

Les norovirus : une cause majeure des gastro-entérites

Delacour H¹, Dubrous P², Koeck JL²

1. Fédération de biologie clinique, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

2. Fédération de biologie clinique, Hôpital d'Instruction des Armées Robert Picqué, Villenave d'Ornon, France

Med Trop 2010 ; 70 : 111-118

RÉSUMÉ • Premiers virus provoquant des gastro-entérites à avoir été identifiés, les norovirus ont longtemps été considérés comme des agents secondaires de cette maladie, loin derrière les rotavirus. Le développement des techniques de biologie moléculaire a permis de clarifier leur importance épidémiologique. A l'origine de la quasi-totalité des épidémies de gastro-entérites non bactériennes, les norovirus sont également reconnus comme la première cause de gastro-entérites communautaires, tout âge confondu. Leur présence en zone tropicale a été démontrée. Si la maladie induite est généralement de gravité modérée, elle peut être plus sévère chez les jeunes enfants et les plus de 65 ans. Les études d'épidémiologie moléculaire ont mis en évidence la variabilité génétique de ces virus avec l'émergence régulière de variants. En l'absence de vaccin, la prévention des infections à norovirus repose sur l'application stricte des règles d'hygiène.

MOTS-CLÉS • Epidémiologie. Gastro-entérites. Norovirus.

NOROVIRUSES: LEADING CAUSE OF GASTROENTERITIS

ABSTRACT • Although noroviruses were the first viral agents to be linked to gastrointestinal disease, they were long considered a secondary cause far behind rotaviruses. Development of molecular-based diagnostic techniques has provided clearer insight into the epidemiological impact of noroviruses that are now recognized not only as the leading cause of non-bacterial gastroenteritis outbreaks but also as an important cause of sporadic gastroenteritis in both children and adults. Norovirus infection is generally characterized by mild acute vomiting and diarrhea usually lasting for only a few days, but it can lead to more severe and potentially life-threatening symptoms in high-risk groups such as young children, elderly, and immunodeficient persons. It has been demonstrated that they are present in tropical countries. Molecular epidemiological studies have documented the great genetic diversity of noroviruses with regular emergence of variants. Since no vaccine is available, prevention on norovirus infection depends mainly on strict personal and community hygiene measures.

KEY WORDS • Epidemiology. Gastroenteritis. Norovirus.

Les diarrhées aiguës infectieuses constituent un problème majeur de santé publique. Ces maladies sont responsables d'une importante morbi-mortalité, les pays en voie de développement payant le plus lourd tribut. Quelques chiffres sont éloquentes. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, leur incidence annuelle est estimée à 2 milliards de cas à l'origine de plus de 2 millions de décès (1). En France, les diarrhées aiguës motivent plus de 3 millions de consultations chaque année (2). Ces quelques données, reflets de l'importance médicale des diarrhées infectieuses, expliquent l'importance des recherches entreprises depuis plusieurs décennies afin d'identifier les agents responsables, de comprendre leur mécanisme pathogénique et de développer des stratégies de prévention efficaces.

Premiers virus provoquant des gastro-entérites à avoir été identifiés, les norovirus ont longtemps été considérés comme des agents secondaires de cette maladie, loin

derrière les rotavirus. Le développement des techniques de biologie moléculaire a permis de clarifier leur importance épidémiologique et de les reconnaître comme une cause majeure des gastro-entérites.

Historique

L'histoire des norovirus a débuté en octobre 1968 à Norwalk (Ohio, Etats-Unis d'Amérique), une épidémie de gastro-entérites survenant dans une école primaire de la ville. Plus de la moitié des élèves et des professeurs développèrent la maladie marquée essentiellement par des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales. L'épidémie s'étendit rapidement à leur entourage proche, près d'un tiers des familles présentant des cas tertiaires. Aucun agent bactérien ou parasitaire n'ayant été identifié, une étiologie virale fut suspectée sans toutefois être confirmée par la mise en évidence de l'agent infectieux. L'ingestion par des volontaires d'un ultra-filtrat de selles d'un patient impliqué dans l'épidémie confirma cette hypothèse, les volontaires développant la maladie. En 1972, l'examen par immuno-microscopie électronique de

leurs selles permis d'identifier le virus à l'origine de cette épidémie. Il fut nommé virus de Norwalk (*Norwalk virus*) en référence au lieu de survenue de l'épidémie (figure 1) (3).

Après cette découverte, d'autres virus présentant une morphologie identique en microscopie électronique mais différant sur le plan antigénique ont été identifiés. Désignés selon le lieu de leur isolement (Hawaï, Bristol, Snow Mountain), ils ont été regroupés sous le terme de « petits virus ronds structurés » (*small round structured viruses*) ou sous le sigle NLV (*Norwalk-like viruses*) en référence à leurs caractéristiques morphologiques.

Aspects virologiques fondamentaux

La description du génome du virus Norwalk en 1990 a permis d'abandonner la classification morphologique au profit d'une classification reposant sur des données génétiques. Tous ces virus appartiennent au genre Norovirus de la famille des Caliciviridae (4).

• Correspondance : familledelacour@gmail.com
• Article reçu le 19/01/2010, définitivement accepté le 5/03/2010

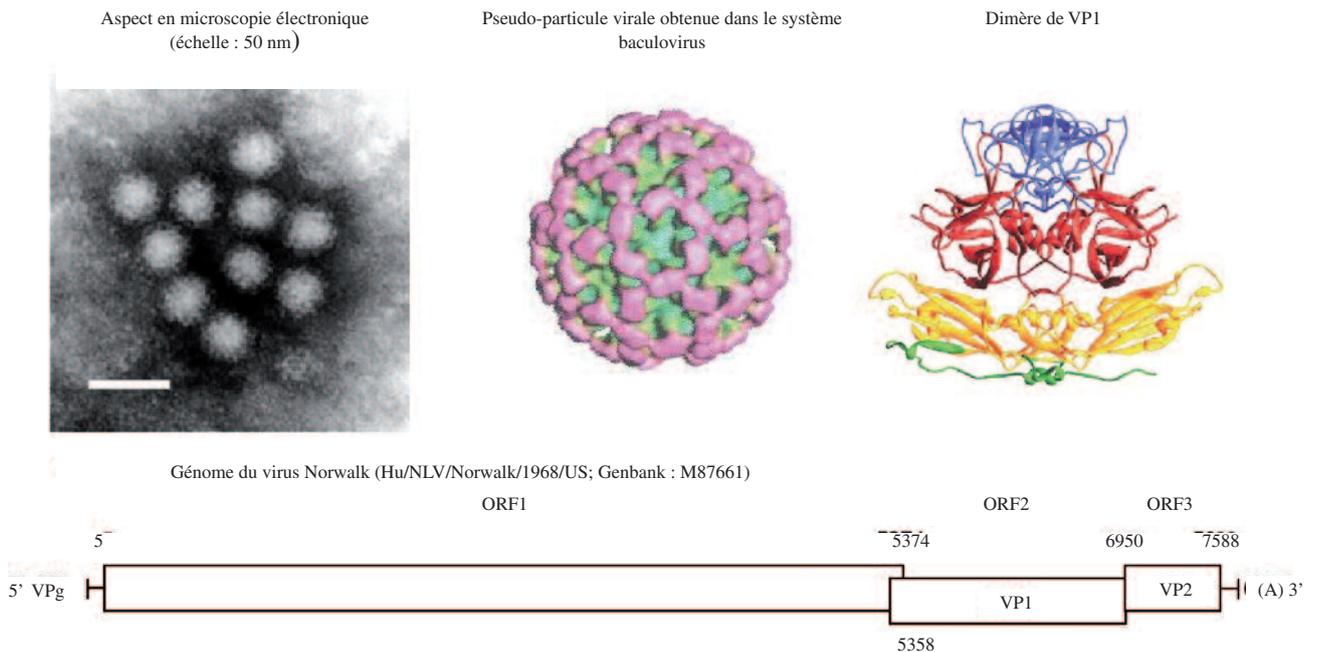


Figure 1. Morphologie et organisation génomique des norovirus. En microscopie électronique à coloration négative, les norovirus se présentent sous la forme de particules arrondies d'environ 30 nm de diamètre sans enveloppe, possédant à leur surface des dépressions. Leur capsid présente une symétrie icosaédrique (T=3) et est constituée de 180 copies regroupées en dimère de la protéine VP1 et de quelques copies de la protéine VP2 (partie supérieure). Le génome des norovirus est composé d'une molécule d'ARN monocaténaire de polarité positive polyadénylée comprenant environ 7 500 bases. Le génome est organisé en trois cadres ouverts de lecture (open reading frame, ORF) : l'ORF1 code une polyprotéine clivée par la suite en protéines non structurales, l'ORF2 code la protéine de capsid VP1 et l'ORF3 la protéine de capsid VP2. L'ORF2 est en décalage de phase de lecture par rapport à l'ORF1 et l'ORF3 (partie inférieure) (39).

Le génome des norovirus est composé d'une molécule d'ARN monocaténaire de polarité positive polyadénylée comprenant environ 7 500 bases. Le génome est organisé en trois cadres ouverts de lecture (open reading frame, ORF). Il comprend successivement une région 5' non codante, l'ORF1 codant une polyprotéine clivée par la suite en protéines non structurales, l'ORF2 codant la protéine de capsid VP1, l'ORF3 codant la protéine de capsid VP2 et enfin une extrémité 3' non codante (Fig. 1) (5).

Le genre Norovirus est sous-divisé en génogroupes eux-mêmes subdivisés en génotypes sur la base de la séquence en acides aminés de la protéine majeure de capsid VP1 des souches virales. Actuellement, 5 génogroupes sont identifiés, dont 3 contiennent des souches humaines : les génogroupes I, II, et IV. Selon Zheng *et al.*, ces trois génogroupes regroupent au moins 25 génotypes humains. Toutefois, cette classification est en constante évolution avec la description de nouvelles souches (6).

Deux mécanismes peuvent expliquer la diversité génétique des norovirus : l'accumulation d'erreurs lors de la réplication liée à l'absence d'activité correctrice de l'ARN polymérase et la survenue de recombinaison entre deux souches lors

d'une co-infection (7). Une région hautement conservée est retrouvée à la jonction ORF1- ORF2. Lors de la réplication virale, en cas de co-infection par deux souches différentes, l'ARN polymérase peut passer d'un génome d'une souche à l'autre au niveau de ce site de recombinaison. Le recombinant obtenu possède l'ORF1 d'une souche et l'ORF2 de l'autre. La recombinaison peut se produire entre deux souches d'un même génogroupe ou de deux génogroupes différents. Des souches recombinantes sont régulièrement rapportées dans la littérature suggérant que ce phénomène n'est pas rare (8).

Les études d'épidémiologie moléculaire montrent qu'une grande diversité de norovirus co-circulent au sein d'une population. Au cours de ces années, une nette prédominance du génotype II.4 a été rapportée avec l'apparition régulière (tous les 2 à 4 ans) de variants (9-10).

Cette grande variabilité des norovirus est associée à une très grande diversité antigénique permettant aux virus d'échapper à la réponse immunitaire précédemment acquise. Elle explique la fréquence des infections chez l'adulte et pose problème pour le développement d'un vaccin. Par ailleurs, elle représente un problème pour le diagnostic, tant pour les tech-

niques de biologie moléculaire que pour les méthodes immunologiques (voir infra).

Epidémiologie

Transmission

La transmission des norovirus se fait selon un mode féco-oral ou via les aérosols formés lors des vomissements. Elle est directe (transmission inter-humaine) ou indirecte (via les objets souillés, l'eau ou les aliments contaminés). Elle est facilitée par la grande résistance des norovirus. Ils conservent leur pouvoir infectieux après 3 heures à pH 2,7 ou 30 minutes à 60°C. Ils sont également résistants à la congélation et à des concentrations de chlore libre de 1 mg/L (11).

Toutes les formes d'aliments peuvent être impliquées : eaux de boissons ou de distribution, fruits et légumes consommés en l'état ou utilisés comme ingrédients dans un produit élaboré. Les aliments mis en cause sont généralement non ou très peu cuits. Cependant, les produits congelés peuvent également être vecteurs de ces virus, tout comme les aliments cuits et contaminés après cuisson (9).

Des études récentes ont décelé la présence de norovirus humains chez l'ani-

Tableau 1. Prévalences comparées des norovirus et des rotavirus dans les gastro-entérites communautaires.

Pays	Durée de l'étude (mois)	Population	Patients			Témoins			Références
			Nombre	Prévalence (%)		Nombre	Prévalence (%)		
				Norovirus ¹	Rotavirus ²		Norovirus	Rotavirus	
Gastro-entérites bénignes ou nécessitant une consultation de médecine générale									
Angleterre	12	Générale	2 422	36	31	2 205	16	14	(14)
France	12	Générale	161	19	17	45	0	2	(15)
Hollande	36	Générale	857	5	5,3	574	1,1	1,4	(16)
Tunisie	15	< 12 ans	380	9,5	13,2	- ³	-	-	(17)
Gastro-entérites nécessitant une consultation spécialisée ou une hospitalisation									
Albanie	12	< 12 ans	313	6,1	33,5	-	-	-	(18)
Tunisie	15	< 12 ans	252	19,4	22,6	-	-	-	(17)
France	26	< 13 ans	414	12,4	52,3	50	0	10	(19)
Inde	12	< 5 ans	158	15,8	36,9	99	7	6,9	(20)
Vietnam	12	< 12 ans	1 010	5,5	67,4	-	-	-	(21)

1. détection des norovirus effectuée à l'aide de techniques de biologie moléculaire

2. détection des rotavirus effectuée à l'aide de technique de biologie moléculaire ou immunologiques,

3. données non disponibles

mal, notamment les bovins et les porcins. Ces résultats laissent penser que le passage de ces virus entre l'Homme et les animaux n'est pas à exclure (12).

Importance épidémiologique

Gastro-entérites communautaires

Dans les pays développés, les norovirus constituent la première cause de gastro-entérites communautaires tout âge confondu, les pics des infections se situant entre 3 mois et 5 ans et après 65 ans. Dans les pays au climat tempéré, ces gastro-entérites communautaires sont rencontrées à bas bruit toute l'année avec un pic entre décembre et février, précédant celui des infections à rotavirus. En pédiatrie, la fréquence des norovirus est comparable à celle des rotavirus A dans les infections bénignes ou nécessitant une consultation en médecine générale. Toutefois, ils sont moins fréquemment impliqués dans les gastro-entérites nécessitant une consultation spécialisée ou une hospitalisation (tableau 1). En France, le nombre de consultations en médecine générale est estimé à plus de 500 000 annuellement tout âge confondu (22). Aux États-Unis d'Amérique, les norovirus seraient à l'origine de 23 millions de cas de gastro-entérites entraînant 50 000 hospitalisations et 310 décès chaque année. A titre de comparaison, les infections à rotavirus sont estimées, dans ce pays, à 3,9 millions de cas annuels avec 50 000 hospitalisations et 30 décès (23).

Dans les pays en voie de développement, les norovirus constituent également un problème de santé publique, provoquant plus d'un million d'épisodes de

gastro-entérites et plus de 200 000 décès chaque année (24).

Épidémies de gastro-entérites

Les premières études épidémiologiques suggéraient que les norovirus jouaient un rôle mineur dans les épidémies de gastro-entérites. Ainsi, le virus Norwalk n'était associé qu'à 1,5 % des épidémies de gastro-entérites d'origine alimentaire ayant fait l'objet d'une investigation entre 1973 et 1987 au CDC d'Atlanta (détection par microscopie électronique). L'introduction des tests immunologiques a fait passer à 42 % la proportion de gastro-entérites non bactériennes pouvant être attribuée aux norovirus (25). Actuellement, grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire, on estime que plus de 90 % des épidémies de gastro-entérites non bactériennes survenant dans les collectivités aux États-Unis d'Amérique sont dues aux norovirus (26). Des chiffres similaires sont rapportés en Europe (27).

De nombreuses épidémies surviennent dans les institutions accueillant des personnes âgées, les hôpitaux, les écoles et les crèches. Les camps de vacances, les bateaux de croisière, les hôtels et les restaurants mais aussi les armées ne sont pas épargnées (28-36).

Les données du réseau de surveillance du Royaume-Uni montrent deux profils épidémiologiques. Les épidémies rencontrées dans les hôpitaux ou les institutions médicalisées présentent un pic hivernal superposable à celui des cas sporadiques. Les autres épidémies ne présentent pas de saisonnalité particulière (37).

D'une manière générale, la consommation d'aliments ou d'eau conta-

minés est à l'origine des cas primaires, les cas secondaires résultant d'une transmission inter-humaine. Ce dernier mode de transmission est impliqué dans la majorité des cas. Les épidémies sont explosives avec un taux d'attaque (50 %) et de transmission secondaire (30 %) élevés et peuvent impliquer plusieurs centaines de personnes (38).

L'exemple suivant illustre le potentiel épidémique des norovirus. En novembre 2002, une épidémie de gastro-entérites à norovirus est observée sur un bateau de croisière (4 % des 2 300 passagers impliqués). L'épidémie se poursuivant au cours de la croisière suivante, une décontamination poussée du navire est entreprise pendant une semaine. Malgré cette décision, l'épidémie perdure au cours d'une nouvelle croisière (8 % des 2 456 voyageurs atteints). L'analyse de selles de sujets impliqués dans cette 3^e épidémie a permis de retrouver une souche de norovirus identique à celle ayant provoqué les deux premières, ainsi que deux autres souches de norovirus. L'enquête épidémiologique a clairement identifié l'implication de deux restaurants du navire dans le déclenchement des épidémies. Elle a également permis d'identifier un des voyageurs impliqués lors de la 1^{re} croisière comme le patient source d'une autre épidémie survenue dans sa maison de retraite (126 pensionnaires et 49 personnels impliqués). Cet exemple souligne (i) la grande résistance des norovirus dans l'environnement malgré la mise en œuvre de mesures de décontamination, (ii) le dynamisme de la circulation des norovirus permettant l'entrée régulière de nouvelles souches dans les collectivités et (iii) l'importance des aliments et de la restauration collective dans la genèse des épidémies (33).

Physiopathologie des infections

En l'absence de système de culture cellulaire, les connaissances sur la physiopathologie des infections à norovirus proviennent essentiellement d'observations effectuées chez des volontaires ou au cours d'épidémies de gastro-entérites.

Facteurs de susceptibilité

Les études réalisées chez des volontaires dans les années 1970 avec le virus Norwalk ont démontré que seule une fraction de la population était sensible à l'infection. Cette protection naturelle était indépendante de la présence d'anticorps : certains sujets avec des taux élevés étaient sensibles à l'infection, tandis que d'autres sans anticorps étaient résistants. L'identification des récepteurs cellulaires des norovirus a permis de résoudre ce paradoxe.

Les norovirus utilisent comme récepteurs les antigènes tissulaires des systèmes des groupes sanguins ABO présents à la surface des cellules digestives. Ces antigènes sont exprimés à la surface de la plupart des tissus épithéliaux humains ainsi que dans les sécrétions comme la salive ou le lait. Leur synthèse est sous la dépendance de glycosyltransférases agissant séquentiellement et permettant l'addition de monosaccharides sur un précurseur oligosaccharidique. La nature de l'antigène tissulaire exprimé à la surface de la cellule est fonction du polymorphisme combiné aux loci ABO et FUT2.

L'étude du phénotype sécréteur/non sécréteur des volontaires (c'est-à-dire la présence ou non de l'antigène H à la surface des cellules épithéliales) a révélé que les sujets sensibles à l'infection étaient de phénotype sécréteur (FUT2 +/+ ou +/-) alors que les sujets résistants étaient de phénotype non sécréteur (FUT2 -/-; ~20 % de la population européenne). L'influence du polymorphisme combiné à ces loci sur la sensibilité à l'infection a été étudiée, par la suite, pour d'autres souches de norovirus. Il apparaît que chaque souche de norovirus ne peut infecter qu'une partie (plus ou moins large) de la population. Cependant, du fait de la diversité des norovirus, toute personne, quel que soit son phénotype, est susceptible d'être infectée par au moins une souche de norovirus (39-41).

Physiopathologie

Les mécanismes exacts de virulence et d'induction de la maladie ne sont pas

encore identifiés. Les norovirus pénètrent dans l'organisme par voie digestive, leur résistance aux pH acides leur permettant de traverser l'estomac pour gagner l'intestin grêle, site présumé de leur réplication primaire. La dose infectieuse est estimée entre 10 et 100 particules virales selon les souches. Des biopsies intestinales réalisées chez des patients ayant présentés une gastro-entérite à virus Norwalk ont mis en évidence des lésions histologiques transitoires disparaissant après la maladie : raccourcissement des villosités au niveau de l'intestin grêle, infiltration des cellules digestives par des cellules mononucléées, présence de vacuoles intracytoplasmiques. Une malabsorption des graisses et du xylose ainsi qu'une diminution des enzymes de la bordure en brosse (phosphatase alcaline, théhalase) ont également été décrites. L'infection s'accompagne d'une diminution de la motilité gastrique à l'origine des nausées et des vomissements (42).

L'excrétion virale se fait par voie digestive basse (10^7 à 10^8 particules/g de selles). Elle débute pendant la phase pré-symptomatique et peut durer plus de trois semaines après disparition des signes cliniques. Les particules virales peuvent également être mises en évidence dans les vomissements des patients (43).

Immunité

Les mécanismes de la réponse immunitaire induite par l'infection à norovirus ne sont que partiellement connus.

Après infection, une protection homotypique à court terme est observée, les sujets étant insensibles à une nouvelle infection par la même souche pendant 6 à 14 semaines. Cependant, la réponse immunitaire n'induit ni une protection à long terme ni une protection hétérotypique. Cet élément permet d'expliquer la fréquence des infections à norovirus chez les adultes (9).

Aspects cliniques et thérapeutiques

Les manifestations cliniques des gastro-entérites à norovirus apparaissent après une phase d'incubation de 12 à 48 heures. La symptomatologie, généralement modérée, varie en fonction de l'âge. Chez l'enfant de moins de 2 ans, elle est marquée principalement par des vomissements, une diarrhée et de la fièvre. La fréquence et l'intensité des vomissements sont particulièrement caractéristiques, d'où le nom précédemment donné à ces infections de *winter vomiting disease*. Ces vomissements distinguent clairement ce type de gastro-entérites des autres infections entériques virales ou bactériennes. Chez l'adolescent et l'adulte, la diarrhée prédomine devant les nausées et les vomissements, la fièvre étant moins fréquente. Les selles sont aqueuses, non sanglantes et dépourvues de glaires. Très invalidante pendant la phase aiguë, la maladie est généralement d'évolution favorable avec un amendement des signes cli-

Tableau 2. Principales caractéristiques épidémiologiques et cliniques des infections à norovirus.

Caractéristiques épidémiologiques	
Population cible	Ensemble de la population. Pics des infections observés entre l'âge de 3 mois et 5 ans et après 65 ans.
Saisonnalité	Infections observées tout au long de l'année avec un pic entre décembre et janvier
Mode de transmission	Féco-oral ou via les gouttelettes formées lors des vomissements. Transmission directe ou indirecte (rôle essentiel des aliments et de l'eau contaminés)
Importance épidémiologique	1 ^{re} cause de gastro-entérites communautaires et des épidémies de gastro-entérites
Lieux de survenue des épidémies	Hôpitaux, maisons de retraite, restaurants, bateaux de croisière, casernes et collectivités militaires
Aspects cliniques	
Dose infectieuse	10 à 100 particules virales
Période d'incubation	12 – 48 H
Symptômes	Variables selon l'âge : - chez l'enfant : prédominance des vomissements et de la fièvre devant la diarrhée - chez l'adulte : prédominance de la diarrhée, la fièvre étant moins marquée
Sévérité de la maladie	Infection asymptomatique chez environ 30 % des sujets infectés Généralement modérée. Formes plus sévères observées aux âges extrêmes de la vie
Durée de la maladie	12 – 72 H
Traitement	Symptomatique (réhydratation)
Immunité	Immunité homotypique à court terme

niques en 12 à 72 heures (tableau 2). Lors d'une épidémie, ces signes cliniques associés à un fort taux d'attaque et à la négativité des examens bactériologiques et parasitologiques constituent les critères de Kaplan, considérés comme hautement indicatifs d'une épidémie à norovirus (25, 44).

Des formes cliniques plus sévères peuvent être observées principalement aux âges extrêmes de la vie. Elles sont liées à la sensibilité accrue à la déshydratation de ces catégories de patients. Ainsi, lors d'épidémies de gastro-entérites à norovirus en Angleterre entre 1992 et 2000, des taux de létalité de 7,5 pour 10 000 cas ont été rapportés. Ces décès, observés chez des sujets âgés et des patients fragilisés, sont liés généralement à un choc hypovolémique, principale complication de la déshydratation aiguë (37).

De plus, il est possible que chez des sujets en situation de stress intense, la gravité de la maladie soit majorée. Ainsi, une épidémie de sévérité inhabituelle a été rapportée chez des militaires britanniques en Afghanistan, trois soldats ayant présentés des signes inhabituels associant syndrome méningé et coagulation intravasculaire disséminée pour l'un d'entre eux (45).

Enfin des formes de diarrhées chroniques à norovirus ont été rapportées chez des immunodéprimés, en particulier chez des patients transplantés ou atteints d'un cancer (46-47).

La prise en charge thérapeutique est symptomatique et repose principalement sur la réhydratation. Les modalités de mise en œuvre de la réhydratation chez l'enfant, chez qui aucun épisode de gastro-entérite ne doit être banalisé, ont fait l'objet de plusieurs recommandations. Chez l'adulte, la réhydratation peut être complétée éventuellement par des traitements anti-spasmodiques et anti-pyrétiques (9, 48-50).

Diagnostic biologique

Prélèvements biologiques

La recherche des norovirus peut être effectuée sur deux matrices biologiques : les selles et les vomissures. Après recueil, les échantillons biologiques peuvent être conservés à +4°C pendant 1 à 2 jours. Pour des durées de conservation supérieures, une congélation à -20°C ou à -80°C est recommandée, les norovirus étant stables à ces températures pendant plusieurs mois. Cependant, le respect de ces conditions de conservation peut se révéler

difficile. Dans ces cas, la collecte et le transport des échantillons de selles sur papier buvard apparaissent comme une solution de choix. Les échantillons ainsi conservés sont stables pendant au moins 11 semaines à température ambiante et sont facilement analysables à l'aide des techniques de biologie moléculaire (51).

Techniques disponibles

Maladies aiguës de durée brève, les gastro-entérites à norovirus nécessitent une réponse diagnostique rapide. Dès lors, le diagnostic sérologique indirect n'a pas d'application, car outre les problèmes posés par la diversité antigénique des norovirus et par la fréquence des ré-infections, la démonstration d'une séroconversion sur une paire de sérums fournirait une réponse diagnostique bien trop tardive. Aussi, seules les techniques de diagnostic direct fondées sur la détection du virus ou de ses constituants sont mises en œuvre. Initialement utilisée, la microscopie électronique ne répond pas aux besoins actuels du diagnostic de routine.

• Détection des antigènes viraux

La recherche des antigènes viraux dans les selles à l'aide de techniques immunologiques (type ELISA ou test immunochromatographique) apparaissent comme des outils de choix pour le diagnostic des gastro-entérites. Faciles à mettre en œuvre, rapides (délai de rendu de résultats de quelques minutes à quelques heures) et adaptées aux grandes séries, leur principale limite réside dans leur manque de sensibilité.

Une étude multicentrique européenne a évalué les performances diagnostiques des deux principales trouses actuellement commercialisées : IDEIA Norovirus (Oxoid) et RIDASCREEN Norovirus (R-Biopharm). Les sensibilités et spécificités globales des deux techniques sont respectivement de 58,9% et 93,9% pour la technique IDEIA Norovirus et de 43,8% et 96,4% pour la technique RIDASCREEN. De fortes variations de la sensibilité des deux techniques sont en réalité observées en fonction du génotype recherché. Certains, comme le génotype II.4, sont très bien détectés par les deux techniques, d'autres, tel le génotype II.6, sont difficilement mis en évidence. Les performances diagnostiques de deux techniques varient également selon le pays d'étude. Ces variations s'expliquent par la variabilité antigénique des norovirus et par le principe méthodologique des deux tests. Les anti-

corps de détection correspondent à un mélange d'anticorps dirigés contre différents génotypes. La composition du mélange influera sur les performances diagnostiques du test en permettant ou non la reconnaissance des différents génotypes. Dès lors, la sensibilité du test variera en fonction du principal génotype circulant dans un pays (52).

Actuellement, l'intérêt de ces tests à un niveau individuel paraît limité du fait de leur sensibilité moyenne. A l'inverse, ils trouvent leur place lors d'épidémies de gastro-entérites. Réalisés sur plusieurs échantillons collectés chez différents patients souffrant de gastro-entérite, ces tests permettent d'affirmer la part causale des norovirus si au moins un des échantillons se révèle positif.

• Techniques de détection du génome

La détection du génome viral constitue actuellement la méthode de choix pour l'étude des infections à norovirus.

Pour le diagnostic, de très nombreuses techniques sont décrites dans la littérature. Elles diffèrent selon la méthodologie utilisée (RT-PCR, RT-PCR en temps réel, RT-LAMP), la recherche simultanée ou non des différents génotypes de norovirus et la recherche combinée des différents virus des gastro-entérites (53-58). La technique la plus fréquemment employée est la RT-PCR en temps réel. La principale difficulté rencontrée lors de la mise au point des tests réside dans la diversité génétique des norovirus, les amorces utilisées devant permettre l'amplification des différents génotypes au sein d'un génotype. Dès lors, le développement de puces à ADN constitue une approche particulièrement intéressante pour la recherche de ces virus. Classiquement, la région amplifiée correspond à la jonction ORF1-ORF2, région du génome la plus conservée au sein d'un génotype. Cependant, peu d'études comparant les performances diagnostiques des différentes techniques publiées sont disponibles dans la littérature.

Pour le génotypage, le séquençage de différentes régions du génome a été proposé (ARN polymérase ou protéine majeure de capsid). Actuellement, un consensus s'est établi autour du séquençage d'une région de la protéine majeure de capsid (59). Cependant, il peut être intéressant d'effectuer également un séquençage d'une région de l'ARN polymérase pour mettre en évidence d'éventuels recombinants.

Prophylaxie non spécifique

Le mode de transmission principalement féco-oral des norovirus conditionne en grande partie les mesures de prévention. Elles sont basées sur l'application des mesures d'hygiène générale. Compte tenu du rôle privilégié du manutentionnaire dans la dissémination du virus, le lavage des mains est primordial. Un lavage soigneux et fréquent à l'eau avec un savon antiseptique est la meilleure méthode pour éliminer et inactiver les virus présents à la surface de la peau. L'utilisation d'une solution hydro-alcoolique avec un pourcentage minimum de 70% d'alcool (temps de contact d'environ 30 secondes) est également considérée comme efficace. Du fait de la résistance des norovirus dans l'environnement, les surfaces souillées constituent une source importante de contamination. Aussi, elles doivent être nettoyées et désinfectées régulièrement. La désinfection peut être réalisée à l'aide d'hypochlorite de sodium (solution à 0,5% avec un temps de contact de 10 minutes) ou d'un ammonium quaternaire (type Surfa' Safe, Anios®). La prévention des épidémies d'origine alimentaire repose sur l'application de ces mesures d'hygiène strictes lors de la préparation des aliments, sur l'éviction des personnels malades (jusqu'à 48 heures après disparition des signes cliniques) et sur le contrôle des réseaux de distribution des eaux afin d'éviter leur contamination par des matières fécales (60).

La survenue d'une épidémie dans une collectivité justifie la mise en place rapide de mesures destinées à limiter son extension. Elles peuvent être inspirées des recommandations émises pour la gestion d'épidémies de gastro-entérites survenant dans un établissement de santé (61-63). La marche à suivre s'articule autour de 2 axes

principaux : le renforcement des mesures d'hygiène générale précédemment évoquées et l'isolement, dans la mesure du possible, des cas avérés ou suspects. La surveillance de l'apparition des nouveaux cas permet d'affirmer la fin de l'épidémie (72 h après la disparition des symptômes chez le dernier cas) et de lever les mesures d'isolement. Ces mesures, appliquées sans attendre les résultats des investigations biologiques, peuvent nécessiter la mise en œuvre de moyens très importants comme en témoignent les épidémies sur le bateau de croisière précédemment évoquées.

Approches vaccinales

La mise sur le marché d'un vaccin contre les norovirus serait particulièrement intéressante pour plusieurs populations cibles : les jeunes enfants et les personnes âgées, franges de la population développant les formes les plus sévères, personnels de l'industrie alimentaire, voyageurs, militaires. Sa mise au point se heurte à différents problèmes : la connaissance incomplète de la réponse immunitaire vis-à-vis des norovirus, la diversité des souches circulantes et l'émergence régulière de variants échappant à la réponse immunitaire acquise précédemment.

Les recherches actuelles s'orientent vers l'utilisation de pseudo-particules virales recombinantes ou de vecteurs viraux comme les adénovirus. Les résultats observés sont encourageants : obtention d'une réponse immunitaire muco-sale et humorale dose-indépendante et d'une réponse cellulaire, obtention d'une protection croisée entre certains génotypes au sein d'un génotype. Toutefois, la mise sur le mar-

ché d'un vaccin n'est pas envisageable avant plusieurs années (64-65).

Pour tenir compte de la diversité des norovirus, il devra inclure différentes souches appartenant aux génogroupes pathogènes pour l'homme en ciblant les génotypes les plus fréquents. De plus, sa composition devra être revue régulièrement, à l'instar du virus anti-grippal, afin de tenir compte de l'apparition éventuelle de nouveaux variants. Cette étape d'adaptation devra s'appuyer sur les données épidémiologiques obtenues par des réseaux de surveillance internationaux.

Conclusion

L'importance épidémiologique des norovirus a été revue au cours de ces dernières années. A l'origine de la quasi-totalité des épidémies de gastro-entérites, les norovirus sont également reconnus comme la première cause de gastro-entérites communautaires tout âge confondu. Ces virus cosmopolites sont vraisemblablement responsables d'un grand nombre des diarrhées non bactériennes en milieu tropical. Des études sont encore nécessaires pour préciser leur importance. Les études d'épidémiologie moléculaire ont mis en évidence la variabilité génétique de ces virus avec l'émergence régulière de variants échappant à la réponse immunitaire précédemment acquise. Si la maladie induite est généralement de gravité modérée, elle peut être plus sévère chez les jeunes enfants et les plus de 65 ans. Les épidémies induites sont explosives et peuvent impliquer plusieurs centaines de personnes. En l'absence de vaccin, la prévention des infections à norovirus repose sur l'application stricte des règles d'hygiène. ■

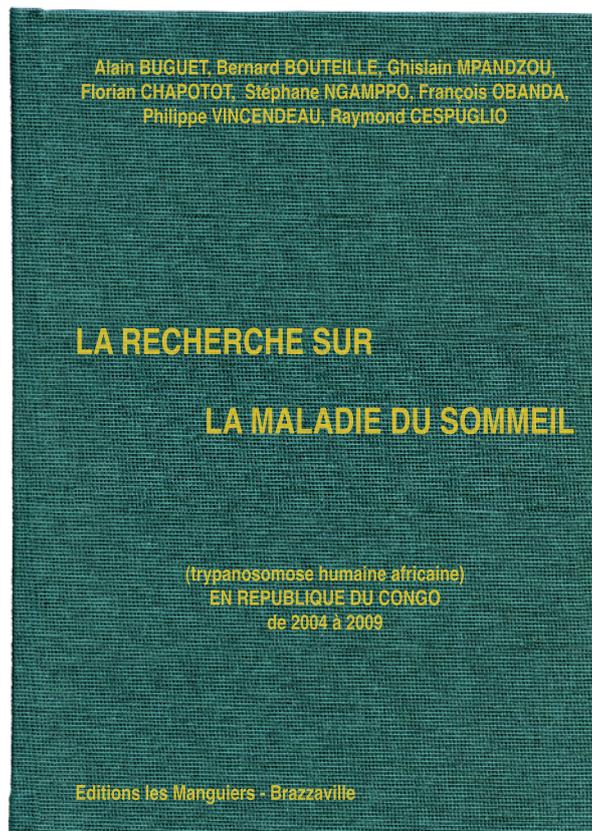
RÉFÉRENCES

1. Organisation Mondiale de la Santé. Available from : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/fr/>
2. Gallay A, Vaillant V, De Valk H, Desenclos JC. Epidémiologie des diarrhées virales. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Gastro-entérologie, 9-001-8-60, 2003, 7 p.
3. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972; 10 : 1075-81.
4. Xi JN, Graham DY, Wang KN, Estes MK. *Norwalk virus* genome cloning and characterization. *Science* 1990; 250 : 1580-3.
5. Kohli E, Bon F, Balay K, Pothier P. Les calcivirus humains, une cause majeure de gastro-entérite aiguë. *Virologie* 2005; 9 : 93-106.
6. Zheng DP, Ando T, Fanhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 2006; 346 : 312-23.
7. Bull RA, Hansman GS, Clancy LE, Tanaka MM, Rawlinson WD, White PA. Norovirus recombination in ORF1/ORF2 overlap. *Emerg Infect Dis* 2005; 11 : 1079-85.
8. Phan TG, Kaneshi K, Ueda Y, Nakaya S, Nishimura S, Yamamoto A, Sugita K *et al.* Genetic heterogeneity, evolution, and recombination in noroviruses. *J Med Virol* 2007; 79 : 1388-400.
9. Glass RI, Parashar UD, Estes MK. Norovirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2009; 361 : 1776-85.
10. Belliot G, Kamel AH, Estienne M, Ambert-Balay K, Pothier P. Evidence of the Emergence of New GGII.4 Norovirus Variants from Gastroenteritis Outbreak Survey in France during the 2007-08 and 2008-09 Winter Seasons. *J Clin Microbiol* 2009 Dec 30. (Epub ahead of print)
11. Kohli E, Bon F, Balay K, Pothier P. Les calcivirus humains, une cause majeure de gastro-entérite aiguë. *Virologie* 2005; 9 : 93-106.

12. Poschetto LL, Ike A, Papp T, Mohn U, Böhm R, Marschang RE. Comparaison of the sensitivities of noroviruses and feline calicivirus to chemical disinfection under field-like conditions. *App Environ Microbiol* 2007; 73 : 5494-5500.
13. Mattison K, Shukla A, Cook A, Pollari F, Friendship R, Kelton D *et al.* Human noroviruses in swine and cattle. *Emerg Infect Dis* 2007; 13 : 1184-8.
14. Amar CF, East CL, Gray J, Iurriza-Gomara M, Maclure EA, McLauchlin J. Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples : re-examination of the English casecontrol. *Infectious Intestinal Disease Study (1993-1996). Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26 : 311-23.
15. Chikhi-Brachet R, Bon F, Toubiana L, Pothier P, Nicolas JC, Flahault A *et al.* Virus diversity in a winter epidemic of acute diarrhea in France. *J Clin Microbiol* 2002; 40 : 4266-72.
16. de Wit MAS, Koopmans, Kortbeek LM, Wannet WJB, Vinjé J., van Leusden F, Bartels AIM, van Duynhoven THP. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am J Epidemiol* 2001; 154 : 666-74.
17. Sdiri-Loulizi K, Gharbi-Khelifi H, de Rougemont A, Chouchane S, Sakly N, Ambert-Balay K, *et al.* Acute infantile gastroenteritis associated with human enteric viruses in Tunisia. *J Clin Microbiol* 2008; 46 : 1349-55.
18. Fabian A, Donia D, Gabrieli R, Petrinca AR, Cenko F, Bebeci D, *et al.* Influence of enteric viruses on gastroenteritis in Albania : epidemiological and molecular analysis. *J Med Virol* 2007; 79 : 1844-9.
19. Bon F, Fascia P, Dauvergne M, Tenenbaum D, Planson H, Petion AM, *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 : 3055-8.
20. Ajampur SS, Rajendran P, Ramani S, Banerjee I, Monica B, Sankaran P, *et al.* Closing the diarrhoea diagnostic gap in Indian children by the application of molecular techniques. *J Med Microbiol* 2008; 57 : 1364-8.
21. Nguyen TA, Yagyu F, Okame M, Phan TG, Trinh QD, Yan Hn Hoang KT, *et al.* Diversity of viruses associated with acute gastroenteritis in children hospitalized with diarrhea in Ho Chi Minh City, Vietnam. *J Med Virol* 2007; 75 : 582-90.
22. Institut National de Veille Sanitaire. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. 2004, 192 p.
23. Mead S, Slutsker L, Dietz V, Mc Caig LF, Bresee JS, Shapiro C, *et al.* Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5 : 607-25.
24. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinjé J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2008; 14 : 1224-31.
25. Kaplan JE, Gary GW, Baron RC, Singh N, Schonberger LB, Feldman R, *et al.* Epidemiology of Norwalk gastroenteritis and the role of *Norwalk virus* in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis. *Ann Intern Med* 1982; 96 : 756-61.
26. Lynch M, Painter J, Woodruff R, Braden C. Surveillance for foodborne-disease outbreaks - United States, 1998-2002. *MMWR Surveill Summ* 2006; 55 : 1-34.
27. The food-borne viruses network. Foodborne viruses in Europe. Rapport final. 2004, 398 p. (<http://www.eufoodborneviruses.co.uk/>).
28. Esteve Gibert A, Navarro Rubio G, Sala Farré MR, Segura Porta F. Outbreak of gastroenteritis by *Norwalk virus* in nursing home. *Med Clin* 2008; 130 : 117.
29. Leuenberger S, Widdowson MA, Feilchenfeldt J, Egger R, Streuli RA. Norovirus outbreak in a district general hospital—new strain identified. *Swiss Med Wkly* 2007; 137 : 57-81.
30. CDC. Norovirus outbreak in an elementary school- discrit of columbia, february 2007. *MMWR Surveill Summ* 2008; 56 : 1340-43.
31. Grohmann G, Glass RI, Gold J, James M, Edwards P, Borg T, *et al.* Outbreak of human calicivirus gastroenteritis in a day-care center in Sydney, Australia. *J Clin Microbiol* 1991; 29 : 544-50.
32. Rizzo C, Di Bartolo I, Santantonio M, Coscia MF, Monno R, De Vito D, *et al.* Epidemiological and virological investigation on a norovirus outbreak in a resort in Puglia, Italy. *NMC Infectious Diseases* 2007; 7 : 135-41.
33. Isakbaeva ET, Widdowson MA, Beard RS, Bulens SN, Mullins J, Monroe SS, *et al.* Norovirus transmission on cruise ship. *Emerg Infect Dis* 2005; 11 : 154-8.
34. Michel A, Fitzgerald R, Whyte D, Fitzgerald A, Beggan E, O'Connell N, *et al.* Norovirus outbreak associated with a hotel in the west of Ireland, 2006. *Euro Surveill* 2007; 12 : E11-2.
35. de Wit MAS, Widdowson MA, Vennema H, De Bruin E, Fernandes T, Koopmans M. Large outbreak of norovirus : the baker who should have knows better. *J Infect* 2007; 55 : 188-93.
36. Grotto I, Huerta M, Balicer RD, Halperin T, Cohen D, Orr N, Gdalevich M. An outbreak of norovirus gastroenteritis on an Israeli military base. *Infection* 2004; 32 : 339-43.
37. Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks : surveillance in Engalnd and Wales, 1992-2000. *Emerg Infect Dis* 2003; 9 : 71-7.
38. CDC. Norovirus activity - United States, 2006-2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007; 56 : 842-6.
39. Tan M, Jiang X. Norovirus and its histo-blood group antigen receptors : an answer to a historical puzzle. *Trends Microbiol* 2005; 13 : 285-293.
40. Ruvoën-Clouet N, Le Pendu J. Fixation des norovirus sur des glycanes : conséquences biologiques et perspectives prophylactiques. *Virologie* 2004; 8 : 425-34.
41. Le Pendu J, Ruvoën-Clouet N, Kindberg E, Svensson L. Mendelian resistance to human norovirus infections. *Semin Immunol* 2006; 18 : 375-86.
42. Agus SG, Dolin R, Wyatt RG, Tousimis AJ, Northrup RS. Acute infectious nonbacterial gastroenteritis : intestinal histopathology. Histologic and enzymatic alterations during illness produced by the Norwalk agent in man. *Ann Intern Med* 1973; 79 : 18-25.
43. Rockx B, De Wit M, Vennema H, Vinjé J, De Bruin E, Van Duynhoven Y, *et al.* Natural history of human calicivirus infection : a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2002; 35 : 246-53.
44. Turcios RM, Widdowson MA, Sulka AC, Mead PS, Glass RI. Reevaluation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus : United States, 1998-2000. *Clin Infect Dis*. 2006; 42 : 964-9.
45. Ahmad K. Norwalk-like virus attacks troops in Afghanistan. *Lancet Infect Dis* 2002; 2 : 391.
46. Lee BE, Pang XL, Robinson JL, Bigam D, Monroe SS, Preiksaitis JK. Chronic norovirus and adenovirus infection in a solid organ transplant recipient. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27 : 360-2.
47. Ludwig A, Adams O, Laws HJ, Schrotten H, Tenenbaum T. Quantitative detection of norovirus excretion in pediatric patients with cancer and prolonged gastroenteritis and shedding of norovirus. *J Med Virol* 2008; 80 : 1461-7.
48. Practice parameter : the management of acute gastroenteritis in young children. American Academy of Pediatrics, Provisional Committee on Quality Improvement, Subcommittee on Acute Gastroenteritis. *Pediatrics* 1996; 97 : 424-35.
49. Walker-Smith JA, Sandhu BK, Isolauri E, Banchini G, van Caillie-Bertrand M, Dias JA, *et al.* Guidelines prepared by the ESPGAN Working Group on Acute Diarrhoea. Recommendations for feeding in childhood gastroenteritis. European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24 : 619-20.
50. Arnon K, Stephenson T, MacFaul R, Eccleston P, Werneke U. An evidence and consensus based guideline for acute diarrhoea management. *Arch Dis Child* 2001; 85 : 132-42.
51. Delacour H, Leroy P, Servonnet A, Soullié B, Koeck J.L. Le papier buvard : un outil de choix pour le transport des norovirus. *Immunoanalyse et biologie spécialisée* 2009 ; 24 : 177-8.
52. Gray JJ, Kohli E, Ruggeri FM, Vennema H, Sánchez-Fauquier A, Schreier E, *et al.* European multicenter evaluation of commercial enzyme immunoassays for detecting norovirus antigen in fecal samples. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14 : 1349-55.
53. Vinjé J, Vennema H, Maunula L, von Bonsdorff CH, Hoehne M, Schreier E, *et al.* International collaborative study to compare reverse transcriptase PCR assays for detection and genotyping of noroviruses. *J Clin Microbiol* 2003; 41 : 1423-33.
54. Hoehne M, Schreier E. Detection of Norovirus genogroup I and II by multiplex real-time RT- PCR using a 3'-minor groove binder-DNA probe. *BMC Infect Dis* 2006; 6 : 69.

55. Trujillo AA, McCaustland KA, Zheng DP, Hadley LA, Vaughn G, Adams SM, *et al.* Use of TaqMan real-time reverse transcription-PCR for rapid detection, quantification, and typing of norovirus. *J Clin Microbiol* 2006; 44 : 1405-12.
56. Logan C, O'Leary JJ, O'Sullivan N. Real-time reverse transcription PCR detection of norovirus, sapovirus and astrovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis. *J Virol Methods* 2007; 146 : 36-44.
57. Iturriza-Gómara M, Xerry J, Gallimore CI, Dockery C, Gray J. Evaluation of the Loopamp (loop-mediated isothermal amplification) kit for detecting Norovirus RNA in faecal samples. *J Clin Virol* 2008; 42 : 389-93.
58. Nordgren J, Bucardo F, Dienus O, Svensson L, Lindgren PE. Novel light-upon-extension real-time PCR assays for detection and quantification of genogroup I and II noroviruses in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2008; 46 : 164-70.
59. Vinjé J, Hamidjaja RA, Sobsey MD. Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. *J Virol Methods* 2004; 116 : 109-17.
60. LoBue AD, Lindsmith L, Yount B, Harrington PR, Thompson JM, Johnston RE, *et al.* Multivalent norovirus vaccines induce strong mucosal and systemic blocking antibodies against multiple strains. *Vaccine* 2006; 24 : 5220-34.
61. CDC. Norwalk-like viruses. Public health consequences and outbreak management. *MMWR Morb Mortal Wky Rep* 2000, 20 p.
62. Office Fédéral de la santé publique. Norovirus. Caractéristiques biologiques, épidémiologie, tableau clinique, prévention. Recommandation pour la gestion des épidémies. 2005, 33 p.
63. Institut National de la Santé Publique du Québec. Mesures de contrôle et de prévention des éclosions de cas de gastro-entérite infectieuse d'allure virale (norovirus) à l'intention des établissements de soins. 2005, 78 p.
64. LoBue AD, Lindsmith L, Yount B, Harrington PR, Thompson JM, Johnston RE, *et al.* Multivalent norovirus vaccines induce strong mucosal and systemic blocking antibodies against multiple strains. *Vaccine* 2006; 24 : 5220-34.
65. Guo L, Wang J, Zhou H, Si H, Wang M, Song J, *et al.* Intranasal administration of a recombinant adenovirus expressing the norovirus capsid protein stimulates specific humoral, mucosal, and cellular immune responses in mice. *Vaccine* 2008; 26 : 460-8.

Lu pour vous



La recherche sur la maladie du sommeil

A. Buguet *et al.*

Edition les Manguiers, Brazzaville, 2008, 336 p

Ce livre de 336 pages est la synthèse des rapports de recherche produits de 2004 à 2009 et rassemble les travaux conjoints des équipes congolaises et françaises sur la trypanosomiase humaine africaine en République du Congo pendant cette période.

On y trouvera les résultats positifs obtenus dans trois domaines :

1. L'identification des lymphocytes B dans le liquide céphalorachidien par technique d'agglutination utilisant des anticorps monoclonaux et applicables avec un simple microscope optique. En permettant d'établir le diagnostic d'atteinte du système nerveux central, il s'agit d'une technique très utile au diagnostic et au suivi thérapeutique.
2. L'utilisation de la polysomnographie comme outil de diagnostic et de suivi thérapeutique non invasif qui permet d'éviter les ponctions lombaires de contrôle. Le développement d'enregistreurs miniaturisés est en cours et devrait permettre l'application de ce mode d'exploration sur le terrain.
3. Des travaux plus fondamentaux sur l'inhibition de la production de monoxyde d'azote dans les macrophages induite par le trypanosome et sur les molécules permettent de renverser le phénomène. ●

Marc Morillon