




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

www.em-consulte.com



Article original

Rôle du virus Toscana dans les infections neuroméningées en Tunisie

Role of Toscana virus in meningo-encephalitis in Tunisia

O. Bahri^{a,*}, O. Fazaa^a, N. Ben Alaya-Bouaffif^b, M. Bouloy^c, H. Triki^a, A. Bouattour^d

^a Laboratoire de virologie clinique, Institut Pasteur, 13, place Pasteur, Le Belvédère, 1002 Tunis, Tunisie

^b Laboratoire d'épidémiologie médicale, Institut Pasteur, 13, place Pasteur, Le Belvédère, 1002 Tunis, Tunisie

^c Laboratoire de génétique moléculaire des bunyavirus, Institut Pasteur, 28, rue du Dr-Roux, 75724 Paris cedex 15, France

^d Laboratoire d'entomologie médicale, Institut Pasteur, 13, place Pasteur, Le Belvédère, 1002 Tunis, Tunisie

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Reçu le 11 janvier 2010

Accepté le 18 janvier 2010

Disponible sur Internet le xxx

Mots clés :

Virus Toscana

Phlebovirus

Épidémiologie

Infections neuroméningées

Tunisie

Keywords:

Toscana virus

Phlebovirus

Epidemiology

Neurological diseases

Tunisia

RÉSUMÉ

But de l'étude. – Rechercher les témoins de l'éventuelle présence du virus Toscana (TOSV) en Tunisie et étudier son implication dans les infections neuroméningées dans le pays.

Patients et méthodes. – Au total, 167 prélèvements de sérums et 178 LCR collectés chez 315 patients, hospitalisés pour méningite ou méningo-encéphalite virale, ont été investigués. Ces prélèvements ont été collectés durant la période allant de janvier 2003 à décembre 2009 et ont été préalablement testés négatifs vis-à-vis des entérovirus, virus Herpes Simplex de type 1 et virus West Nile. La recherche des IgM et IgG spécifiques du TOSV a été faite par Elisa indirecte.

Résultats. – Dix pour cent ($n = 31$) de ces prélèvements se sont révélés positifs en IgM anti-TOSV ; ces cas sont répartis de façon homogène sur toute la période étudiée. Une infection ancienne a été détectée dans 7 % des cas ($n = 22$). L'infection neuroméningée à TOSV est plus fréquente chez l'homme (20/11), en période estivo-automnale et en zone côtière.

Conclusion. – Il s'agit là d'une première étude rapportant la circulation du TOSV en Tunisie et son rôle non négligeable dans les infections neuroméningées. Ces résultats nous incitent à une surveillance régulière avec recherche systématique d'une infection à TOSV devant toute atteinte neurologique. Il serait même intéressant de généraliser la recherche du TOSV à d'autres tableaux cliniques où il a été également impliqué comme le syndrome fébrile aigu ou le syndrome grippal type « grippe d'été ».

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

ABSTRACT

Objectives. – To detect the presence of Toscana virus (TOSV) circulation in Tunisia and to study its role in viral meningo-encephalitis.

Patients and methods. – A total of 315 (167 sera and 178 cerebrospinal fluid [CSF]) samples was investigated. These samples are collected from Tunisian patients with neurological diseases during the period between January 2003 and December 2009. All samples were tested negative for enterovirus, Herpes Simplex virus and West Nile virus. Detection for IgM and IgG specific to TOSV was done by ELISA tests.

Results. – Specific IgM for TOSV were detected in 10 % of patients with neurological diseases (31 cases). These recent infections were distributed throughout the study period and predominated during summer and autumn. Patients were originated, in the majority from the coastal region. IgG were isolated in 22 cases (7 %) corresponding to previous infection.

Conclusion. – This is the first report of TOSV circulating in Tunisia and its frequent implication in neurological diseases. These results incited to include TOSV as one of the viral etiologies to target in the diagnosis of viral meningitis and encephalitis in the country.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Isolé pour la première fois en 1971 au centre de l'Italie, le virus Toscana (TOSV) est un arbovirus appartenant à la famille des

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : olfa.bahri@pasteur.ms.tn (O. Bahri).

Bunyaviridae et au genre *Phlebovirus*. C'est un virus transmis par les phlébotomes, essentiellement *Phlebotomus perniciosus* [1]. Ce virus est largement endémique au niveau du pourtour du bassin méditerranéen avec des séroprévalences très variables selon les pays allant de 13 % en France jusqu'à 80 % en Italie [2-5]. TOSV a été associé à plusieurs tableaux cliniques pouvant se manifester uniquement par un bref syndrome fébrile non spécifique, un syndrome grippal spontanément résolutif ou encore un tableau de méningite ou de méningo-encéphalite nécessitant parfois une hospitalisation [3]. En effet, TOSV est l'un des agents viraux les plus fréquemment incriminés dans les infections neuroméningées chez l'homme [6,7].

En Tunisie, le diagnostic des infections neuroméningées d'origine virale a été introduit en routine au laboratoire de virologie clinique de l'institut Pasteur de Tunis depuis le début des années 2000. Il cible uniquement trois virus recherchés systématiquement devant tout tableau neurologique : le entérovirus, le virus Herpes Simplex de type 1 et le virus West Nile. Cependant, plusieurs cas d'infections neuroméningées d'origine virale restent d'étiologie non étiquetée. Malgré l'abondance du vecteur du TOSV dans le pays et la circulation large du TOSV dans la région, aucune donnée n'est disponible concernant la présence ou pas de ce virus et de son implication en pathologie humaine. L'objectif de ce travail est d'étudier la présence du TOSV dans le pays et de déterminer son rôle dans les infections neuroméningées.

2. Matériels et méthodes

2.1. Population étudiée

Au total, 167 prélèvements de sérums et 178 LCR ont été investigués ; ils ont été collectés chez 315 patients hospitalisés, de janvier 2003 à octobre 2009. Il s'agit de 121 femmes et 194 hommes appartenant à différentes tranches d'âge avec des extrêmes allant de dix jours à 78 ans ; l'âge moyen de ces patients est de 37 ans. Ces patients sont originaires de différentes régions de la Tunisie, principalement Monastir, Sousse, Sfax et Tunis. La répartition des cas selon l'origine et l'année est représentée dans le Tableau 1.

Ces patients ont été admis à l'hôpital pour méningite aseptique ou méningo-encéphalite. Trente d'entre eux ont bénéficié des deux types de prélèvements (sérums et LCR) ; pour les autres, un seul des deux prélèvements a été réalisé. L'étiologie virale a été suspectée après élimination de toute cause bactérienne et d'après les éléments suivants : aspect clair du LCR, formule cellulaire à prédominance lymphocytaire avec des taux normaux de glucose et d'albumine dans le LCR. La recherche systématique d'entérovirus, du virus Herpes Simplex et du virus West Nile s'était révélée négative.

2.2. Méthodologies utilisées

Une recherche des IgM et IgG spécifiques du TOSV a été faite par Elisa indirecte (tests immuno-enzymatiques). Chaque prélèvement est testé en parallèle vis-à-vis d'antigènes négatifs et positifs afin de détecter d'éventuelles réactions non spécifiques. Les anticorps sont captés par l'antigène viral (préparé sur cellules Vero infectées par la souche de référence ISS Ph1.3, laboratoire de génétique moléculaire de *Bunyaviridae*, IPP) fixé sur microplaque de type polysorb. La présence des anticorps est révélée par un conjugué type anti-IgG humaine couplée à la peroxidase (Sigma®) en cas d'IgG et anti- μ humaine marquée à la peroxidase (Sigma®) en cas d'IgM et son substrat, la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB,

Tableau 1

Répartition des cas investigués selon l'année et les régions.

Région	Année							Total
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	
Tunis	4	2	7	10	36	20	36	115
Sousse	7	-	4	2	6	6	6	31
Monastir	9	-	8	3	10	5	8	43
Mahdia	5	-	26	4	6	1	2	44
Sfax	13	-	9	1	1	1	1	26
Gabes	7	3	9	-	-	1	-	20
Djerba	-	6	8	-	-	-	-	15
Tataouine	-	8	-	-	-	-	-	8
Bizerte	-	-	1	-	1	-	-	2

Sigma®). L'interprétation des résultats est réalisée par le calcul de la différence des densités optiques (DO) obtenues avec l'antigène négatif et positif. Un échantillon est considéré positif si sa DO est supérieure ou égale à la moyenne des DO des témoins négatifs + trois fois l'écart-type.

Une analyse statistique a été faite pour l'interprétation des résultats obtenus par test χ^2 en utilisant le logiciel Epi info version 6.04. Une différence est considérée comme statistiquement significative si $p < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Prévalence globale des anticorps anti-TOSV dans les infections neuroméningées

Sur les 315 prélèvements testés, 53 se sont révélés positifs en IgG anti-TOSV (17 %). Ces anticorps ont été associés aux IgM dans 31 cas témoignant d'une infection récente, ce qui correspond à une proportion de 10 % de la totalité des infections neuroméningées investiguées. Il s'agit de trois LCR et de 28 prélèvements sanguins appartenant à 31 cas différents. Une présence isolée d'IgG a été retrouvée chez 22 cas (7 % du total des cas) ce qui est en faveur d'une infection ancienne pour ces cas.

3.2. Distribution des infections à TOSV en fonction du sexe et des années

Sur les 31 sujets présentant une infection récente à TOSV, 20 sont de sexe masculin et 11 de sexe féminin ce qui correspond à un sex-ratio de 1,8. La fréquence de cette infection est plus élevée chez l'homme que chez la femme mais sans différence significative ($p = 0,72$). Le Tableau 2 rapporte la répartition des cas positifs à IgM anti-TOSV selon l'année ; en moyenne, deux à six cas d'infection récente ont été observés par an.

Tableau 2

Répartition des cas positifs à virus Toscana (TOSV) selon l'année.

Année	Total testé	Infection récente (IgM+)	Infection ancienne (IgM-/IgG+)
2003	48	6	3
2004	21	-	1
2005	72	6	9
2006	23	2	-
2007	60	2	5
2008	37	3	4
2009	54	12	-
Total (%)	315	31 (10 %)	22 (7 %)

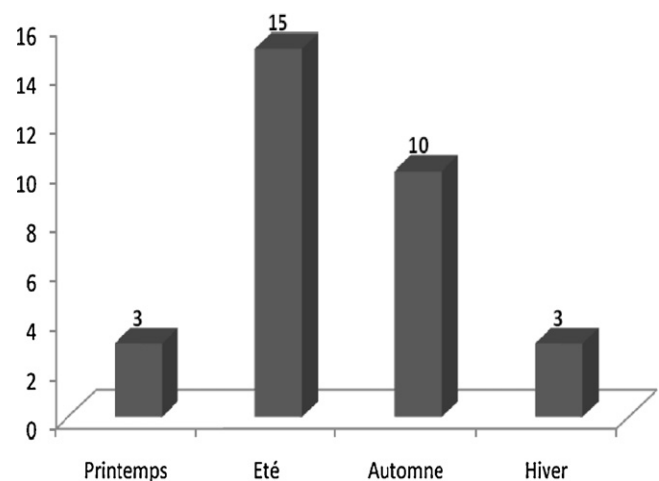


Fig. 1. Répartition des cas à IgM positifs selon la saison.

3.3. Distribution des infections à TOSV en fonction des saisons et de l'origine géographique

La Fig. 1 rapporte la répartition des cas positifs à IgM anti-TOSV selon la saison : une variation saisonnière est observée avec une fréquence plus élevée en été et en automne ($p = 0,04$). De même, les infections récentes à TOSV se répartissent de façon différente selon les régions : sur les 31 cas révélés positifs, 23 sont originaires de l'une des régions suivantes : Mahdia ($n = 3$), Monastir ($n = 13$), Sousse ($n = 3$), Sfax ($n = 5$), Gabès ($n = 1$) et Djerba ($n = 1$).

4. Discussion et conclusions

Ce travail rapporte pour la première fois l'implication du TOSV dans les infections neuroméningées en Afrique du Nord en général et en Tunisie en particulier. En effet, aucune information n'est disponible concernant la circulation de ce virus dans notre région ; une seule étude réalisée antérieurement avait permis d'isoler le virus une seule fois chez *Phlebotomus* sp. en Algérie [8]. Dix pour cent des cas de méningites et méningo-encéphalites virales que nous avons testés se sont révélés positifs en IgM anti-TOSV. Ces résultats sont concordants avec les données de la littérature aussi bien pour l'implication de TOSV dans les infections neuroméningées que pour la fréquence saisonnière de ces maladies. Des études antérieures réalisées dans certains pays ont estimé la fréquence des infections à TOSV à plus de deux tiers des atteintes neuroméningées d'étiologie virale. Cette proportion est beaucoup plus élevée dans les pays endémiques où ce virus a été impliqué dans plus de 80 % des infections neuroméningées [9]. Les infections à TOSV sont caractérisées par une fréquence plus élevée chez l'homme que chez la femme et par une prédominance estivale [3,10]. Cette variation saisonnière, avec fréquence estivo-automnale, est retrouvée dans notre étude. C'est ce qui a été également décrit antérieurement en Toscane (Italie) où les infections neuroméningées à TOSV se produisent principalement entre les mois de juin et de septembre avec un pic durant le mois d'août [11]. Cela concorde avec l'activité des phlébotomes vecteurs qui débute en juin et se termine en général en novembre [12].

Nos résultats montrent une fréquence plus élevée des infections neuroméningées à TOSV dans ces régions côtières du centre du pays. Cette circulation virale plus importante au niveau du Sahel tunisien serait favorisée par la situation géographique de cette région à climat méditerranéen favorable au développement de plusieurs espèces de phlébotomes notamment *P. perniciosus* qui est fréquent et abondant dans ces zones. De plus, dans ces régions où la densité de la population est la plus élevée de Tunisie, il y a plusieurs villes portuaires avec échanges importants entre les différents pays de part et d'autre de la Méditerranée, ce qui pourrait favoriser un contact plus fréquent avec les porteurs du virus. Elle serait également calquée sur la présence du vecteur viral plus abondant dans les zones côtières.

Enfin, selon cette étude, les cas positifs en IgM anti-TOSV se répartissent de façon homogène sur toute la période étudiée ce qui est plutôt en faveur de la circulation continue de TOSV dans notre pays et non pas de réintroductions occasionnelles comme le cas d'autres arbovirus, notamment le virus West Nile, responsable de deux épidémies localisées dans le temps (1997 et 2003) et dans l'espace (centre côtier du pays) [13,14]. Toutefois, cette circulation

continue devrait être confirmée par des études de séroprévalence dans la population générale, ciblant différentes tranches d'âge.

En conclusion, nos résultats nous incitent à une surveillance régulière avec recherche systématique d'une infection à TOSV devant toute atteinte neurologique non expliquée. Il serait même intéressant de généraliser la recherche du TOSV à d'autres tableaux cliniques où il a été également impliqué, comme le syndrome fébrile aigu ou le syndrome grippal type « grippe d'été » [15].

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

Remerciements

Les auteurs remercient tous les cliniciens, ayant contribué indirectement à ce travail, par l'envoi de prélèvements biologiques en vue d'une analyse virologique d'un cas de méningite ou de méningo-encéphalite.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche « Hépatites et maladies virales épidémiques ». Il rentre dans le cadre d'un projet de recherche financé par le réseau des Instituts Pasteur (ACIP-08), avec la contribution du ministère de l'Enseignement supérieur, de la recherche scientifique et de la technologie.

Références

- [1] Grandadam M. Surveillance et diagnostic des arboviroses en France métropolitaine. Rev Fr Lab 2007;396:75–84.
- [2] Valassina M, Cusi MG, Valensin PE. A Mediterranean arbovirus: The Toscana virus. J Neurovirol 2003;9:577–83.
- [3] Charrel RN, Gallian P, Navarro-Marí JM, Nicoletti L, Papa A, Sánchez-Seco MP, et al. Emergence of Toscana Virus in Europe. Emerg Infect Dis 2005;11(11):1657–63.
- [4] De Lamballerie X, Tolou H, Durand JP, Charrel RN. Prevalence of Toscana virus antibodies in volunteer blood donors and patients with central nervous system infections in southeastern France. Vector Borne Zoonotic Dis 2007;7(2):275–8.
- [5] Santos L, Simões J, Costa R, Martins S, Lecour H. Toscana virus meningitis in Portugal, 2002–2005. Euro Surveill 2007;12(3–6):E3–4.
- [6] Sánchez-Seco M, Navarro JM. Infections due to Toscana virus, West Nile virus, and other arboviruses of interest in Europe. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005;23:560–8.
- [7] Dionisio D, Valassina M, Ciufolini MG, Vivarelli A, Esperti F, Cusi MG, et al. Encephalitis without meningitis due to sandfly fever virus serotype Toscana. Clin Infect Dis 2001;32:1241–3.
- [8] Valassina M, Valentini M, Pugliese A, Valensin PE, Cusi MG. Serological survey of Toscana virus infections in a high-risk population in Italy. Clin Diagn Lab Immunol 2003;10(3):483–4.
- [9] Valassina M, Meacci F, Valensin PE, Cusi MG. Detection of neurotropic viruses circulating in Tuscany: The incisive role of Toscana virus. J Med Virol 2000;60:86–90.
- [10] Zehender G, Bernini F, Delogu M, Cusi MG, Rezza G, Galli M, et al. Bayesian skyline plot inference of the Toscana virus epidemic: A decline in the effective number of infections over the last 30 years. Infect Genet Evol 2009;9(4):562–6.
- [11] Valassina M, Cuppone AM, Bianchi S, Santini L, Cusi MG. Evidence of Toscana virus variants circulating in Tuscany, Italy, during the Summers of 1995 to 1997. J Clin Microbiol 1998;36(7):2103–4.
- [12] Crosset H, Rioux JA, Master M, Bayar N. Les phlébotomes de la Tunisie (Diptera, Phlebotominae). Mise au point systématique, chorologique et éthologique. Ann Parasitol Hum Comp 1978;53:711–49.
- [13] Triki H, Murri S, Le Guenno B, Bahri O, Hili K, Sidhom M, et al. Méningo-encéphalite à virus West Nile en Tunisie. Med Trop 2001;61(6):48–90.
- [14] Abroug F, Ouannes-Besbes L, Letaief M, Ben Romdhane F, Khairallah M, Triki H, et al. A cluster study of predictors of severe West Nile virus infection. Mayo Clin Proc 2006;81(1):12–6.
- [15] Verani P, Nicoletti L. Phlebovirus infections. In: Portefield B, editor. Exotic viral infection. London: Chapman & Hall; 1995. p. 309.