte infecté par le virus, le moustique s'infeste à son tour et le reste à vie. Le virus se réplique alors dans les différentes parties du moustique avant de se retrouver dans la salive. Au cours du repas de sang suivant, il injecte de la salive dans la plaie et sans le savoir, il injecte aussi le virus dans l'hôte (29).

Aedes aegypti :

C'est un petit moustique sombre d'environ 4 à 7 millimètres avec des marques blanches typiques sur les jambes et un marquage de la forme de lyre sur le thorax. Il est originaire d'Afrique. Le moustique est plus actif durant le jour, pendant environ deux heures après le lever du soleil et quelques heures avant le coucher du soleil, les mâles ne piquent pas les humains, ils se nourrissent de fruits. *Aedes aegypti* est adapté pour se reproduire autour des habitations humaines et préfère pondre ses œufs dans de l'eau propre qui ne contient pas les autres espèces de moustique, il a été impliqué dans la plupart des épidémies urbaines connus du chikungunya en Afrique et récemment dans les Amériques.

Aedes albopictus :

Le moustique tigre mesure environ 2 à 10mm de long et est caractérisé par son corps et ses pattes rayées en noir et blanc. Il est originaire des régions tropicales et subtropicales de l'Asie du Sud-est. Cependant, durant les deux dernières décennies de cette espèce a envahi de nombreux pays à travers le monde via le transport de marchandises et l'augmentation des voyages internationaux. Il a le même comportement qu'*Aedes albopictus* mais a un plus large spectre d'hôtes et est beaucoup plus agressif. Il a été associé aux épidémies dans les Amériques et dans l'Océan Indien où l'apparition d'une mutation particulière au niveau de la glycoprotéine E1(A226V) de l'enveloppe du virus a favorisé l'adaptation du virus au vecteur (30).



Aedes aegypti

Aedes albopictus

Figure 5 : Les vecteurs de la maladie (31)

3.2 Cycles de transmission

Deux cycles de transmission ont été documentés pour le virus CHIK (32) :

- Un cycle selvatique enzootique rencontré exclusivement en Afrique
- Un cycle endémo-épidémique observé aussi bien en Afrique, en Asie et dans l’Océan Indien et récemment dans les Amériques

3.2.1. Le cycle selvatique

Ce cycle se déroule en milieu forestier, il implique plusieurs espèces de moustiques comme vecteurs (*Aedes furcifer*, *Aedes africanus*, *Aedes vittatus*, *Aedes fulgens*, *Aedes luteocephalus*, *Aedes dalzieli*, *Aedes vigilax*, *Aedes camptorhynchites*, *Mansonia* et *Culex sp*) et les primates non-humains comme réservoirs principaux. D’autres animaux comme des reptiles, des chauves souris, rongeurs et mêmes des oiseaux ont été trouvés comme présentant des marqueurs d’infection ancienne et pourraient constituer des réservoirs potentiels (33) L’homme en s’exposant dans la forêt peut se retrouver infecté et initier par la suite un cycle épidémique.

3.2.2. Le cycle endémo-épidémique

Ce cycle se déroule en milieu urbain ou péri-urbain, il implique une transmission inter-humaine assurée par *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. La mutation A226V chez le virus semble augmenter l’infectivité de la souche chez *Aedes albopictus* et pourrait en partie expliquer la progression fulgurante de l’épidémie de l’océan Indien de 2006 (30).

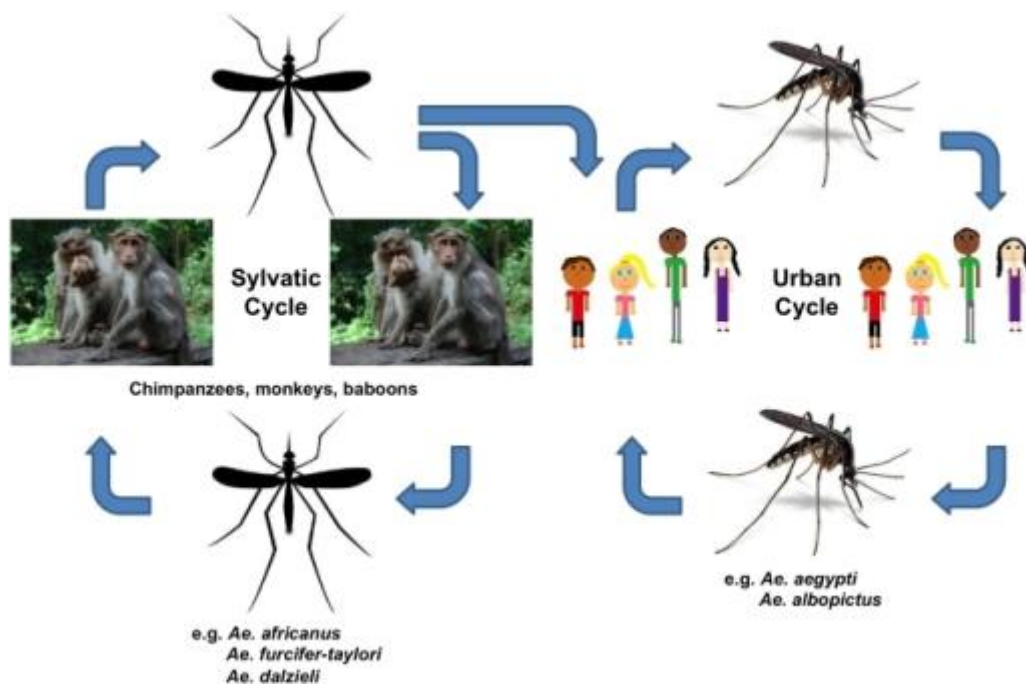


Figure 6 : Cycles de transmission du chikungunya (32)

Dans la littérature, la survenue des épidémies dans les pays où circule le virus Chikungunya semble suivre un cycle de 7 à 10 ans, durée probablement liée au temps nécessaire au renouvellement d'une génération non immune vis-à-vis du virus, ainsi qu'au renouvellement des populations de réservoirs animaux (34).

4. PATHOGENESE ET REPOSE IMMUNITAIRE A L'INFECTION

4.1 Physiopathologie et symptomatologie clinique

A la suite de la pique infestante, il s'en suit une incubation silencieuse période qui dure environ 2-4 jours. Le début est brutal marqué par une forte fièvre associée à des céphalées, des myalgies, des dorsalgies et des arthralgies pouvant être intenses affectant principalement les extrémités (chevilles, poignets, phalanges) mais aussi les grosses articulations L'atteinte cutanée est présente dans environ 40 à 50% des cas, et se compose d'une prurigineuse éruption macculo-papuleuse prédominant sur le thorax. La présentation clinique peut également impliquer œdème facial et, chez les enfants, une bulleuse éruption cutanée avec desquamation prononcée, pétéchies localisées et gingivorragies. Des manifestations oculaires bénignes ont été trouvées associées à l'infection au CHIKV essentiellement une photophobie (35) moins fréquentes mais ont une évolution bénigne avec la résolution et la préservation de la vision complète. Les infections asymptomatiques sont rares et observées pour 15% des individus. Les symptômes disparaissent généralement dans les 7-10 jours, sauf pour la raideur

et des douleurs articulaires: ainsi, jusqu'à 12% de patients ont encore une arthralgie chronique trois années après l'apparition de la maladie, aucune particule virale infectieuses n'ayant pu être isolée de ces patients il a été suggéré qu'elle serait due à un mécanisme immunopathologique (36). Des complications neurologiques telles qu'une méningo-encéphalite ont été signalés chez quelques patients au cours la première épidémie indienne en 1973, et pendant celle de 2006 (37). D'autres complications rares ont été décrites notamment des manifestations hémorragiques, une myocardite, un syndrome de Guillain-Barré, et une hépatite. L'infection à CHIKV n'est généralement pas considérée comme un danger pour la vie du malade mais constitue un important facteur d'hospitalisations. Habituellement, l'évolution clinique est assez favorable, mais une mortalité élevée surtout néonatale, directement ou indirectement liée à l'infection par CHIKV a été observée au cours de l'épidémie de l'Océan Indien (38).

4.2 Réponse immunitaire

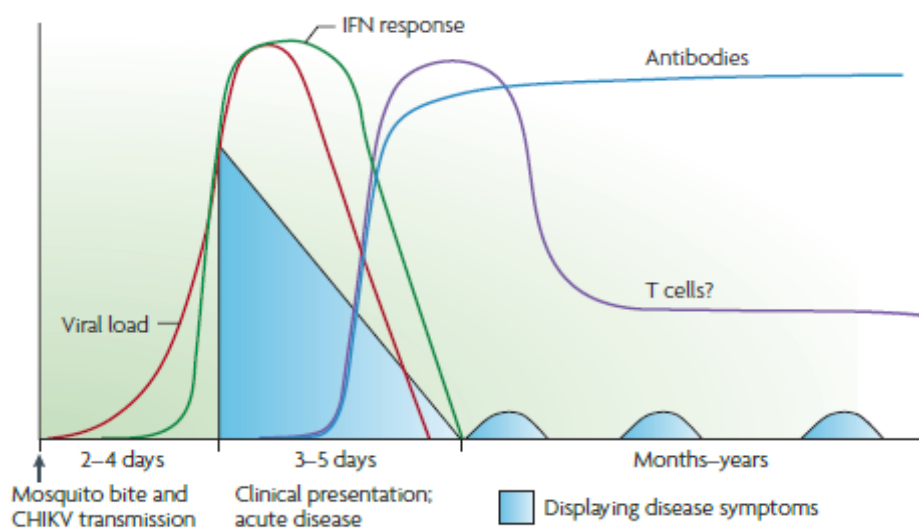


Figure 7 : Réponse immunitaire et signes cliniques (39)

La charge virale est très élevée au début de l'infection (10^9 à 10^{12} RNA copies/ml), les premières défenses mises en place sont celles de l'immunité innée notamment une production massive d'interférons de type I (IFNI). En effet, le génome du virus étant constitué d'ARN, lors de la réplication, il se forme des ARNs double brins qui sont reconnus par les récepteurs TLRs (Toll Like receptors) des cellules dendritiques et des fibroblastes comme des PAMPs (Pathogen Associated Molecular Pattern), il s'en suit une cascade de réactions qui aboutissent à la production d'interférons de type I, 5 jours après le début de l'infection, la

production d'anticorps de type IgM neutralisant se met en place et sont détectables jusqu'à un mois après, les anticorps de type IgG apparaissent au bout de 10 jours atteignent leur maximum à J15 et persistent pendant des années. La réponse à médiation cellulaire est peu impliquée vue qu'il y a un pan cytopénie consécutive à l'infection virale. Les cellules immunitaires les plus susceptibles à l'infection étant les macrophages, les lymphocytes B et T CD4 sont réfractaires à l'infection virale. Ainsi la principale réponse immunitaire lors de l'infection au CHIKV est celle à médiation humorale (39).

5. DIAGNOSTIC DU CHIKUNGUNYA

5.1 Diagnostic clinique

Le tableau classique de la maladie est caractérisé par une fièvre brutale associé de myalgies et d'arthralgies intenses localisées au niveau des extrémités. Cependant d'autres formes cliniques ont été rapportées (Confère : symptomatologie clinique, ci dessus)

Par ailleurs le diagnostic clinique est très difficile dans la phase précoce de la maladie car on note une ressemblance clinique avec d'autres maladies infectieuses parasitaires (paludisme), bactériennes (Leptospirose) et virales, Dengue, Ross River, Barmah Forest disease, O'Nyong-nyong, Semliki Forest, Sindibs et la fièvre Mayaro.

5.2 Diagnostic au laboratoire

Il repose soit sur des méthodes directes (qui détectent soit le virus ou ses antigènes) ou des méthodes indirectes (détectant la réponse immune à l'infection virale principalement par les anticorps).

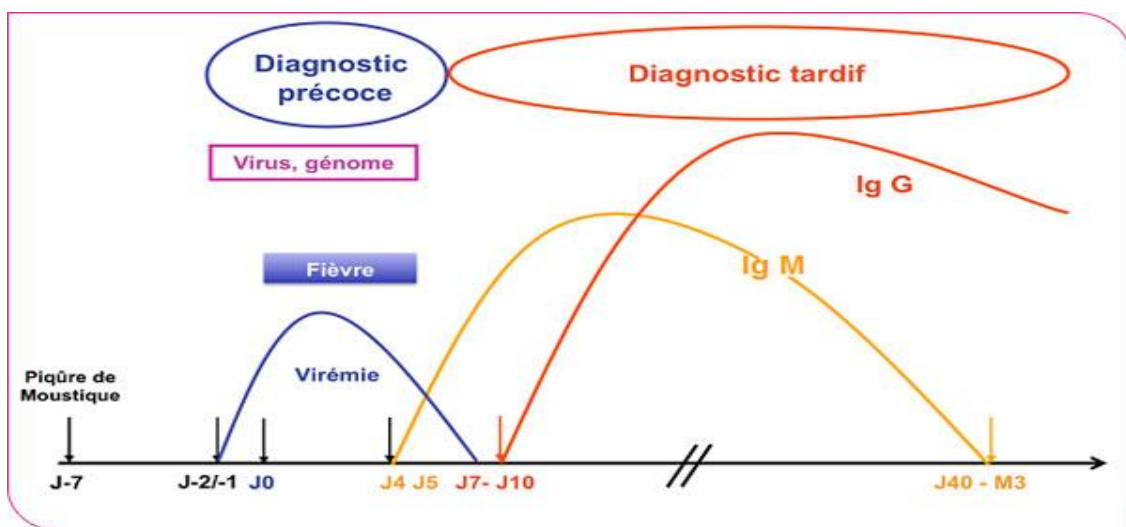


Figure 8 : Cinétique des marqueurs virologiques utilisés pour le diagnostic (40)

5.2.1 Isolement viral

C'est le test de référence, il est basé sur l'inoculation de sérums de patients virémiques (1 à 5 jours après le début de la maladie) ou de broyats de tissus après autopsie soit in-vivo sur souriceaux nouveau-nés ou in-vitro sur lignées continues de cellules (cellules de mammifères ou de moustique). Les lignées cellulaires les plus utilisées sont celles d'*Aedes albopictus* (C6/36) et d'*Aedes pseudoscutellaris* (AP61) on peut aussi utiliser les cellules de rein de singe (Vero) des cellules de Hamster (BHK 21) ou des cellules humaines cancéreuses (HeLa).

5.2.2 Le Diagnostic Moléculaire

Il s'agit de la RT-PCR en temps réel ou classique qui permet de détecter l'ARN viral durant la phase de virémie. Il existe depuis peu une nouvelle technique d'amplification dénommée RPA (Recombinase Polymerase amplification) beaucoup plus rapide que la PCR

5.2.3 Le diagnostic sérologique

Il permet de détecter les réponses immunitaires dirigées contre le virus principalement les anticorps de type IgM ou IgG produits en réponse à l'infection. Les techniques sont : l'ELISA, le test de fixation du complément et la séroneutralisation sur cellules.

a) La technique ELISA :

Le test ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) utilisé est un procédé (immuno-absorption enzymatique) permettant la détection et/ou le dosage d'une protéine (antigène ou anticorps) dans un liquide biologique grâce à l'utilisation d'un marqueur.

Ces marqueurs sont des enzymes. Cette méthode permet de détecter les immunoglobulines (anticorps) dirigés contre un virus et de savoir par conséquent si une personne a été exposée à l'agent pathogène recherchée ou pas. Elle est fondée sur la propriété qu'ont certains plastiques traités d'adsorber de façon stable les antigènes ou les anticorps. La méthode ELISA a une bonne sensibilité et une bonne spécificité. C'est une technique rapide avec un délai de réponse maximum de 5h. Elle est automatisée pour la lecture des densités optiques.

b) La fixation du complément :

Ce test permet la détection dans les sérums d'anticorps précoces spécifiquement dirigés contre un agent infectieux. En effet, si le sérum testé contient les anticorps recherchés, le complément préalablement ajouté, se fixe à l'immuncomplexe ainsi formé. La mise en évidence de cette fixation est faite par l'ajout d'un second complexe, le complexe hématies-anticorps antihématies : en cas de fixation du complément, aucune lyse n'est observée. A l'inverse, la lyse des hématies indiquera la disponibilité du complément et donc l'absence d'anticorps spécifiques. Cependant cette technique a comme inconvénient de ne détecter que les IgG1, IgG2 ou IgG3 et les IgM, elle est aussi beaucoup moins spécifique que le test ELISA.

c) La séroneutralisation sur cellules :

Le test de séroneutralisation par réduction des plages de lyse permet de quantifier le titre d'anticorps neutralisants contre un virus. L'échantillon de sérum, ou la solution d'anticorps, à tester est diluée et mélangée à une suspension virale. Le tout est ensuite incubé, afin de permettre à l'anticorps de réagir avec le virus, puis réparti sur une culture cellulaire de l'hôte du virus. La concentration du virus en unité formant plages (UFP) peut être estimée par le nombre de plaques (régions de cellules infectées) après quelques jours. Selon le virus, les unités formant plages sont mesurées par observation microscopique, anticorps fluorescent ou après l'usage de colorants spécifiques qui réagissent avec les cellules infectées. La concentration de sérum nécessaire pour réduire le nombre de plages de 50% (PRNT₅₀) par rapport au virus seul donne la mesure de la quantité d'anticorps et de leur efficacité. Cette technique est actuellement considérée comme étant de référence pour la détection et la mesure d'anticorps pouvant neutraliser des virus à l'origine de beaucoup de pathologies. Elle a une spécificité plus grande que les autres tests sérologiques.

5.3 Limites du diagnostic de laboratoire

Le diagnostic sérologique du virus chikungunya au laboratoire est assez fiable car les seules rares réactions croisées rapportées se font avec le virus O'Nyong Nyong qui sévit principalement au niveau de l'Afrique Centrale et de l'Est mais avec un impact beaucoup plus limité (2 épidémies notées à ce jour en 1959 au Congo, Kenya et Zaire, puis celui de 1996 en Ouganda) (41)

Les tests directs ont pour principales contraintes le respect de la chaîne de froid pour l'isolement et le coût pour les réactions de PCR mais elles sont beaucoup plus spécifiques.

6. TRAITEMENT ET PREVENTION

6.1 Traitement

A ce jour, il n'existe aucun traitement spécifique contre le chikungunya, le traitement est essentiellement symptomatique et consiste en l'administration d'anti-inflammatoires et d'antipyrétiques pour soulager les douleurs et la fièvre, et d'un apport optimum en liquide pour la réhydratation du patient. La ribavirine ou la chloroquine aident aussi à raccourcir la durée de la virémie (42).

6.2 Prévention

6.2.1 Lutte anti vectorielle

La prévention repose essentiellement sur la lutte anti-vectorielle contre les moustiques *Aedes*, celle-ci peut être dirigée contre les populations adultes aussi bien que les gîtes larvaires. L'utilisation d'insecticides tels le dichloro - diphényltrichloroéthane (DDT) est très efficace contre les populations d'*Aedes aegypti* mais pas contre *Aedes albopictus*. Dans une moindre mesure l'utilisation de produits répulsifs peut aider à combattre les piqûres de moustiques. Les moustiquaires imprégnées ne sont pas très efficaces les vecteurs transmettant la maladie piquant essentiellement la journée.

6.2.2 Développement de vaccins

La rareté antérieure des épidémies et le fait que le chikungunya soit une maladie essentiellement rencontrée dans les pays en développement conjugué à une faible létalité ont retardé pendant des décennies des recherches pour l'élaboration d'un vaccin. A l'heure actuelle, les deux principaux types de vaccins testés pour le virus chikungunya sont les vaccins vivants atténués et les vaccins inactivés mais celui qui donne les résultats les plus satisfaisants est le vaccin vivant atténué produit par l'USAMRID nommé TSI-GSD-218 qui est en phase II d'essais cliniques (43). 8% des sujets étudiés présentaient des symptômes d'arthralgies passagères mais 98% de la population d'étude présentait une séroconversion avec présence d'anticorps neutralisants. Il existe des pistes de développement de vaccins chimériques en utilisant des vecteurs atténués tels que le virus de l'Encéphalite équine (EEV) ou le virus Sindbis et le virus de l'encéphalite vénézuélienne (VEV) (44).

DEUXIEME PARTIE

TRAVAIL EXPERIMENTAL

1. CONTEXTE DE L'ETUDE

La région de Kédougou, qui fait l'objet d'une surveillance entomologique continue depuis 1972, est considérée comme un foyer de circulation selvatique du CHIKV, où le virus qui sévit de manière endémique connaît des amplifications selvatiques périodiques (8).

Cependant, malgré ces amplifications du virus selvatique, aucune flambée humaine n'a jamais été notifiée dans la région de Kédougou. En effet la population autochtone acquiert avec l'âge dans les zones d'émergence endémique une immunité directe ou croisée qui la protégerait des flambées épidémiques, malgré les amplifications récurrentes du virus (45). Toutefois, l'orpaillage traditionnel et l'urbanisation non structurée de la région pourraient favoriser une rupture de cet équilibre bioécologique avec l'arrivée massive et incontrôlée de migrants sénégalais ou étrangers non immuns, entraînant d'une part une surexposition au cycle selvatique des arbovirus au niveau des sites d'orpaillage et une dilution de l'immunité au niveau de la population autochtone. C'est dans ce contexte d'importants changements socioéconomique et environnementaux de la région de Kédougou qu'en 2012 une étude d'évaluation du risque de la Fièvre Jaune a été réalisée dans la région de Kédougou suite à une épidémie de FJ. Ainsi nous nous sommes proposés d'utiliser la même sérothèque représentative de la région pour évaluer la séroprévalence du CHIKV dans la région de Kédougou ainsi que les populations et les zones les plus à risque

2. OBJECTIFS DE L'ETUDE

2.1 Objectif général

Evaluer la séroprévalence du chikungunya au niveau des populations dans les districts sanitaires de la région de Kédougou et identifier les populations et les zones les plus à risque.

2.2 Objectifs spécifiques

- Estimer la séroprévalence des anticorps anti-CHIKV (Ac-IgM et IgG) chez les populations de la région de Kédougou
- Identifier les zones les plus à risque dans la région de Kédougou
- Identifier les groupes les plus susceptibles face à la menace d'une épidémie de Chikungunya dans la région de Kédougou.

3. CADRE ET TYPE D'ETUDE

3.1 Cadre de l'étude : Région de Kédougou

L'étude s'est déroulée dans la région de Kédougou située à l'extrême Sud-Est du Sénégal entre 12 ° 33' de latitude Nord et 12° 11' longitude Ouest. Elle est limitée au Sud par la République de Guinée, et à l'Est par la République du Mali (Figure 9). Elle a une superficie de 16 896 km² et compte une population de 153 476 habitants. La population est essentiellement rurale (84 %), peu scolarisée (27 %), et d'une grande diversité ethnique. Les Bassari, les Peulh, les Bédick, et les Malinké, en sont les principaux groupes (46).

Le relief est très accidenté et dépasse par endroit 200 m d'altitude. La région de Kédougou se situe entre les isohyètes 1200 mm et 1300 mm. La saison des pluies démarre, au mois de Mai au plus tard en juin et se poursuit jusqu'au mois de Novembre. La continentalité de la région explique les températures généralement élevées (moyenne annuelle de 28,4 °C).

De part sa position géographique stratégique (frontalier de la Guinée et du Mali), et le faciès écologique particulier de la région qui en fait une zone de transition entre forêt et savane, l'abondance des vecteurs culicidiens et de la faune sauvage (primates surtout), la région de Kédougou constitue une niche écologique idéale pour l'amplification de nombreux arbovirus.

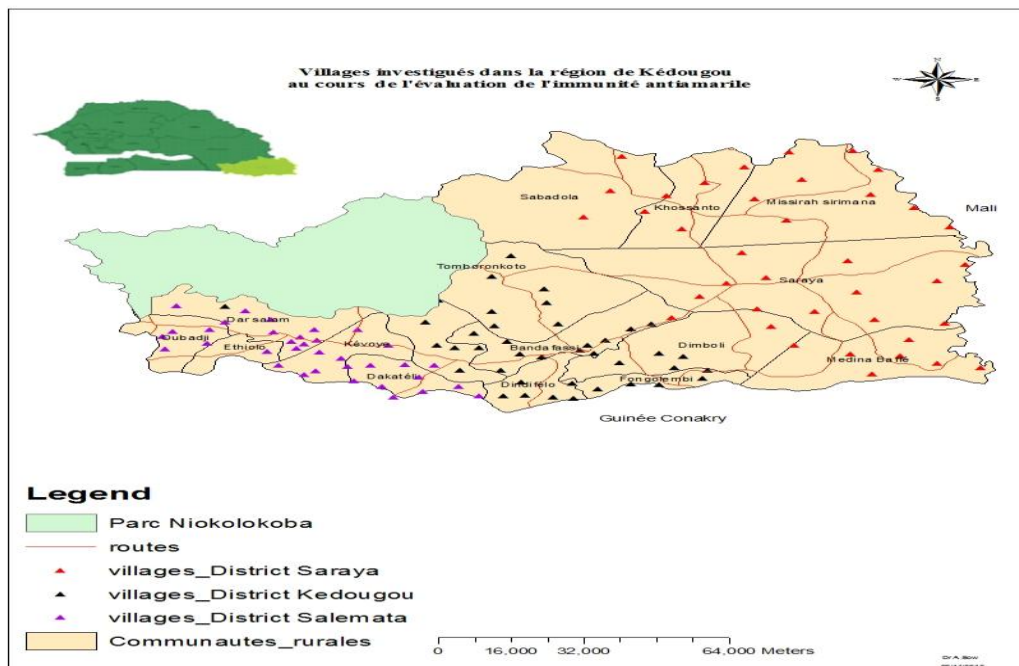


Figure 9: Villages investigués dans la Région de Kédougou en Janvier 2012

3.2 Type d'étude et critères d'inclusion

Il s'agit d'une étude transversale descriptive à visée analytique qui s'est déroulée du 3 au 12 janvier 2012 dont la population cible a été constituée par les personnes résidant ou séjournant dans les trois districts de la Région de Kédougou agée de plus de 9 mois au moment de l'enquête.

4. MATERIELS ET METHODES

4.1 Protocole d'échantillonnage

La méthode de sondage en grappe à deux degrés a été utilisée. La base de sondage est celle du Troisième Recensement Général de la population et de l'Habitat réalisé au Sénégal en 2002. Le premier degré de tirage a été le choix des grappes, quarante (40) grappes ont été tirées au sort pour chacun des trois (03) districts, selon la technique de l'effectif cumulé. Le deuxième degré a été le tirage des concessions dans les grappes, la méthode des itinéraires a été appliquée. Dans chaque grappe (village ou quartier d'une ville) les enquêteurs se sont placés au centre de la grappe et ont tiré au sort une direction. Dans cette direction, ils ont numéroté toutes les concessions situées sur l'axe sélectionné et ont tiré au sort la première concession puis ils ont progressé de proche en proche jusqu'à l'obtention du nombre requis de sujets pour la grappe. Dans chaque concession toutes les unités statistiques remplissant les conditions d'inclusion ont été enquêtées.

4.2 Collecte des données

4.2.1 Données de l'interrogatoire

La collecte des données a été faite par entretien individuel à l'aide d'un formulaire de consentement et d'un questionnaire (voir Annexe)

Après obtention du consentement éclairé, deux types de données ont été collectées :

- Données sociodémographiques : Age, Sexe, Adresse, Ethnie etc.
- Données sur l'exposition au virus de la FJ (activités professionnelles en forêt)

4.2.2 Procédure de recueil des échantillons

Pour chaque sujet inclus, un échantillon de sang de 5 ml a été prélevé sur tube sec par voie intraveineuse au niveau du pli du coude par une infirmière expérimentée au domicile du patient. En cas de refus ou de difficulté technique, le prélèvement a été abandonné. Des numéros de terrain ont été affectés aux patients et étiquetés sur les échantillons collectés qui ont été ensuite conservés dans des glacières contenant des accumulateurs de glace et acheminés à froid à la station de terrain de l'Institut Pasteur à Kédougou.

4.3 Dosage Des Immunoglobulines

Les échantillons ont été centrifugés et les sérums obtenus ont été aliquotés dans des tubes nunc puis envoyés à l'Institut Pasteur de Dakar (IPD) dans de l'azote liquide. Les sérums obtenus ont été testés à l'IPD pour la recherche d'anticorps de type IgM et IgG dirigés contre le virus de virus Chikungunya par ELISA.

4.3.1 Détection des immunoglobulines de type IgG par ELISA

Mode opératoire

Etape 1. Sensibilisation des plaques (Coating) :

- Diluer l'ascite immune spécifique polyclonal anti CHIKV au 1/1000^e dans du tampon carbonate bi-carbonate PH 9,6.
- Distribuer 100ul dans chaque cupule de la microplaque et incuber à +4°C durant toute la nuit.

Etape 2. Dilution et dépôt des antigènes :

- Laver 3 fois avec du tampon de lavage PBS 1X à 0,05% de Tween20
- Tapoter sur du papier adsorbant
- Diluer l'antigène spécifique CHIKV ainsi que l'antigène Contrôle au 1/40^e chacune dans du PBS Tween-Lait à 1%.
- Distribuer ensuite 100ul de chaque solution dans les puits correspondants et incuber une heure à 37°C.

Etape 3. Dilution et dépôt des sérums et Contrôles :

- Laver 3 fois avec du tampon de lavage PBS 1X à 0,05% de Tween20
- Diluer les sérums et les controles positifs et négatifs au 1/100^e dans du PBS Tween Lait
- Distribuer 100ul de chaque dilution selon le schéma de plaque préétabli
- Incuber ensuite la plaque à 37°C

Etape 4. Dilution et dépôt du conjugué marqué à la peroxydase :

- Laver 3 fois avec du tampon de lavage PBS 1X à 0,05% de Tween20
- Diluer l'anticorps couplé à la peroxydase anti IgG Humaines au 1/12000^e dans du PBS Tween Lait
- Distribuer 100ul dans toutes les cupules de la microplaque.
- Incuber encore pendant une heure à 37°C

Etape 5. Ajout du substrat de révélation :

- Déposer dans chaque cupule 100ul de TMB, la partie enzymatique du conjugué va alors dégrader le substrat et libérer un produit coloré en bleu, l'intensité de la coloration dépend de la quantité d'IgG présente dans le sérum. Incuber 5 minutes à l'abri de la lumière.

Etape 6. Arrêt et Lecture de la plaque :

- Arrêter la réaction enzymatique en ajoutant 100ul d'acide Sulfurique dans chaque puits
- Ajouter 100ul/ cupule d'une solution d'acide sulfurique (H₂SO₄) 4N, pour arrêter la réaction, une coloration jaune se développe alors.

La différence d'intensité de coloration obtenue pour un sérum donné entre les cupules de l'antigène spécifique et celle de l'antigène contrôle appelée densité optique (ΔDO), celle-ci est alors mesurée au spectrophotomètre à 450nm et à 620nm.

Ensuite interpréter les résultats en fonction des critères suivants :

- $\Delta DO \geq 0,2$; IgG+
- $\Delta DO < 0,2$; IgG-

4.3.2 Détection des immunoglobulines de type IgM par Mac-Elisa

Mode Opérateur

Etape 1. Sensibilisation de la plaque :

Diluer l'anti-IgM humain au 1/500 ou 1/1000 dans du tampon carbonate-bicarbonate pH 9,6 : soit 10 µl ou 5 µl d'anti-IgM humain respectivement dans 5000 µl (5 ml) de tampon ; passer au vortex ou agiter et sensibiliser la plaque en déposant 100 µl dans les cupules. Couvrir la plaque (film adhésif ou couvercle) et incuber toute la nuit à +4 °C.

Etape 2. Ajout des sérums :

Laver 3 fois la plaque avec du tampon de lavage en remplissant à chaque fois les cupules à ras bord (soit environ 350 µl) et en vidant avant chaque lavage le contenu des cupules dans le bac de vidange. Tapoter la plaque sur du papier absorbant pour éliminer le liquide résiduel

- Diluer les sérums à tester, les sérums de contrôle positif et négatif au 1/100 soit 10 µl de sérum dans 990 µl de tampon de dilution puis déposer les sérums (une ligne pour un sérum donné) à raison de 100 µl/cupule
- Couvrir la plaque (film adhésif ou papier aluminium ou couvercle)
- Incuber à +37 °C pendant 1 h

Etape 3. Ajout des antigènes :

- Laver 3 fois la plaque avec du tampon de lavage comme indiqué
- Diluer les antigènes selon les titres respectifs obtenus(1/40 pour CHIK et le CN)
- Déposer 100 µl/cupule des antigènes spécifiques dilués dans les colonnes impaires (une colonne pour un antigène donné) et 100 µl/cupule d'antigène négatif dilué dans les colonnes paires puis Couvrir la plaque (film adhésif ou papier aluminium ou couvercle)
- Incuber à +37 °C pendant 1 h

Etape 4. Ajout des ascites immunes :

- Laver 3 fois la plaque avec du tampon de lavage

- Diluer l'IA Chik au 1/1000^e puis mettre 100 µl/cupule de l'ascite diluée dans la colonne de l'antigène correspondant et celle de l'antigène négatif suivante, couvrir la plaque (film adhésif ou papier aluminium ou couvercle)
- Incuber à +37 °C pendant 1 h

Etape 5. Ajout du conjugué :

- Laver 3 fois la plaque avec du tampon de lavage
- Diluer le conjugué anti-IgG de souris marqué à la peroxydase à la concentration indiquée (1/20000) puis mettre 100 µl de conjugué dilué dans chaque cupule
- Couvrir la plaque (film adhésif ou papier aluminium ou couvercle) et incuber 1h à 37°C

Etape 6. Ajout du substrat de révélation :

- On ajoute le substrat de révélation (TMB : TetraméthylBenzidine). Déposer dans chaque cupule 100ul de TMB, la partie enzymatique du conjugué va alors dégrader le substrat et libérer un produit coloré en bleu, l'intensité de la coloration dépend de la quantité d'IgG présente dans le sérum. Incuber 5 minutes à l'abri de la lumière.

Etape 7. Arrêt et Lecture de la plaque :

- Ajouter 100ul/ cupule d'une solution d'acide sulfurique (H₂SO₄) 4N, pour arrêter la réaction. Une coloration jaune se développe alors. La différence d'intensité de coloration obtenue pour un sérum donné entre les cupules de l'antigène spécifique et celle de l'antigène contrôle appelée densité optique (ΔDO), celle-ci est alors mesurée au spectrophotomètre à 450nm et à 620nm.
- Ensuite interpréter les résultats en fonction des critères suivants :
- (ΔDO), $\geq 0,2$, IgM+
- (ΔDO), $<0,2$, IgM-

5. ANALYSE DES DONNEES

Le logiciel R a été utilisé pour l'analyse descriptive et analytique. La description des variables qualitatives a été réalisée avec la fréquence et l'intervalle de confiance à 95% et celle des variables quantitatives par la moyenne, son intervalle de confiance et l'écart-type. Le test de X^2 a été utilisé pour comparaison des proportions entre les variables. Une régression logistique a été utilisée pour étudier l'association entre la séropositivité au Chikungunya et les facteurs sociodémographiques de la population. La méthode du modèle emboité pas à pas descendant a été utilisée pour choisir le modèle final et le test de Hosmer et Lemeshow pour comparer les modèles.

RESULTATS ET DISCUSSION

6. RESULTATS

6.1 Analyse descriptive de la population

Au cours de l'enquête 1029 sujets ont été inclus dans la région de Kédougou dont 347 (33,72%) dans le district de Kédougou, 349 (33,91%) à Salémata et 333 (32,31%) dans le district de Saraya. L'âge médian était de 20 ans [1-99 ans] et le sexe ratio (H/F) était de 1,29.

Les enfants âgés de [6-15ans] avec 37,9% (390/1029) et les jeunes adultes [16-30ans] avec 24,19%(249/1029) ont été les plus représentés dans notre échantillon tandis que la tranche d'âge des moins de cinq ans [1-5ans] a été la moins représentée avec 3,01% (31/1029)(Cf figure 10)

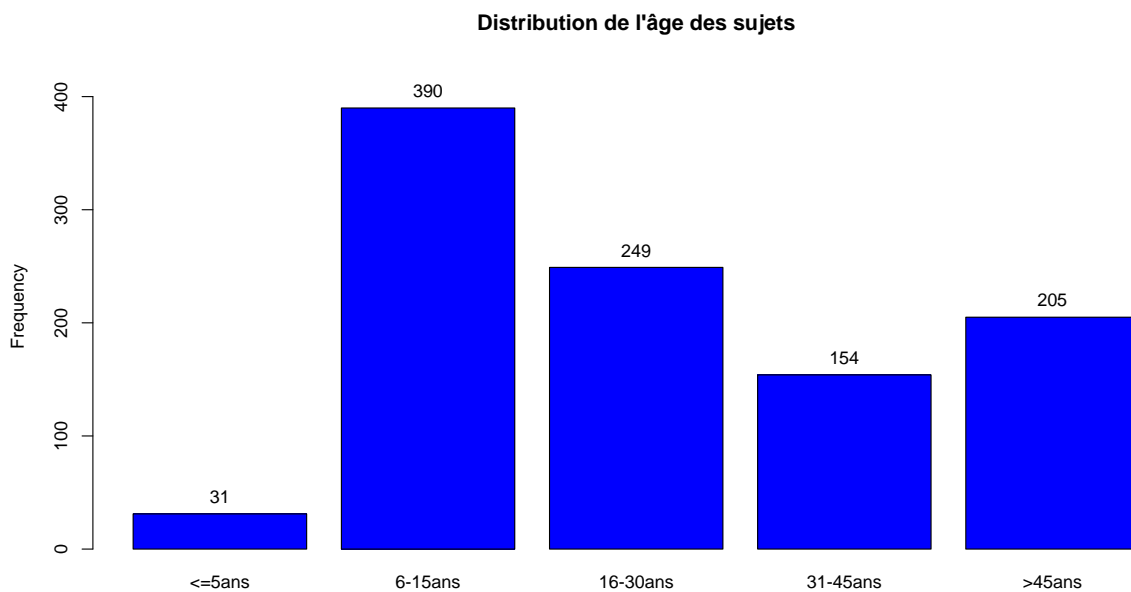


Figure 10 : Distribution de l'âge des sujets inclus dans l'étude

La population de notre étude a été essentiellement rurale (86,6%). La population urbaine était de 31,4% (109/347), 5,7% (20/349) et 2,7% (9/333) respectivement dans les districts de Kédougou, Salémata et Saraya (Cf figure 11)

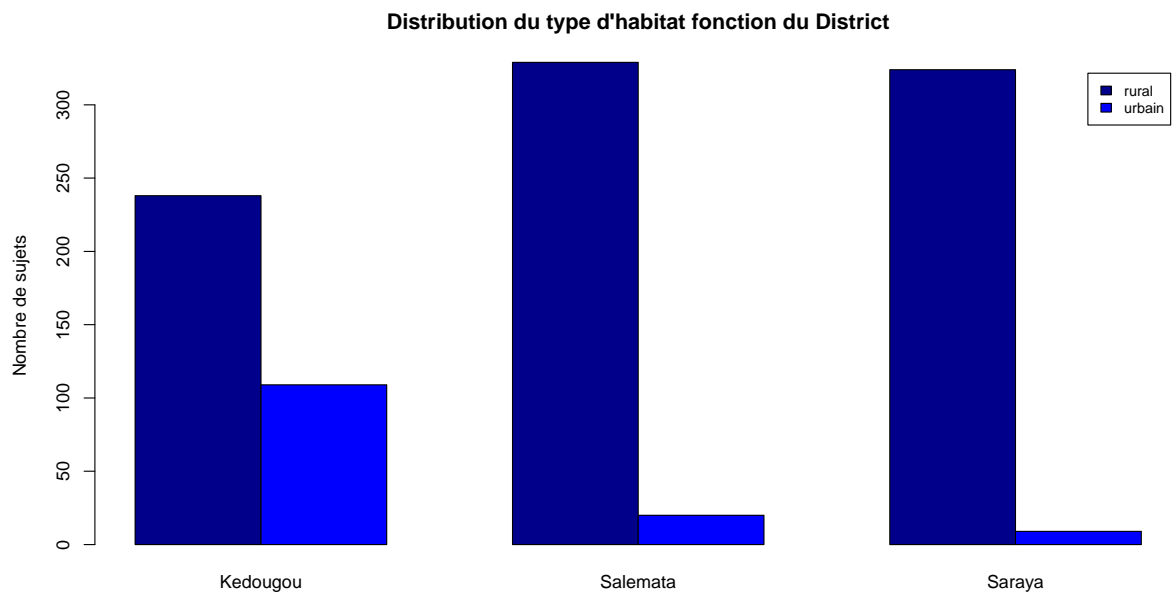


Figure 11 : Distribution du type d'habitat en fonction du District

Les Peulhs (38,38%) ont été les plus représentés et localisés essentiellement dans les districts de Kédougou (66%) et de Salémata (48%) tandis que les Bassari (17,3%) étaient essentiellement localisés dans le district de Salémata (49%). Par contre les Malinké (31,7%) et les Dialonké (2,6%) étaient majoritairement originaires du district de Saraya. Concernant les catégories socioprofessionnelles, les élèves ont été les plus représentés avec 41,7% suivis des ménagères et les personnes ayant une activité en forêt avec respectivement 23,5% et 23,8% (Cf tableau1)

Tableau 1 : Caractéristiques sociodémographiques de la population étudiée :

| | Kédougou (N=347) | Saraya (N=333) | Salémata (N=349) |
|-----------------------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
| Tranche d'âge | | | |
| ≤5 ans | 1(0,28%) | 11(3%) | 19(5,44%) |
| 6-15ans | 126(36,3%) | 145(43,5%) | 119(34,09%) |
| 16-30ans | 93(26,8%) | 66(19,81%) | 90(25,7%) |
| 31-45 ans | 41(11,8%) | 48(14,4%) | 65(18,6%) |
| >45ans | 86(24,78%) | 63(18,91%) | 56(16,04%) |
| Sexe | | | |
| Masculin | 192(55,33%) | 207(62,1%) | 181(51,8%) |
| Ethnie | | | |
| Peulh | 230(66,28%) | 0% | 169(48,4%) |
| Bassari | 10(2,9%) | 0% | 168(48,1%) |
| Bedik | 18(5,2%) | 0% | 10(2,9%) |
| Diakhanke | 17(4,9%) | 54(16,2%) | 1(0,3%) |
| Malinke | 72(20,7%) | 250(75,1%) | 1(0,3%) |
| Dialonke | 0% | 29(8,7%) | 0% |
| Activités professionnelles | | | |
| élève | 152(43,8%) | 140(42,04%) | 129(36,96%) |
| ménagère | 88(25,36%) | 53(15,91%) | 102(29,22%) |
| sans profession | 3(0,86%) | 20(6%) | 20(5,73%) |
| activitesforestières | 66(19,02%) | 103(30,93%) | 80(22,92%) |
| activites non forestières | 38(10,95%) | 17(05%) | 18(5,15%) |
| habitat | | | |
| Urbain | 109(31,4%) | 9(2,7%) | 20(5,7%) |

6.2 Séroprévalence du Chikungunya dans la région de Kédougou

Aucun prélèvement n'a pu être trouvé positif en ELISA IgM pour l'ensemble de la région tous les cas positifs que nous avons pu obtenir sont de type IgG avec un taux de 54,13% [43,9-64,03].

6.2.1 Séroprévalence en fonction de l'Origine géographique

Le district de Saraya avec de 60,93% [50,63-70,37] a présenté significativement la plus forte séroprévalence du CHIKV que les districts de Kédougou et de Salémata avec des séroprévalences respectives de 45,82% [35,91-56,04] et de 55,87% [45,6-65,67] ($p=0.0002$).

Les populations des districts de Salémata et de Saraya étaient significativement plus exposés au CHIKV que celles du district de Kédougou avec respectivement des OR de 1,5 [1.10- 2.04] et de 1,84 [1,35-2,53].

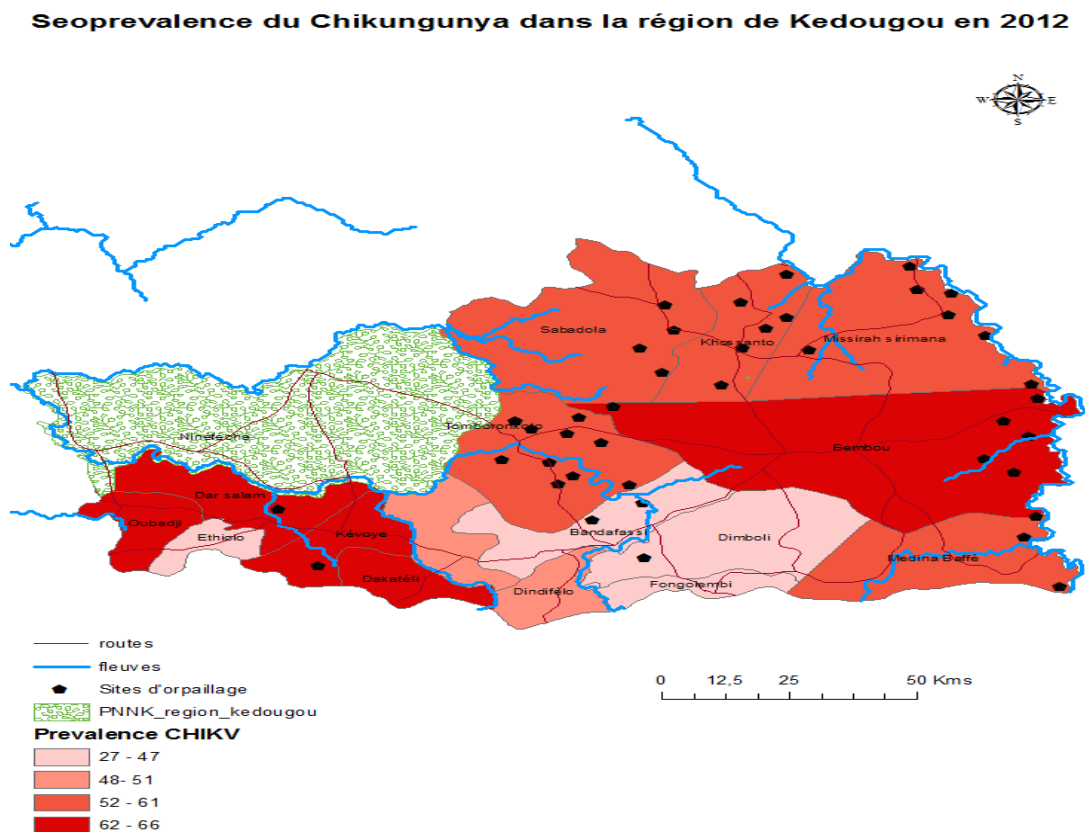


Figure 12: Carte de la répartition de la séroprévalence du CHIKV dans la région de Kédougou

Au niveau des communautés rurales, celles de Dakatély et de Dar Salam dans le district de Salemata ont présenté les plus fortes séroprévalences avec respectivement 64,70% [54,43-73,81] et 65,10% [54,84-74,17]. La plus faible séroprévalence a été retrouvée dans la commune de Kédougou avec 26,6% [18,40-36,43] (Tableau 2, Figure.11).

Tableau 2 : Séroprévalence en fonction du lieu de résidence

| CHIKV- IgG | | | | | |
|--------------------|-----------------|---------------|----------------|--------------------------------|------------------|
| | | n/N | Séroprévalence | IC 95% | p |
| District | Kédougou | 159/347 | 45,82% | [35,91-56,04] | 0.0003 |
| | Saraya | 203/333 | 60,96% | [50,66-70,40] | |
| | Salemata | 195/349 | 55,87% | [45,60-65,67] | |
| Communes/CR | Kédougou | 29/109 | 26,60% | [18,40-36,43] | 1.779e-06 |
| | Bandafassi | 76/137 | 55,50% | [45,24-65,32] | |
| | Dimboli | 09/19 | 47,40% | [37,41-57,58] | |
| | Fongolimbi | 13/29 | 44,80% | [34,95-55,04] | |
| | Tomborokoto | 32/53 | 60,40% | [50,10-69,89] | |
| | Saraya | 74/116 | 63,80% | [53,51-72,99] | |
| | Khossanto | 54/91 | 59,30% | [49,01-68,91] | |
| | Médina Baffé | 41/68 | 60,30% | [49,99-69,78] | |
| | MissiraSirimana | 34/58 | 58,60% | [48,32-68,24] | |
| | Salémata | 60/112 | 53,60% | [43,38-63,53] | |
| | Dakatély | 55/85 | 64,70% | [54,43-73,81] | |
| | Dar Salam | 28/43 | 65,10% | [54,84-74,17] | |
| | Ethiolo | 44/96 | 45,80% | [35,89-56,02] [51,20-70,90] | |

IC: Intervalle de confiance, CR : communauté rurale, N= nombre d'échantillons; n: nombre d'échantillons positifs.

6.2.2 Séroprévalence en fonction du type d'habitat

Le tableau 3 montre que la séroprévalence du CHIKV était significativement plus élevée en milieu rural 57,8% [47,51-67,48] qu'en milieu urbain 30,4% [21,80-40,52] (p=0,0001).

En effet la figure 15 montre que les populations urbaines étaient significativement moins exposées au CHIKV que les populations rurales avec un OR : 0,32[0,21-0,48]

Tableau 3 : Séroprévalence en fonction du type d'habitat

| Habitat | n/N | Prévalence | IC _{95%} | P |
|---------|---------|------------|-------------------|--------|
| Rural | 515/891 | 57,8% | [47,5-67,5] | 0,0001 |
| Urbain | 42/138 | 30,4% | [21,8-40,5] | |

6.2.3 Séroprévalence en fonction des caractéristiques sociodémographiques

Le tableau 4 montre que la séroprévalence la plus forte a été retrouvée chez les enfants de moins de 5 ans 58,06% [47,76-67,72] mais cette différence n'est pas statistiquement significative (p=0,9). De même La séroprévalence chez les hommes 52,93% [42,73-62,89] était statistiquement semblable que celle retrouvée chez les femmes 55,67% [45,41-65,48] (p =0,311). Il n'y a aussi aucune différence significative des séroprévalences en fonction des catégories socioprofessionnelles ou de l'ethnie.

Tableau4 : Séroprévalence en fonction des caractéristiques sociodémographiques

| CHIKV IgG | | | | |
|---------------------------|------------|-----------------------|-------------------------|----------------|
| | n/N | Séroprévalence | IC_{95%} | p |
| Tranches d'âge | | | | |
| ≤5ans | 18/31 | 58,06% | [47,8-67,7] | 0,9496 |
| 6-15 ans | 216/390 | 55,38% | [45,1-65,2] | |
| 16-30 ans | 133/249 | 53,41% | [43,2-63,3] | |
| 31-45 ans | 81/154 | 52,59% | [42,4-62,6] | |
| >45ans | 109/205 | 53,17% | [42,9-63,2] | |
| Sexe | | | | |
| Masculin | 307/580 | 52,93% | [42,7-62,9] | 0.311 |
| Féminin | 250/449 | 55,67% | [45,4-65,5] | |
| Ethnie | | | | |
| Peulh | 195/399 | 48.9% | [38,8-59,0] | 0.07343 |
| Bassari | 99/178 | 55,60% | [45,3-65,4] | |
| Bédik | 14/28 | 50% | [40,4-59,6] | |
| Diakhanke | 44/72 | 61.1% | [50,8-70,5] | |
| Malinké | 185/323 | 57.3% | [47,0-67,0] | |
| Dialonké | 20/29 | 69% | [58,8-77,7] | |
| Activités | | | | |
| professionnelles | | | | |
| Sans profession | 28/43 | 65,11% | [54,8-74,2] | 0.4732 |
| Elève | 221/421 | 52,49% | [42,3-62,5] | |
| Menagere | 137/243 | 56,37% | [46,1-66,1] | |
| Activites forestières | 130/249 | 52,20% | [42,0-62,2] | |
| Activites non forestières | 41/73 | 56,16% | [45,8-65,9] | |

6.2.4 Analyse des facteurs de risque d'exposition au virus du chikungunya

Le tableau 5 montre qu'après ajustement sur le sexe et l'âge les populations rurales et celles résidant dans le district de Saraya avaient significativement plus de risque d'être exposés au CHIKV que celles urbaines et les habitants du district de Kédougou avec respectivement

OR = 2,77[1,84-4,22] et OR = 1,42[1,02-1,96].

Tableau 5 : Facteurs de risque associés à l'exposition au Chikungunya

| | ANALYSES BIVARIEES | | | ANALYSES MULTIVARIEES | | |
|--------------------------------|--------------------|-------------|--------|-----------------------|-------------|---------------|
| | OR | IC | P | OR | IC | p |
| District (Ref=Kedougou) | | | | | | |
| Salémata | 1.49 | [1.11-2.02] | 0.0081 | 1.16 | [0.85-1.59] | 0.34 |
| Saraya | 1.85 | [1.36-2.50] | 0.0001 | 1.42 | [1.02-1.96] | 0.03 |
| Type d'habitat | | | | | | |
| (Ref: Urbain) | | | | | | |
| Rural | 3.13 | [2.14-4.64] | 0,0001 | 2.77 | [1.84-4.21] | 0.0001 |
| Sexe | | | | | | |
| (Ref: Féminin) | | | | | | |
| Masculin | 0.89 | [0.69-1.14] | 0.3803 | 0.85 | [0.66-1.09] | 0.20 |

7. DISCUSSION

Notre étude a montré une séroprévalence élevée (54,13%) du CHIKV dans la région de Kedougou. Cette forte prévalence du CHIKV au niveau de la population pourrait s'expliquer par le fait que l'étude s'est déroulée 2 ans après une épidémie de Chikungunya dans la région de Kedougou en 2009-2010 durant laquelle les districts de Kedougou et de Saraya étaient plus touchés (9). Bien qu'aucune épidémie de CHIKV n'ait été déclarée dans le district de Salemata, la forte prévalence du CHIKV retrouvée dans ce district suggère une circulation du virus avec une faible expression clinique comme cela a été décrit dans les zones endémiques d'arboviroses où les populations autochtones acquièrent une immunité naturelle du fait de leurs multiples expositions aux arbovirus (45).

Cependant le fait qu'il n'y ait pas de différence significative en fonction de l'âge avec notamment une forte prévalence chez les enfants de moins de cinq ans (58,06%), montre que ces résultats étaient contraires à ceux décrits pour les arbovirus dans les zones d'endémie. En effet la séroprévalence de la Fièvre Jaune retrouvées en 2012 dans la région de Kédougou chez les enfants < 5 ans était significativement plus faible que dans les autres groupes (45).

Cependant cette forte exposition des enfants au CHIKV pourrait être dû au fait qu' *Aedes furcifer* le principal vecteur retrouvé infecté lors de l'épidémie de 2009 (9) a une grande préférence humaine pour leur repas de sang et tendance très souvent à venir piquer dans les habitations rurales non loin des galeries forestières qui constitue son habitat naturel.

De plus les enfants sont souvent amenés à fréquenter les zones agricoles en compagnie de leurs parents ce qui les expose aux piqûres des moustiques vecteurs de CHIK. Enfin une transmission durant la grossesse pourrait aussi expliquer cette forte prévalence chez les jeunes enfants comme trouvé lors de l'épidémie de la Réunion en 2006 (38).

Le fait que le district de Saraya présente la plus forte séroprévalence (60,96%) de notre étude pourrait être expliqué d'une part par le fait que 97% de notre échantillon dans ce district était constitué de populations rurales chez qui le risque d'être exposé au CHIKV était plus élevée que celles urbaines (OR=[3,13]); et au développement important de l'orpaillage traditionnel dans ce district. En effet l'orpaillage traditionnel en attirant des milliers de populations en milieu rural notamment très près des galeries forestières les expose davantage aux piqûres de vecteurs du CHIKV tel qu'*Ae.des furcifer*. De plus les modifications environnementales liées à l'activité de l'homme dans ces sites à forte concentration humaine favorisent le

développent des gîtes larvaires en milieu domestique comme cela a été décrit en 2011 lors de l'épidémie de FJ dans la région de Kédougou (45).

Par ailleurs le renforcement de la surveillance de syndromes fébriles aigus avec notamment la mise en place sur le terrain d'outils de diagnostic moléculaire (RT-PCR, RPA) a permis de détecter en Août 2015 une épidémie de Chikungunya dans la région de Kédougou dont la parfaite collaboration avec les services de Ministère de la Santé et de l'Action Sociale a permis de mettre en place des stratégies de prévention et de contrôle pour éviter la propagation de la maladie. Cependant une analyse phylogénétique permettrait de comparer les souches de 2015 à celles retrouvées dans la région de Kédougou notamment en 2009 pour comprendre s'il s'agit d'une réémergence à partir d'un foyer selvatiques, d'un nouveau variant ou d'une nouvelle introduction du CHIKV.

La principale limite de notre étude est la non disponibilité actuelle d'un test de séroneutralisation du CHIKV sur cellules au niveau de notre laboratoire pour confirmer le caractère neutralisant des anticorps retrouvés et d'écarter de potentielles réactions croisées avec d'autres virus tel que le virus O'Nyong N'yong qui présente des proximités génétiques avec CHIKV et qui appartient à la même famille des Alphavirus (41).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a montré une faible immunité (30%) des populations urbaines au CHIKV notamment dans la commune de Kédougou qui constitue la capitale régionale avec une séroprévalence de 26,6% [18,40-36,43]. Cette susceptibilité de la population urbaine au CHIKV associé à l'adaptation du vecteur épidémique du CHIKV *Aedes aegypti* en milieu domestique pourrait conduire à des épidémies de grande ampleur notamment lors de l'introduction d'un patient virémique à partir des foyers selvatiques comme les sites d'orpillage où l'exposition au CHIKV est plus accrue. Ceci montre toute la nécessité de renforcer la surveillance épidémiologique au niveau de la région afin de détecter précocement toute amplification du CHIKV pour prendre des mesures efficaces de contrôle de la maladie. Par conséquent il serait très intéressant d'étendre cette évaluation de risque aux autres arbovirus d'intérêt médical (Dengue, Fièvre de la vallée du Rift etc...) car il constitue un bon modèle prédictif pour les émergences d'épidémies d'arbovirus et permettrait d'anticiper et mettre en place des stratégies de prévention pour de potentielles menaces épidémiques dans le futur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

1. Staples, J. E., Breiman, R. F., & Powers, A. M. (2009). **Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease.** *Clinical Infectious Diseases*, 49(6), 942-948.
2. Robinson, M. C. (1955). **An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 49(1), 28-32.
3. Hapuarachchi, H. C., Bandara, K. B. A. T., Sumanadasa, S. D. M., Hapugoda, M. D., Lai, Y. L., Lee, K. S., ... & Abeyewickreme, W. (2010). **Re-emergence of Chikungunya virus in South-east Asia: virological evidence from Sri Lanka and Singapore.** *Journal of General Virology*, 91(4), 1067-1076.
4. Rezza, G., Nicoletti, L., Angelini, R., Romi, R., Finarelli, A. C., Panning, M., & Silvi, G. (2007). **Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region.** *The Lancet*, 370(9602), 1840-1846.
5. Grandadam, M., Caro, V., Plumet, S., Thiberge, J. M., Souarès, Y., Failloux, A. B., ... & Desprès, P. (2011). **Chikungunya virus, southeastern France.** *Emerging infectious diseases*, 17(5), 910-914.
6. Van Bortel, W., Dorleans, F., Rosine, J., Bateau, A., Rousset, D., Matheus, S., ... & Najioullah, F. (2014). **Chikungunya outbreak in the Caribbean region, December 2013 to March 2014, and the significance for Europe.** *Euro Surveill*, 19(13), 20759.
7. Brès, P., Camicas, J. L., CORNE, M., Robin, Y., & Taufflieb, R. (1969). **Considerations on the epidemiology of arboviruses in Senegal.** *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique*, 62(2), 253-9.
8. Thonnon, J., Spiegel, A., Diallo, M., Diallo, A., & Fontenille, D. (1999). **Epidémies à virus Chikungunya en 1996 et 1997 au Sénégal.** *Bull Soc Pathol Exot*, 92(2), 79-82.
9. Oumar FAYE, Mawlouth DIALLO, Ousmane FAYE, Katherine HANLEY, Michaela BUENEMANN, Diawo DIALLO, Rubing CHEN, Abdourahmane SOW, Cheikh DIAGNE, Yamar BA, Ibrahima DIA, Douglas WATTS, Scott WEAVER & Amadou A SALL. **Chikungunya Outbreak in Kedougou, Southeastern Senegal in 2009 – 2010.** (2011). Institut Pasteur International Network – Meeting of the Young Resarchers, Institut Pasteur

10. Tidona, C., & Darai, G. (2011). *The Springer index of viruses*. Springer Science & Business Media.
11. World Health Organization **Chikungunya Aide-mémoire N°327** Mai 2015(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/fr/>) [consulté le 08/06/2015]
12. Kuno, G. (2015). **A re-examination of the history of etiologic confusion between dengue and chikungunya**. *PLoS Negl Trop Dis*, 9(11), e0004101.
13. Gaüzere, B. A., Gérardin, P., Vandroux, D., & Aubry, P. (2012). **L'infection à virus chikungunya dans l'Océan Indien: leçons et perspectives**. *Médecine tropicale*, 72, 6-12.
14. Laras, K., Sukri, N. C., Larasati, R. P., Bangs, M. J., Kosim, R., Wandra, T., ... & Sedyaningsih, E. R. (2005). **Tracking the re-emergence of epidemic chikungunya virus in Indonesia**. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(2), 128-141.
15. Pulmanusahakul, R., Roytrakul, S., Auewarakul, P., & Smith, D. R. (2011). **Chikungunya in Southeast Asia: understanding the emergence and finding solutions**. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(10), e671-e676.
16. Gérardin, P., Barau, G., Michault, A., Bintner, M., Randrianaivo, H., Choker, G., ... & Le Roux, K. (2008). **Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Reunion**. *PLoS Med*, 5(3), e60.
17. Dwibedi, B., Sabat, J., Mahapatra, N., Kar, S. K., Kerketta, A. S., Hazra, R. K., ... & Beuria, M. K. (2011). **Rapid spread of chikungunya virus infection in Orissa: India**. *The Indian journal of medical research*, 133(3), 316.
18. Weaver, S. C. (2014). **Arrival of chikungunya virus in the new world: prospects for spread and impact on public health**. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(6), e2921.
19. Centre Collaborateur OMS pour la Recherche sur les Arbovirus(CRORA), **Base de données sur les caractéristiques d'arbovirus africains isolés par l'Institut Pasteur de Dakar** (<http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA>) [consulté le 07/04/2015]
20. Paupy, C., Kassa Kassa, F., Caron, M., Nkoghé, D., & Leroy, E. M. (2012). **A chikungunya outbreak associated with the vector *Aedes albopictus* in remote villages of Gabon**. *Vector-borne and zoonotic diseases*, 12(2), 167-169.
21. Digoutte JP & G Heme. (1982). **Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar**. CRORA, 64-81.

22. Thonnon, J., Spiegel, A., Diallo, M., Sylla, R., Fall, A., Mondo, M., & Fontenille, D. (1998). **Yellow fever outbreak in Kaffrine, Senegal, 1996: epidemiological and entomological findings.** *Tropical Medicine and International Health*, 3(11), 872-877.
23. Monlun, E., Zeller, H., Le Guenno, B., TRAORE-LAMIZANA, M., Hervy, J. P., Adam, F., ... & Digoutte, J. P. (1993). **Surveillance de la circulation des arbovirus d'intérêt médical dans la région du Sénégal oriental (1988-1991).** *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 86(1), 21-28.
24. Devaux, C. A. (2012). WJV. *World*, 1(1), 11-22.
25. Lwande, O. W., Obanda, V., Bucht, G., Mosomtai, G., Otieno, V., Ahlm, C., & Evander, M. (2015). **Global emergence of Alphaviruses that cause arthritis in humans.** *Infection ecology & epidemiology*, 5.
26. Thiboutot, M. M., Kannan, S., Kawalekar, O. U., Shedlock, D. J., Khan, A. S., Sarangan, G., ... & Muthumani, K. (2010). **Chikungunya: a potentially emerging epidemic?.** *PLoS Negl Trop Dis*, 4(4), e623.
27. van Duijl-Richter, M. K., Hoornweg, T. E., Rodenhuis-Zybert, I. A., & Smit, J. M. (2015). **Early Events in Chikungunya Virus Infection—From Virus CellBinding to Membrane Fusion.** *Viruses*, 7(7), 3647-3674.
28. Simizu, B., Yamamoto, K., Hashimoto, K., & Ogata, T. (1984). **Structural proteins of Chikungunya virus.** *Journal of virology*, 51(1), 254-258.
29. Solignat, M., Gay, B., Higgs, S., Briant, L., & Devaux, C. (2009). **Replication cycle of chikungunya: a re-emerging arbovirus.** *Virology*, 393(2), 183-197.
30. Tsetsarkin, K. A., Vanlandingham, D. L., McGee, C. E., & Higgs, S. (2007). **A single mutation in chikungunya virus affects vector specificity and epidemic potential.** *PLOS pathog*, 3(12), e201.
31. Coffey, L. L., Failloux, A. B., & Weaver, S. C. (2014). **Chikungunya virus–vector interactions.** *Viruses*, 6(11), 4628-4663.
32. Christofferson, R. C., Chisenhall, D. M., Wearing, H. J., & Mores, C. N. (2014). **Chikungunya viral fitness measures within the vector and subsequent transmission potential.** *PloS one*, 9(10), e110538.
33. Jeandel, P., Josse, R., & Durand, J. P. (2003). **[Exotic viral arthritis: role of alphavirus].** *Medecine tropicale: revue du Corps de sante colonial*, 64(1), 81-88.
34. Digoutte JP, JJ Salaun, Y Robin, P Brès, VJM Cagnard. (1980) **Les arboviroses mineurs en Afrique Centrale et Occidentale.** *Medecine Tropicale*, 40 (1), 523-533.

35. Mahendradas, P., Avadhani, K., & Shetty, R. (2013). **Chikungunya and the eye: a review.** *Journal of ophthalmic inflammation and infection*, 3(1), 1.
36. Hawman, D. W., Stoermer, K. A., Montgomery, S. A., Pal, P., Oko, L., Diamond, M. S., & Morrison, T. E. (2013). **Chronic joint disease caused by persistent Chikungunya virus infection is controlled by the adaptive immune response.** *Journal of virology*, 87(24), 13878-13888.
37. Lewthwaite, P., Vasanthapuram, R., Osborne, J. C., Begum, A., Plank, J. L., Shankar, M. V., ... & Solomon, T. (2009). **Chikungunya virus and central nervous system infections in children, India.** *Emerging infectious diseases*, 15(2), 329-331.
38. Sissoko, D., Moendandze, A., Malvy, D., Giry, C., Ezzedine, K., Solet, J. L., & Pierre, V. (2008). **Seroprevalence and risk factors of chikungunya virus infection in Mayotte, Indian Ocean, 2005-2006: a population-based survey.** *PloS one*, 3(8), e3066.
39. Schwartz, O., & Albert, M. L. (2010). **Biology and pathogenesis of chikungunya virus.** *Nature Reviews Microbiology*, 8(7), 491-500.
40. Grivard, P., Le Roux, K., Laurent, P., Fianu, A., Perrau, J., Gigan, J., ... & Michault, A. (2007). **Molecular and serological diagnosis of Chikungunya virus infection.** *Pathologie Biologie*, 55(10), 490-494.
41. Lanciotti, R. S., Ludwig, M. L., Rwaguma, E. B., Lutwama, J. J., Kram, T. M., Karabatsos, N., ... & Miller, B. R. (1998). **Emergence of epidemic O'nyong-nyong fever in Uganda after a 35-year absence: genetic characterization of the virus.** *Virology*, 252(1), 258-268.
42. Ravichandran, R., & Manian, M. (2008). **Ribavirin therapy for Chikungunya arthritis.** *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(02), 140-142.
43. Weaver, S. C., Osorio, J. E., Livengood, J. A., Chen, R., & Stinchcomb, D. T. (2012). **Chikungunya virus and prospects for a vaccine.** *Expert review of vaccines*, 11(9), 1087-1101.
44. Wang, E., Volkova, E., Adams, A. P., Forrester, N., Xiao, S. Y., Frolov, I., & Weaver, S. C. (2008). **Chimeric alphavirus vaccine candidates for chikungunya.** *Vaccine*, 26(39), 5030-5039.
45. Diallo, D., Sall, A. A., Diagne, C. T., Faye, O., Hanley, K. A., Buenemann, M., ... & Diallo, M. (2014). **Patterns of a sylvatic yellow fever virus amplification in southeastern Senegal, 2010.** *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 90(6), 1003-1013.

46. Monkam, N. F. (2011). **Property taxation in Senegal: legislation and practice.** *Journal of Property Tax Assessment & Administration*, 8(3), 41.

RÉSUMÉ

Etude de la séroprévalence du chikungunya dans la région de Kédougou, Sénégal oriental

Nom du candidat : Oumar NDIAYE

Nature du mémoire : Master II de microbiologie Fondamentale et appliquée

JURY

| | | |
|----------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Président : | Mr Cheikh Saad Bouh BOYE | Professeur |
| Membres : | Mme Amy Gassama SOW | Professeur |
| | Mme Coumba Touré KANE | Professeur |
| | Mr Makhtar CAMARA | Maître de conférences agrégé |
| Directeur de Mémoire : | Mr Amadou Alpha SALL | Pole de virologie-IPD |
| Co-directeurs de mémoire : | Mr Abdourahmane SOW | Pole de virologie-IPD |
| | Mr Oumar FAYE | Pole de virologie-IPD |

Au Sénégal, plusieurs épidémies de chikungunya ont été déclarées dans le Centre et l'Ouest du pays, mais dans le Sénégal Oriental, plus précisément dans la région de Kédougou, malgré plusieurs amplifications selvatiques, aucune épidémie n'avait été rapportée auparavant. C'est dans ce cadre que notre étude a été réalisée sur un échantillon de 1029 individus répartis également dans les 3 districts de la région. Il s'agit d'une étude transversale descriptive à visée analytique qui s'est déroulée en Janvier 2012. Quarante grappes ont été tirées dans chaque district puis la méthode des itinéraires a été appliquée pour le tirage des concessions. Dans chaque concession toutes les unités statistiques remplissant les conditions d'inclusion ont été enquêtées. Un questionnaire a été rempli et un échantillon de sang prélevé pour chaque sujet. Les anticorps de type IgM et IgG dirigés contre le virus CHIKV ont été testés par les techniques ELISA et ont permis de trouver une séroprévalence de 54,13% [43,9-64,03] dans l'ensemble de la région. L'étude a montré que les populations rurales et celles résidant dans le district de Saraya avaient significativement plus de risque d'être exposés au CHIKV que celles urbaines et les habitants du district de Kédougou avec respectivement $OR = 2,77[1,84-4,22]$ et $OR = 1,42[1,02-1,96]$. La commune de Kédougou a été retrouvée significativement la plus faible séroprévalence au CHIKV avec **26,60%** [18,40-36,43] ($p = 1.779e-06$). Ces résultats suggèrent que le risque épidémique est beaucoup plus important en milieu urbain notamment dans la commune de Kédougou d'où la nécessité de renforcer la surveillance épidémiologique pour une détection précoce de toute circulation du CHIKV et la mise en place de stratégies de contrôle efficaces.

Mots clés : CHIKV, orpaillage, migration, risque épidémique