

Détection par RT-PCR des premiers cas d'*Astrovirus* dans les selles humaines à Abidjan, Côte d'Ivoire.

J.C. Bini (1), E. Ekaza (1), H. Faye-Kette (1), K.A. Veh (1), L. Nigue (2), M.Y. Borget-Alloue (3), A.V. Akran (1) & M. Dosso (1)

(1) Unité de microbiologie moléculaire, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI), BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire. Tél. : 00 225 07866081, e-mail : jcbini@yahoo.fr

(2) Département de biostatistique et informatique médicale, UFR des sciences médicales d'Abidjan, BPV 166 Abidjan, Côte d'Ivoire.

(3) Laboratoire RETROCI du CHU de Treichville, BP 1712 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

Manuscrit n° 3021. "Virologie". Reçu le 30 septembre 2006. Accepté le 12 décembre 2006.

Summary: Detection by RT-PCR of the 1st cases of *Astrovirus* in human stools in Abidjan, Côte d'Ivoire.

Viral gastroenteritis are a problem of public health because of the high rate of morbidity and mortality, particularly in children. Among the etiologic agents, human *Astroviruses* are the third agents most often incriminated after *Rotaviruses* and *Caliciviruses*. Symptoms of gastroenteritis caused by *Astroviruses* are generally moderated compared with those observed with *Rotaviruses* and rarely involve hospitalization. In sub-Saharan Africa, particularly in Côte d'Ivoire, the majority of viral gastroenteritis is attributed to *Rotavirus* with rates varying from 20 to 26%. No study on the circulation of human *Astroviruses* has been carried out in Côte d'Ivoire.

Our objective was to detect human *Astroviruses* in the diarrhoeal stools in Abidjan.

Seventy-two samples of human diarrhoeal stools were collected in ambulatory patients. This population was made up of 44 patients from 0 to 15 and 28 patients over 15 years old. The concentration of the viral particles of the samples was followed by the extraction of the RNA by the modified method of Boom. The extracted RNA were amplified by RT-PCR by using specific primers targeting a portion of the 3' end of the open reading frame ORF 1a of the genome of human *Astroviruses*. The amplified fragment was 192 pb. The genome of human *Astroviruses* was detected in 3 stools out of the 72 samples. That is a frequency of 4%. Among these 3 stools, 2 came from 4 month and 3 year-old children and the 3rd stool came from a 33 year-old patient.

For the first time this survey has pointed out the circulation of human *Astroviruses* in the Côte d'Ivoire population. This survey also showed that human *Astroviruses* could be found in children as well as in adults.

Résumé :

Les gastro-entérites virales constituent un problème de santé publique, du fait de la morbidité et de la mortalité élevées, surtout chez les enfants. Parmi les agents étiologiques, les *Astrovirus* sont les troisièmes agents le plus souvent incriminés après les *Rotavirus* et les *Calicivirus*. Aucune étude sur la circulation des *Astrovirus* humains n'a été menée en Côte d'Ivoire.

Soixante-douze échantillons de selles diarrhéiques provenant de patients ambulatoires ont été analysés selon la méthode de Boom, en vue de l'extraction des ARN. Les ARN extraits ont été amplifiés par RT-PCR en utilisant des amorces spécifiques ciblant une portion de l'extrémité 3' de la phase de lecture ouverte ORF 1a du génome des *Astrovirus*.

Le génome des *Astrovirus* a été retrouvé dans 4 % (3/72) des selles analysées.

Cette étude a permis pour la première fois de mettre en évidence la circulation des *Astrovirus* dans la population en Côte d'Ivoire.

Introduction

Les *Astrovirus* humains, troisième cause des gastroentérites virales après les *Rotavirus* et les *Calicivirus* (2) sont de plus en plus isolés chez les enfants, les adultes et les vieillards. Excrétés dans les selles d'individus infectés, les *Astrovirus* se transmettent selon le mode oro-fécal. Ils sont classés parmi les agents d'infections nosocomiales. L'incidence réelle des infections dues aux *Astrovirus* est difficile à évaluer, car les symptômes des gastroentérites qu'ils provoquent sont généralement modérés, par rapport à ceux observés avec les *Rotavirus* et entraînent rarement une hospitalisation. La prévalence des gastro-entérites infantiles dues aux *Astrovirus* dans le monde

varie de 2 à 9 % (2). En Afrique, les rares études menées sur les *Astrovirus* ont permis de noter des prévalences de 6,7 % au Nigeria, 2,7 % au Botswana et 2,5 % en Afrique du Sud. En Côte d'Ivoire, les gastroentérites infantiles constituent un problème de santé publique. La majorité des gastroentérites virales sont attribuées aux *Rotavirus*, avec des taux variant de 20 à 26 % (1). Aucune étude n'a été menée en vue de mettre en évidence la circulation des *Astrovirus* en tant qu'agents responsables des gastroentérites.

L'objectif de cette étude est de détecter par RT-PCR la présence du génome des *Astrovirus*, virus difficilement cultivable, dans des selles de la population abidjanaise.

**Astrovirus
RT-PCR
gastroenteritis
laboratory
hospital
Abidjan
Côte d'Ivoire
Sub Saharan Africa**

**Astrovirus
RT-PCR
gastro-entérites
laboratoire
hôpital
Abidjan
Côte d'Ivoire
Afrique intertropicale**

Matériel et méthodes

De décembre 2005 à juillet 2006, un total de 72 échantillons de selles humaines a été collecté chez des patients ambulatoires ayant une diarrhée et adressé à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour différentes analyses biologiques. Cette population était composée de 44 enfants, dont 22 patients âgés de 0 à 2 ans, 15 patients de 2 à 5 ans, 7 patients de 5 à 15 ans et 28 patients de plus de 15 ans. La détection des *Astrovirus* dans les selles a été réalisée par la technique de RT-PCR. La concentration des particules virales des échantillons a été suivie par l'extraction de l'ARN par la méthode de Boom modifiée (3). La réaction de transcription inverse a été réalisée à l'aide de l'amorce antisens A2 :5'-GTAAGATTCAGAT-TGGTGC-3' suivi d'une réaction d'amplification par PCR en utilisant en plus l'amorce sens A1 5'- CCTGCCCCGA-GAACACCAAGC-3'. Ces amorces permettent d'amplifier un fragment de 192 pb, correspondant à une portion de l'extrémité 3' de la phase de lecture ouverte ORF 1a du génome des *Astrovirus* (6). La révélation des produits d'amplification s'est faite par électrophorèse en gel d'agarose à 2 % contenant 0,5 µg/ml de bromure d'éthidium.

Analyse statistique

Les données ont été analysées sur micro-ordinateur grâce au logiciel Epi-Info 6.0. Le test de χ^2 et le test de Fisher exact ont été utilisés avec un seuil d'erreur α de 5 % ($\alpha = 0,05$).

Résultats

Les patients recrutés au cours de l'étude présentaient des symptômes variés, avec 57 % de cas de douleurs abdominales (41/72), 47 % de cas de fièvre (34/72) et 64 % de cas de vomissements (46/72). Les patients avaient une diarrhée isolée dans 8 % des cas (6/72) ou une diarrhée associée à d'autres symptômes dans 92 % des cas (66/72) (tableau I).

La majorité des patients était de sexe masculin, soit 58 % (42/72) avec un sex-ratio de 1,4. Le fragment de 192 pb (figure 1), portion du génome des *Astrovirus*, a été détecté dans 3 selles sur les 72 échantillons, soit une fréquence de 4 %.

Parmi ces 3 selles, 2 provenaient des enfants âgés de 4 mois et 3 ans, et la 3^e provenait d'un patient de 33 ans.

Les patients dont les selles contenaient le génome des *Astrovirus* avaient un état fébrile. Deux de ces 3 patients vomissaient. Le taux de détection des *Astrovirus* était de 4 % (2/46) chez les patients qui avaient des vomissements, 9 % (3/34) chez les patients avec un état fébrile et 2 % (1/41) chez les patients qui

Tableau I.

Fréquence des *Astrovirus* par rapport aux signes cliniques.
Astroviruses frequency in comparison with clinical signs.

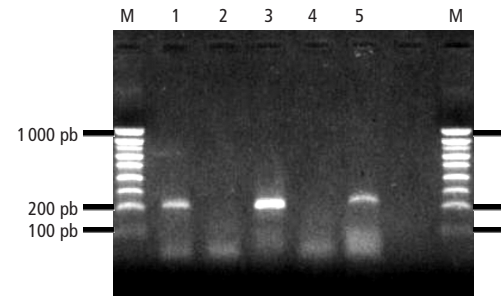
| symptômes | effectif | | Astrovirus | |
|--------------------------------------|-----------|----------------|------------|-----------|
| | nb | % | positif | négatif |
| diarr. isolées | 6 | (8 %) | 0 | 6 |
| diarr. + F° | 4 | (6 %) | 1 | 3 |
| diarr. +vomiss. | 8 | (11 %) | 0 | 8 |
| diarr. + doul. abdom | 8 | (11 %) | 0 | 8 |
| diarr. + F° + vomiss. | 13 | (18 %) | 1 | 12 |
| diarr. + F° + doul. abdom. | 8 | (11 %) | 0 | 8 |
| diarr. + vomiss. + doul. abdom. | 16 | (22 %) | 0 | 16 |
| diarr. + F° + vomiss. + doul. abdom. | 9 | (13 %) | 1 | 8 |
| total | 72 | (100 %) | 3 | 69 |

diarr = diarrhée, F° = fièvre
vomiss. = vomissements
doul. abdom. = douleurs abdominales

Figure 1.

Electrophorèse en gel d'agarose à 2 % des produits d'amplification par RT-PCR du gène ORF 1a des *Astrovirus* à partir des échantillons de selles analysées.

Electrophoresis in agarose's gel with 2% of the amplification products by RT-PCR of the *Astroviruses* gene ORF 1a from the analysed stools



piste M: marqueur de poids moléculaire Smart Ladder SF (Eurogentec)

piste 1 : prélèvement de selles d'un patient de 4 mois

piste 2 : prélèvement de selles d'un patient de 10 ans

piste 3 : prélèvement de selles d'un patient de 33 ans

piste 4 : témoin négatif

piste 5 : Prélèvement de selles d'un patient de 3 ans

se plaignaient de douleurs abdominales. Les 3 patients ayant une gastroentérite due aux *Astrovirus* étaient de sexe masculin, cependant les différences observées n'étaient pas statistiquement significatives.

Discussion

Les résultats obtenus au cours de cette étude sur les infections dues aux *Astrovirus* en Côte d'Ivoire révèlent une prévalence de détection du génome du virus de 4 %. Ce chiffre est en adéquation avec le taux de 5 % observé par GUIX *et al.* (5) en Espagne. De façon générale, cette prévalence de 4 % se situe dans les limites de la prévalence observée à travers le monde soit 2 à 9 % (2). Les différents symptômes de gastroentérite observés chez les porteurs du génome d'*Astrovirus* au cours de notre étude étaient associés dans 9 % des cas à de la fièvre et dans 4 % des cas à des vomissements, taux différents de ceux de 17,1 % de fièvre et 8,6 % de vomissements observés au Guatemala par CRUZ *et al.* (4). En ce qui concerne les douleurs abdominales, elles ont été observées seulement chez une personne dont les selles contenaient le génome d'*Astrovirus* (2 %). Le principal symptôme de l'infection due aux *Astrovirus* est la diarrhée, qui peut être souvent accompagnée de vomissements, de fièvres et de douleurs abdominales. Au cours de notre étude, le génome des *Astrovirus* a été détecté dans les selles des patients qui, en plus des diarrhées, avaient, soit de la fièvre, soit de la fièvre avec des vomissements, soit de la fièvre avec des vomissements et des douleurs abdominales. Néanmoins, certains auteurs n'excluent pas l'existence de porteurs sains.

Les porteurs sains sont des sources potentielles de contamination, par l'excrétion prolongée des virus dans les selles.

Aussi, le faible niveau de salubrité des pays en développement peut contribuer à l'entretien et à la dissémination de cette maladie. Au regard des fréquences des infections dues aux *Astrovirus*, par rapport aux signes cliniques retrouvés dans notre étude, ces signes ne sont pas liés à la présence du génome des *Astrovirus* dans les selles des patients. La répartition de la présence des *Astrovirus* par rapport aux tranches d'âge révèle que les deux tiers des patients avaient moins de 5 ans. Les enfants de moins de 5 ans sont, de façon générale, les plus exposés aux maladies diarrhéiques dans les pays en développement. L'exposition précoce de certains enfants aux microbes transmis par voie féco-orale peut conduire à

l'acquisition de certaines immunités virales. Dans le cas de l'infection due aux *Astrovirus*, il est rapporté que l'immunité anti-*Astrovirus* peut s'acquérir très tôt chez les enfants vivant dans les milieux défavorisés au plan de l'hygiène. En Afrique subsaharienne, particulièrement en Côte d'Ivoire, la faible utilisation des méthodes conventionnelles de diagnostic et le peu d'intérêt accordé à certains virus entériques font que les *Astrovirus* ne sont pas systématiquement recherchés dans les diarrhées infantiles.

Conclusion

Cette étude princeps a permis de détecter par RT-PCR la présence des *Astrovirus* montrant la circulation de ce virus en Côte d'Ivoire. Il s'avère donc très utile d'inclure l'étude des *Astrovirus* dans la recherche des étiologies virales des maladies diarrhéiques en Côte d'Ivoire. D'autres études en vue de la recherche d'autres virus entériques permettraient de déterminer les différents niveaux de circulation.

Références bibliographiques

1. AKOUA-KOFFI G, FAYE-KETTE H, KOUAKOU K, TIMITE-KONAN M, COULIBALY K & DOSSO M – Intérêt de l'utilisation d'un test au Latex (Rotalex) pour le dépistage de *Rotavirus* dans les selles diarrhéiques à Abidjan. *Méd Afr Noire*, 1993, **40**, 599-602.
2. BON F, FASCIA P, DAUVERGNE M, TENENBAUM D, PLANSON H et al. – Prevalence of group A *Rotavirus*, human *Calicivirus*, *Astrovirus* and *Adenovirus* type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. *J Clin Microbiol*, 1999, **37**, 3055-3058.
3. BOOM R, SOL CJA, SALIMANS MMM, JANSEN CL, WERTHEIM VAN DILLEN PME & VAN DER NOORDAA J – Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol*, 1990, **28**, 495-503.
4. CRUZ JR, BARTLETT AV, HERRMANN JE, CACERES P, BLACKLOW NR & CANO F – *Astrovirus* associated diarrhoea among Guatemalan ambulatory rural children. *J Clin Microbiol*, 1992, **30**, 1140-1144.
5. GUIX S, CABALLERO S, VILLENA C, BARTOLOME R, LATORRE C et al. – Molecular epidemiology of *Astrovirus* infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol*, 2002, **40**, 133-139.
6. WILLCOCKS MM, ASHTON N, KURTZ JB, CUBITT WD & CARTER MJ – Cell culture adaptation of *Astrovirus* involves a deletion. *J Virol*, 1994, **68**, 6057-6058.