

Norovirus

Item de l'ECN concerné :

- *N° 172. Diarrhées infectieuses de l'adulte et de l'enfant*

1. Classification

1.1 Taxonomie

Norovirus est l'un des cinq genres existants de la famille *Caliciviridae* avec les genres *Lagovirus*, *Sapovirus*, *Vesivirus* et *Nebovirus*. *Norovirus* et *Sapovirus* sont les deux seuls genres de calicivirus responsables d'infections chez l'homme.

Les norovirus présentent une grande diversité génétique et antigénique. On distingue à ce jour 7 génogroupes subdivisés en plusieurs génotypes mais certaines souches restent encore non classées (**Figure 1**).

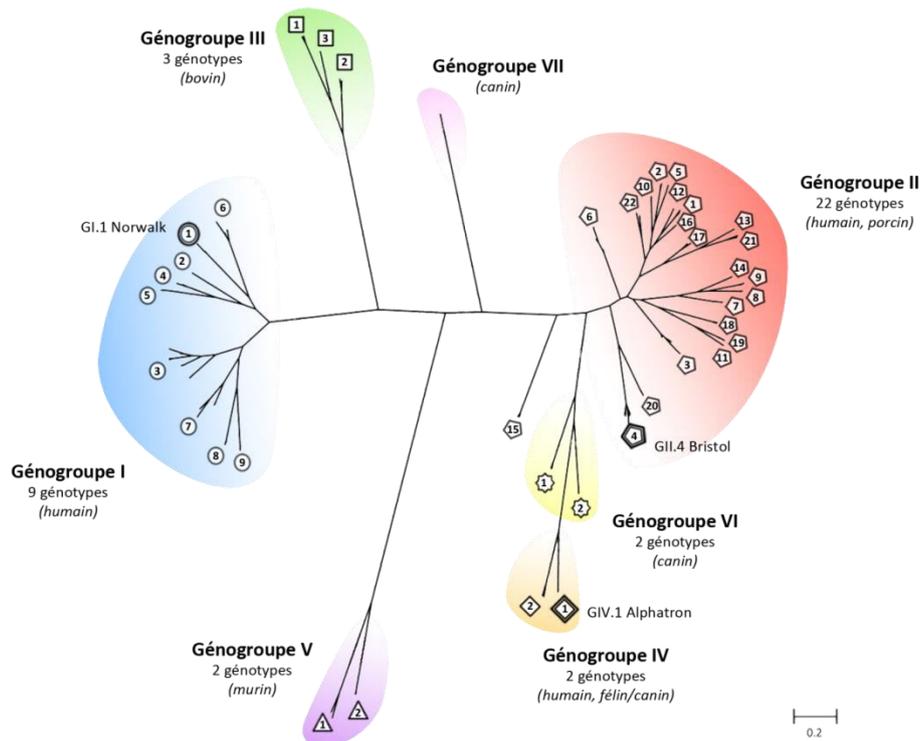


Figure 1. Arbre phylogénétique du genre *Norovirus* basé sur la protéine majeure de capsid VP1 d'après Jan Vinjé.

1.2 Structure

Le virus de Norwalk (GI.1) a été le premier norovirus visualisé à l'aide de techniques d'immuno-électro-microscopie, révélant de petites particules d'un diamètre d'environ 30 nm. Comme tous les calicivirus, les norovirus possèdent une protéine virale (VPg) associée à un ARN génomique et une capsid icosaédrique non enveloppée de symétrie T=3 composé de 90 dimères d'une unique protéine.

L'ARN génomique du norovirus est un ARN simple brin linéaire de polarité positive avec une protéine VPg jouant le rôle de coiffe à l'extrémité 5' et polyadénylée à l'extrémité 3' (**Figure 2**). Cette molécule d'ARN d'environ 7.500 bases se comporte donc de par sa structure et sa composition, comme un ARN messager, directement traduisible par la machinerie cellulaire.

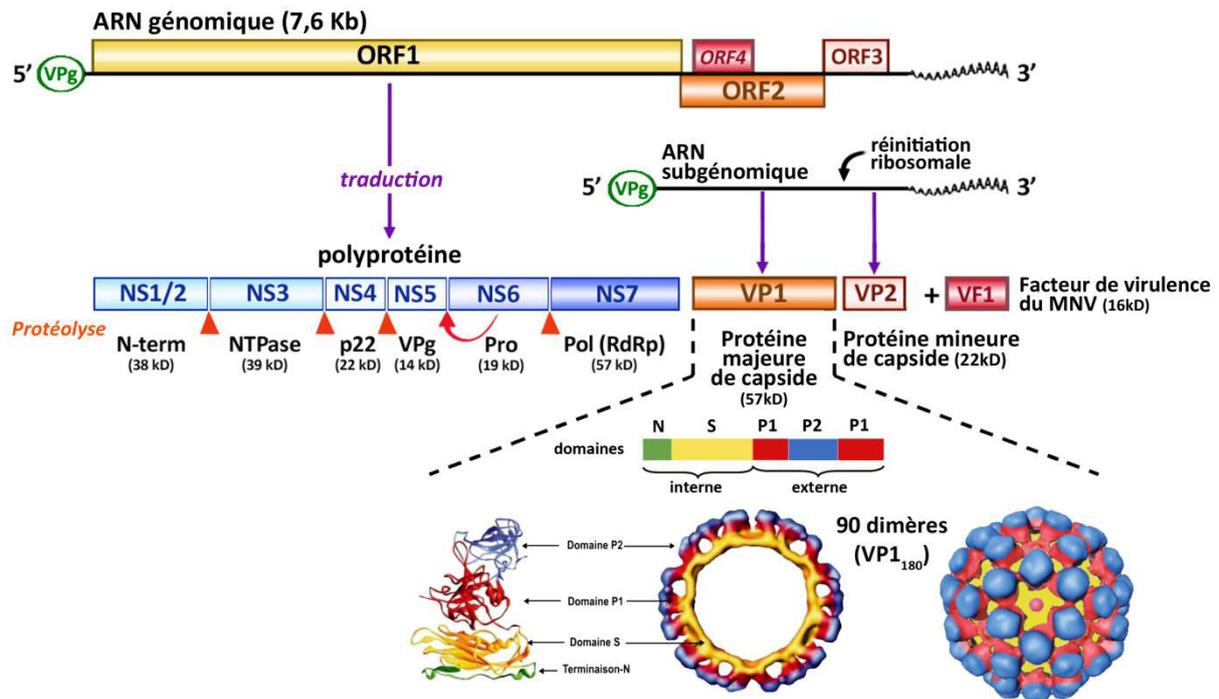


Figure 2. Organisation génomique et structure des norovirus

Le génome est organisé en 3 cadres de lecture ouverts (ORF ou *open reading frame*) bordés en 5' et 3' des régions non codantes. L'ORF1 code une grande polyprotéine précurseur de 200 kDa qui fournira, suite à la protéolyse par une protéinase virale 3C-like, les 6 protéines non structurales NS1/2 à NS7 dont les caractéristiques et les fonctions sont rapportées dans le **Tableau 1**. L'ORF2 code la protéine majeure de capside VP1 d'environ 60 kDa et l'ORF3 pour une protéine mineure structurale, VP2, dont la fonction exacte reste mal connue. Les antigènes de capsides sont portés par la zone hypervariable du domaine P2 de la protéine VP1.

Tableau 1. Fonctions et propriétés des protéines non structurales des norovirus

Dénomination	Équivalent	PM	Fonction(s) – Propriété(s)	
Ancienne	Nouvelle	<i>poliovirus</i>	KDa	
N-term	NS1/2	<i>2AB</i>	37	Inconnue - interaction avec l'appareil de Golgi et les protéines VAMP membranaires, présente dans le complexe de réplication virale en interagissant avec NS3, NS4, NS6-7.
NTPase	NS3	<i>2C</i>	40	Inconnue - fonction NTPase, présente dans le complexe de réplication virale.
P20-p24	NS4	<i>3A</i>	20.2	Inconnue – inhibition du remodelage du cytosquelette d'actine, interaction antagoniste avec le réseau réticulo-endoplasmique et golgien.
VPg	NS5	<i>3B-VPg</i>	15.8	Coiffe de l'ARN génomique - Agent recruteur des facteurs traductionnels eIF3/eIF4E de la cellule hôte, Intervient dans la réplication
Pro	NS6	<i>3C^{pro}</i>	19.3	Protéinase - maturation des protéines virales, clivage des protéines cellulaires, intervient dans les phénomènes de <i>shut off</i>
Pol	NS7	<i>3D^{pol}</i>	57	Polymérase – réplication, nucléotidylation de VPg

1.3 Réplication

La stratégie de réplication des calicivirus partage de nombreux éléments avec les autres virus à ARN de polarité positive. La première étape correspond à l'interaction du virion avec la cellule hôte à l'aide d'un ligand spécifique, notamment un glycanne tels que les antigènes de groupes sanguins tissulaires ou HBGA (*Human Blood Group Antigens*). Une fois la particule internalisée, l'ARN génomique est relargué dans le cytoplasme afin d'être traduit par la machinerie cellulaire (**Figure 3**).

L'absence de système de culture sur cellules des norovirus humains a rendu difficile l'étude de la réplication des norovirus, mais l'étude de virus proches, en particuliers le norovirus murin, ont permis de mieux l'aborder. La traduction de l'ORF1 permet la synthèse d'un précurseur protéique de 200 kDa qui est ensuite clivé par la protéinase virale (Pro). L'initiation de la synthèse du brin anti-sens débute alors à l'extrémité 3' du brin sens dans le complexe de réplication. Le brin néoformé sert à son tour de matrice pour la production d'un brin d'ARN génomique et un brin d'ARN subgénomique. L'ARN subgénomique en surnombre permet alors à la synthèse des protéines structurales, VP1 et VP2. En ce qui concerne les dernières étapes de la réplication, ni la maturation ni la libération des virions n'ont encore été élucidées.

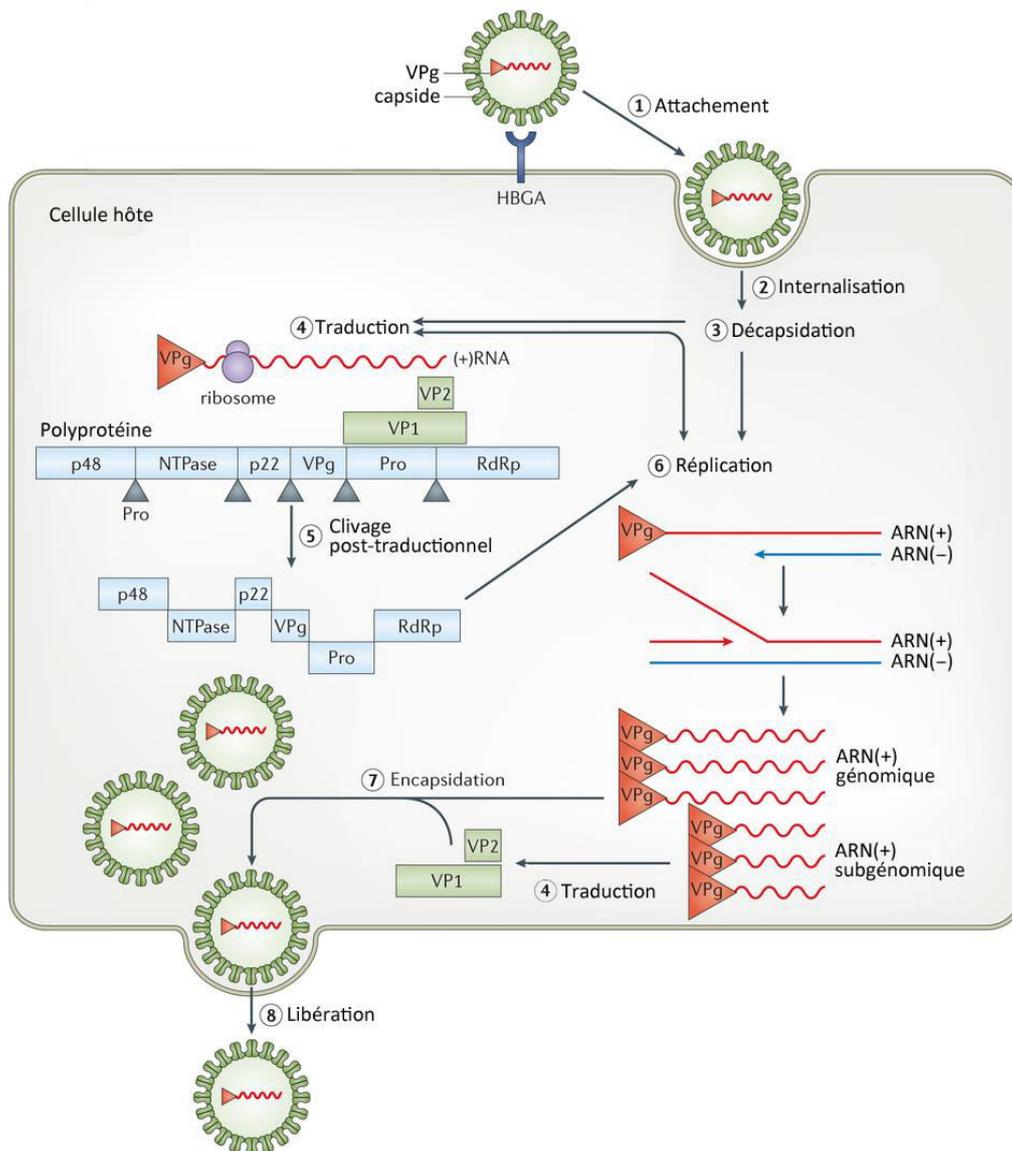


Figure 3. Schéma du cycle de réplication des norovirus d'après Miranda de Graaf et coll.

2. Modes de transmission et épidémiologie

2.1 Transmission des norovirus

Les norovirus sont principalement transmis par la voie féco-orale et sont très infectieux. Moins de 100 particules suffisent théoriquement pour provoquer la maladie. Dans les fèces, le génome viral peut être présent en grande nombre allant jusqu'à plus 10^{12} copies par gramme de selles. Le pic d'excrétion du virus correspond généralement à l'apparition de la maladie sachant que les norovirus sont détectables dans les selles un peu avant l'apparition des symptômes. Néanmoins, la propagation du norovirus est également assurée par les sujets asymptomatiques. L'excrétion du norovirus peut ensuite se prolonger jusqu'à 3 semaines chez les personnes en bonne santé et au-delà de 80 jours chez les immunodéprimés et les enfants au cours de leur première année, sachant que des excréctions continues de norovirus ont été observées sur des périodes de plus de 2 ans.

La transmission du virus peut se faire par le biais de vomissure ou directement de personne à personne. Dans les établissements de type EHPAD, la majorité des infections à norovirus est attribuable à ce mode de transmission. La promiscuité entre personnes fragilisées favorise les épidémies à norovirus. La contamination par le norovirus peut également se produire par le biais de souillures, de projections ou d'aérosols. Dans ce cas l'eau est un vecteur important de la transmission.

2.2 Épidémiologie des infections à norovirus

2.2.1 *Données épidémiologiques*

Les norovirus sont la cause la plus fréquente de gastro-entérites aiguës à tous âges et apparaissent souvent sous forme d'épidémies touchant un grand nombre de personnes. Les gastro-entérites causées par les norovirus ont une distribution saisonnière dans les pays tempérés et dans leur grande majorité se produisent en hiver.

Aux États-Unis, on estime que plus de 90% des épidémies de gastro-entérites aiguës d'origine virale sont dues aux norovirus. À l'hôpital, les norovirus sont responsables d'infections nosocomiales. De façon plus générale, les infections à norovirus constituent un problème important dans les institutions médicalisées comme les établissements hospitaliers pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) ou les services de soins de longue durée.

2.2.2 *Infections alimentaires ou hydriques*

Le norovirus est le virus le plus fréquemment responsable de TIAC. La contamination des aliments se fait par le biais d'eau souillée ou bien par la manipulation des aliments par une personne porteuse du norovirus. On estime que 47% des épidémies dans le monde seraient d'origine alimentaire, et que les norovirus seraient impliqués dans 10 à 26% des cas. L'analyse des données les plus récentes révèlent que 27% des épidémies d'origine alimentaire sont dues à un norovirus de génotype II autre que GII.4 et que dans 37% des cas, les épidémies sont dues à des infections mixtes où le génotype GII.4 est incriminé. Quant aux norovirus GI, ceux-ci sont généralement associés à des épidémies d'origine alimentaire, hydrique ou environnementale car supposés plus résistants aux facteurs environnementaux que les norovirus GII. Les norovirus GI sont ainsi souvent retrouvés dans les épidémies consécutives à la consommation de coquillages crus.

2.3 Épidémiologie moléculaire

L'épidémiologie des norovirus varie selon le géogroupe et le génotype. Ce sont les norovirus de génotype GII.4 qui sont à l'origine de 60 à 80% des épidémies de gastro-entérites à norovirus en

Europe, en Amérique du Nord et en Asie. Ce sont plus particulièrement des épidémies de personne-à-personne, les épidémies d'origine alimentaire étant plus souvent imputées à d'autres génotypes.

Les données épidémiologiques des deux dernières décennies ont montré que les norovirus GII.4 se distribuent en variants épidémiques successifs avec le remplacement d'un variant par un autre tous les 2 à 4 ans à partir des années 2000. L'immunité de groupe, mais aussi individuelle, pourrait expliquer ces changements. Ces variants ont des distributions géographiques différentes : certains variants dont le dernier encore en circulation ont eu une distribution mondiale, alors que d'autres variants ont eu une circulation plus restreinte (**Figure 4**). Cependant, au cours des dernières années, les GII.4 n'ont pas toujours été systématiquement prédominants et on retrouve de façon sporadique dans des épidémies ou dans des foyers isolés d'autres génotypes tels que les GII.3, GII.6 ou GII.12. Très récemment des études ont signalé l'émergence d'une nouvelle souche épidémique de norovirus de génotype GII.17 observée tout d'abord en Asie avant de se répandre sur tous les continents.

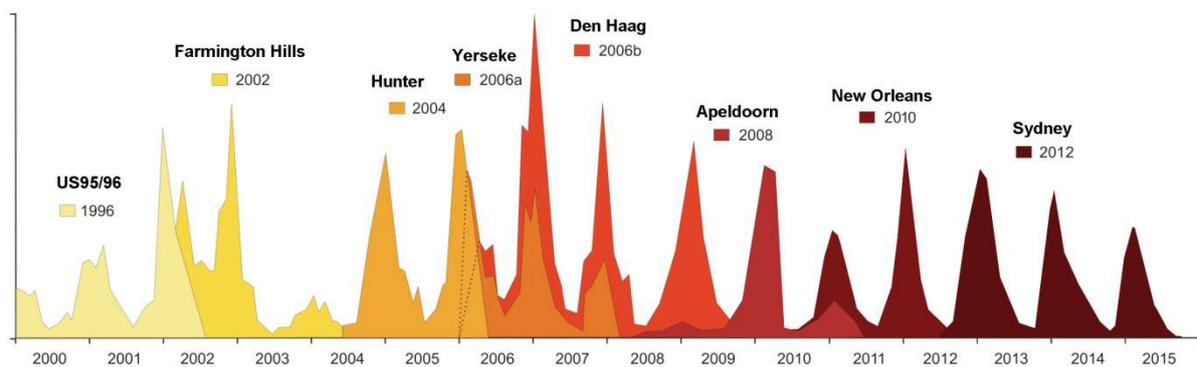


Figure 4. Évolution temporelle de l'épidémiologie moléculaire des variants successifs de norovirus GII.4.

3. Physiopathologie

Bien que le site de réplication ne soit pas bien établi, différentes études suggèrent que le site infectieux se situerait au niveau du jéjunum. Des biopsies de la muqueuse intestinale ont permis de montrer la présence de lésions histopathologiques correspondant à des lésions villositaires atrophiées avec une hypertrophie des cryptes intestinales, une infiltration par des cellules mononucléées et la présence de vacuoles cellulaires intracytoplasmiques sans pour autant porter atteinte à l'intégrité cellulaire. Cette atrophie villositaire a cependant pour conséquence l'apparition d'une malabsorption transitoire avec altération du système enzymatique de la bordure en brosse des entérocytes qui est à l'origine de la diarrhée. Il a été également observé une invasion de l'épithélium intestinal par des lymphocytes T CD8+ qui serait impliqués dans les altérations morphologiques des villosités et une vacuolisation importante du cytoplasme des entérocytes. Les muqueuses gastriques et coliques ne présentent quant à elles aucune lésion.

Après réplication, les virus néoformés sont excrétés dans la lumière intestinale puis éliminés avec les selles. Ces nouveaux virions peuvent être détectés par PCR avant l'apparition des premiers symptômes cliniques et jusqu'à plusieurs jours voire des semaines après la guérison, en particulier chez le nourrisson et les personnes âgées. La persistance d'une excrétion virale au-delà de la période stricte de la maladie symptomatique pose ainsi le problème du contrôle des épidémies consécutives à la manipulation des aliments lors de leur préparation.

4. Clinique

Les gastro-entérites à norovirus sont généralement bénignes chez les enfants et les adultes en bonne santé, ne causant que très rarement des déshydratations sévères nécessitant une hospitalisation. Dans les pays moins avancés sur le plan médico-social, la sévérité des gastro-entérites à norovirus hospitalisées est comparable à celle des rotavirus et pourrait être la conséquence d'un retard de prise en charge.

Après contamination, l'incubation est assez courte, entre 4 et 77 heures, mais on constate en générale une moyenne de 24 à 48 heures avant l'apparition des symptômes entéritiques. Les principales caractéristiques cliniques de l'infection par le norovirus sont regroupées autour d'une symptomatologie incluant nausées, vomissements, diarrhée, fièvre modérée et douleurs abdominales. Les accès diarrhéiques sont souvent liquidiens sans présence de mucus, de sang ou encore de leucocytes. Les vomissements semblent quant à eux plus fréquents chez l'enfant que chez l'adulte et pourraient être, comme les nausées, le reflet de troubles moteurs gastro-intestinaux dont les mécanismes n'ont pas encore été mis en évidence. Des maux de tête et de gorge, des myalgies et une perte de l'appétit ont par ailleurs été signalés, ainsi que des raideurs de nuque, une sensibilité accrue à la lumière et des confusions. Chez l'enfant, les convulsions bénignes sont plus fréquentes que dans les infections à rotavirus mais restent toutefois peu fréquentes.

Chez le sujet immunodéprimé, les norovirus peuvent être responsables d'infections chroniques parfois sévères. De nombreuses études chez le transplanté d'organe ou de moelle osseuse ont permis d'observer une excrétion virale pouvant persister pendant plusieurs mois, parfois à des concentrations très élevées lors d'épisodes de diarrhées, voire plus de 2 ans. Cette infection chronique peut alors avoir de graves conséquences : pertes pondérales importantes, dénutrition et déshydratation sévères, hospitalisations prolongées, voire décès.

5. Diagnostic virologique

La microscopie électronique autrefois technique de choix, a été remplacée par les techniques de biologie moléculaire (RT-PCR et RT-PCR en temps réel), plus simples d'utilisation. Depuis quelques années, on observe également le développement de techniques immuno-enzymatiques qui toutefois manquent encore de fiabilité et de sensibilité.

L'établissement du diagnostic d'infection à norovirus est utile dans de nombreuses situations : il permet d'éviter une antibiothérapie abusive, procéder à l'éviction du personnel malade (soignant, cuisinier), mettre en place des mesures d'hygiène, de désinfection et d'isolement adéquates, confiner l'agent viral, limiter la durée de l'épidémie, voire relier une TIAC à un aliment contaminé et de procéder, cas échéant, au retrait du produit du marché.

5.1 Prélèvements

Le prélèvement de selles doit être réalisé à la phase aiguë de la maladie : 2 à 3 g dans un récipient stérile à fermeture hermétique sont utiles. L'excrétion de virions dans les selles pouvant être observée jusqu'à 3 semaines après le début de la maladie, la détection de rotavirus peut être obtenue plus tardivement grâce à la très grande sensibilité des techniques moléculaires. Il peut être transmis au laboratoire à température ambiante. Le prélèvement peut être conservé à +4°C pendant 72 heures mais au-delà il est nécessaire de le congeler à -30°C afin d'éviter une colonisation bactérienne trop importante et pouvant gêner la détection virale, ou à des fins de stockage prolongé.

5.1.1 Détection des antigènes

Des trousse de détection des antigènes de norovirus sont disponibles dans le commerce. Ces trousse commerciales sont proposées sous forme d'ELISA ou de tests rapides immuno-chromatographique (ICT) et se réalisent à partir d'une suspension de selles à 10 % dans un tampon dédié. Leurs seuils de sensibilité sont encore médiocres mais leurs spécificités sont proches de 100%. Ces tests sont disponibles sous conditionnement unitaire et présentent l'avantage d'être faciles et rapides (10 à 15 minutes), ne nécessitant donc pas de personnel qualifié. Leur utilisation est particulièrement adaptée au coup par coup et aux situations d'urgence.

5.1.2 Détection du génome

Les techniques d'amplification de type RT-PCR et RT-PCR en temps réel (RT-qPCR) sont des méthodes aujourd'hui largement utilisées pour la détection de nombreux virus dans différents types de prélèvements (selles, vomissures, aliments ou encore l'eau). Elles sont devenues les outils standards de détection et de suivi épidémiologique des norovirus. Pour détecter la totalité des génotypes connus, les techniques d'amplification en point final ciblent les régions conservées de la polymérase (ORF1) et de la protéine de capsid VP1 (ORF2). Il existe également des PCR permettant l'amplification de la jonction entre les ORF 1 et ORF2 et donc de caractériser notamment les norovirus recombinants.

Plus récentes, les techniques de RT-qPCR permettent le dénombrement des génomes viraux (ou charge virale). Ces techniques sont de plus en plus utilisées car elles sont plus rapides et peuvent permettre éventuellement de déterminer la charge virale dans les prélèvements. Les amorces et sondes ont généralement comme cible la partie la plus conservée de la polymérase.

Enfin, les trousse de multiplexage dites de diagnostic syndromique sont en plein essor et proposent la détection simultanée d'un large panel d'agents pathogènes bactériens, viraux et parasitaires dans les selles.

6. Traitement antiviral

Les gastro-entérites à norovirus sont généralement sans complication et évoluent spontanément vers la guérison chez les personnes en bonne santé. Chez les immunodéprimés, les très jeunes enfants, les personnes âgées ou les sujets porteurs de pathologie lourde, l'infection peut toutefois nécessiter une hospitalisation.

Il n'existe actuellement aucun traitement antiviral spécifique contre les norovirus. Une réhydratation orale ou intraveineuse, accompagnée parfois par une prise en charge nutritionnelle, peut s'avérer nécessaire chez l'enfant ou la personne âgée. Chez le greffé, la symptomatologie ne doit pas être confondue avec un rejet ou une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD). De nombreuses pistes thérapeutiques ont été proposées ces dernières années et sont en cours de développement.

7. Prophylaxie-vaccinations

7.1 Prévention primaire

La prévention de la transmission des norovirus passe par l'observance de règles d'hygiène simples. Comme pour bon nombre d'agents infectieux, le manuportage est le principal mode de transmission des norovirus entre individus. Le lavage soigneux et systématique des mains permet de réduire considérablement les cas d'infection. Le lavage des mains à l'aide de savon liquide, antiseptique ou non, doit être systématique après être passé aux toilettes, le nettoyage des fesses d'un nourrisson diarrhéique ou le contact avec des vomissures. La désinfection des objets et des surfaces souillés ou

manipulés doit également être systématique compte-tenu de la résistance de norovirus sur les surfaces.

Pour les voyageurs, la base de la prévention repose sur l'observation des règles d'hygiène alimentaires, à savoir : ne consommer que l'eau en bouteille capsulée ou rendue potable, éviter les glaçons et les glaces, peler les fruits, éviter les crudités et les coquillages, se laver les mains avant les repas, la manipulation d'aliments ou après le passage aux toilettes.

En milieu hospitalier, le risque de transmission augmente avec la charge en soins et la baisse d'autonomie des patients. La friction des mains avec une solution hydro-alcoolique, efficace contre les norovirus, doit être un complément au lavage des mains par un savon doux ou une solution désinfectante. Les locaux doivent être entretenus et nettoyés soigneusement, particulièrement ceux des services à haut risque (réanimation, hématologie, maladies infectieuses) et des prélèvements réguliers sont recommandés. Le matériel médical souillé doit être désinfecté selon des protocoles adaptés. Enfin, des mesures d'isolement des patients peuvent être mise en place dans les services à risque.

7.2 Vaccination

Il n'existe à ce jour aucun vaccin commercial contre les norovirus, les premiers projets de vaccin étant encore au stade expérimental. Les coûts considérables directs et indirects associés à aux infections à norovirus apportent de nouveaux arguments en faveur de l'élaboration de vaccins pour les jeunes enfants et les personnes âgées, ainsi que pour certaines catégories professionnelles comme les métiers de la restauration et plus généralement du secteur agro-alimentaire.

Ces vaccins prototypes sont élaborés à partir de particules virales de synthèse (VLP), de particules P ou de chimères utilisées comme matériel antigénique et présentant les mêmes propriétés antigéniques et structurales que les virions sans le génome. Différentes voies d'administration ont été explorées jusqu'à maintenant dont les voies intra-nasale et intramusculaire. La formulation des futurs vaccins est également discutée et devrait inclure des VLP de norovirus GII (en l'occurrence celles du GII.4 prédominant) ainsi que de norovirus GI afin d'obtenir une protection étendue vis-à-vis de plusieurs génotypes.

8. Points clefs à retenir

- Les norovirus sont les principaux virus responsables de gastroentérites aiguës chez l'homme tous âges confondus et sont responsables d'épidémie hivernale.
- Le genre *Norovirus* appartient à la famille *Caliciviridae* et comporte 7 génogroupes. Seuls les virus des génogroupes GI, GII et GIV sont responsables d'infections chez l'homme.
- Les norovirus sont des petits virus nus. Ils ont un génome ARN simple brin de polarité positive qui est directement infectieux. Le génome code pour 6 protéines non structurales (NS1/2 à NS7) et 2 protéines structurales (VP1 et VP2) dont VP1 est l'unique protéine de capsid.
- L'infection par les norovirus a lieu au niveau du jéjunum. La réplication permet la production d'une polyprotéine comportant les 6 protéines NS. Les 2 protéines structurales VP sont produites indépendamment à partir d'un ARN subgénomique.
- Les norovirus sont transmis par la voie féco-oral soit directement de personne-à-personne selon un mode épidémique soit indirectement par l'eau et l'alimentation (TIAC).
- Les épidémies hivernales de norovirus sont essentiellement dues aux norovirus GII.4, tandis que les cas sporadiques qui ont lieu toute l'année peuvent causés par tous génotypes.
- Les norovirus sont excrétés en très grand nombre dans les selles mais seuls moins de 100 virions suffisent pour infecter un sujet.

- Les infections à norovirus sont généralement bénignes chez les enfants et les adultes en bonne santé et sont spontanément résolutive en quelques jours. En revanche, chez les patients fragilisés (personnes âgés, nouveau-nés, greffés, immunodéprimés), les norovirus peuvent être mortels. Chez le greffé, les infections peuvent être chroniques et durer plus de 2 ans.
- L'incubation est courte, en moyenne entre 24h et 48h. Les symptômes regroupent diarrhées et vomissements parfois importants, dans un contexte de fièvre modérée et de douleurs abdominales.
- Le diagnostic virologique peut s'effectuer soit à l'aide de techniques immuno-enzymatiques telles que les tests rapides immuno-chromatographiques de sensibilité plutôt médiocre, soit à l'aide de techniques de biologie moléculaire (RT-PCR ou RT-PCR en temps réel).
- Il n'existe pas de traitement virologique spécifique de l'infection par norovirus. La réhydratation orale ou intraveineuse peut parfois s'avérer nécessaire chez les sujets aux âges extrêmes.
- En attendant le développement de vaccin contre norovirus, seule l'observance des règles d'hygiène dont le lavage des mains permet de limiter la transmission du virus.