

ROTAVIRUS

Item de l'ECN concerné :

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

1. Classification

1.1 Taxonomie

Les rotavirus appartiennent à la famille *Reoviridae* (**Figure 1**). Le genre *Rotavirus* comporte 7 groupes distincts notés de A à G et définis par le déterminant antigénique de la protéine interne de la capsid (VP6). Seuls les rotavirus des groupes A, B et C sont présents chez l'homme. Les rotavirus du groupe A (RVA), de loin les plus fréquents, ont été clairement montrés comme responsables des gastroentérites aiguës épidémiques souvent sévères chez l'enfant en bas âge.

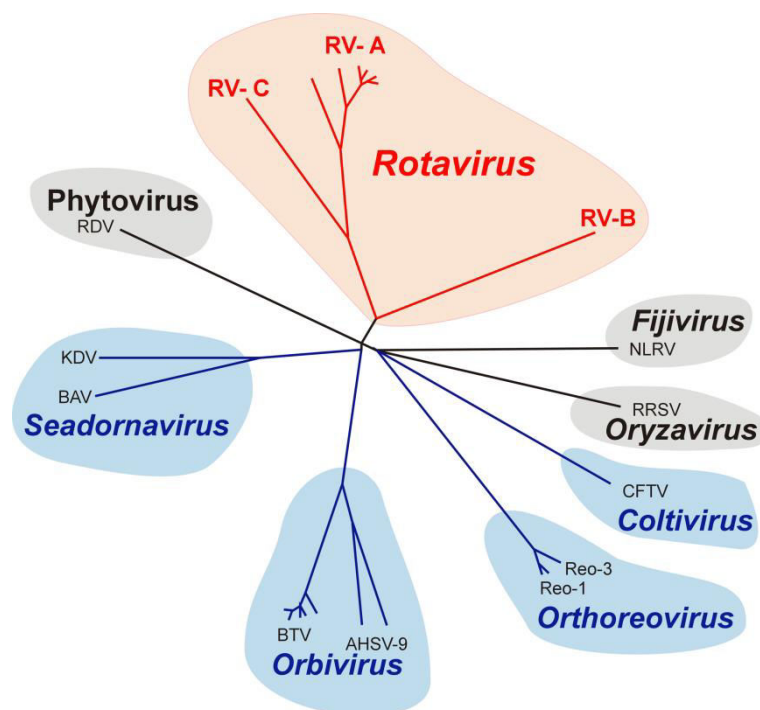


Figure 1. Arbres phylogénétiques de la famille *Reoviridae*

1.2 Structure

Les rotavirus sont des virus non enveloppés dont les particules virales matures en forme de roue mesurent 75nm de diamètre (100nm avec les spicules) (**Figure 2**). Ce sont des virus non enveloppés à ARN double brin segmentés très résistants à l'inactivation physique. Leur capsid icosaédrique est formée d'une triple couche de protéines : les couches externe, intermédiaire et interne (ou *core*). Elle contient les enzymes nécessaires à la réplication virale dont une ARN-polymérase ARN-dépendante.

Le génome de rotavirus est constitué de 11 segments d'ARN double brin portant chacun un gène codant pour au moins une protéine. Ces protéines virales comprennent six protéines structurales (VP) et six protéines non structurales (NSP).

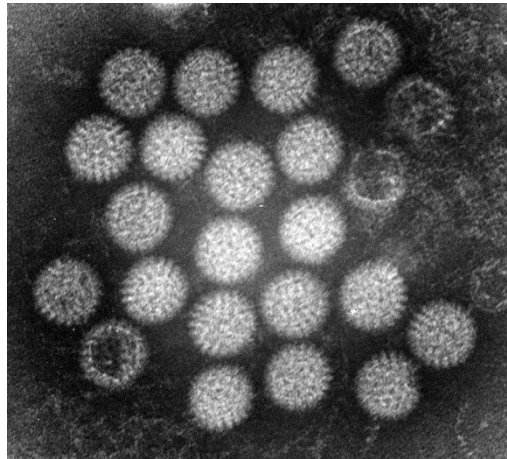


Figure 2. Particules de rotavirus en microscope électronique en coloration négative au grossissement $\times 198000$ (collection du Pr. M. Castets, CHU de Poitiers)

La surface de la capside (couche externe) est constituée par la glycoprotéine VP7 surmontée de spicules formés par la protéine VP4. La protéine VP6 forme la couche intermédiaire ; la protéine VP2 constitue le core et interagit avec l'ARN viral (**Figure 2**). Les protéines VP1 et VP3 sont associées au génome et possèdent des activités enzymatiques indispensables à l'infectiosité du virion. Les protéines non structurales sont quant à elles fortement impliquées dans la virulence du virus et la pathogenèse de la diarrhée.

Pour chaque groupe, les rotavirus peuvent être classés en génotypes définis par les gènes codant pour deux antigènes de capside : VP7 (ou G pour *glycoprotéine*) et VP4 (ou P pour *protease-sensitive*). Au total, 27 génotypes G et 37 génotypes P ont pu être définis pour les RVA, dont 11 G et 12 P ont pu être identifiés chez des souches de rotavirus à l'origine d'une gastro-entérite chez l'homme.

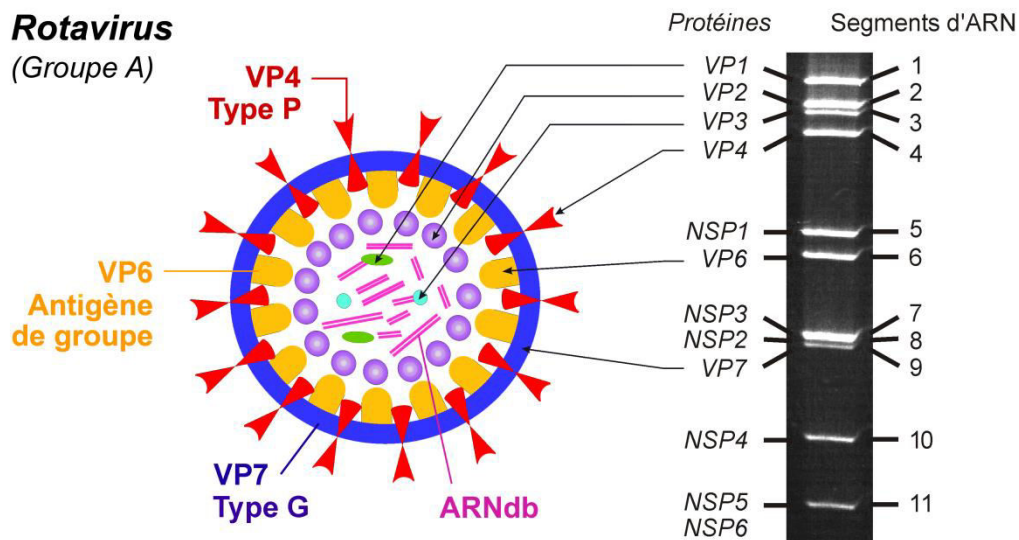


Figure 3. Organisation du génome et structure des rotavirus

1.3 Réplication

Les rotavirus humains peuvent être cultivés sur une assez grande variété de cellules, les plus classiques étant la lignée continue de rein de singe MA104 où leur réplication est rapidement obtenue en 10 à 12 heures, ou des lignées différenciées d'épithélium intestinal humain de type Caco-2 en 20 à 24 heures à 37°C. L'isolement en culture cellulaire est complexe et n'est pas envisageable comme technique de diagnostic en routine.

La multiplication, exclusivement cytoplasmique, présente plusieurs particularités (**Figure 4**) :

- la pénétration directe du virus sous la dépendance d'enzymes protéolytiques nécessaires au clivage de la protéine externe de capsid VP4 et à la perméabilisation de la membrane cellulaire,
- le virus apporte sa propre polymérase (VP1) qui est alors activée par la décapsidation partielle du virus,
- les processus d'assemblage et de maturation sont complexes : les 11 segments d'ARN positifs s'assemblent au niveau d'inclusions cytoplasmiques (viroplasmes),
- l'assemblage avec les protéines externes VP4 et VP7 conduit à la perte de l'enveloppe et à la libération de particules virales matures triple couche.

Au final, les particules virales sont libérées par lyse cellulaire pour les cellules intestinales non polarisées ou par déstabilisation de la bordure en brosse pour les cellules villositaires intestinales.

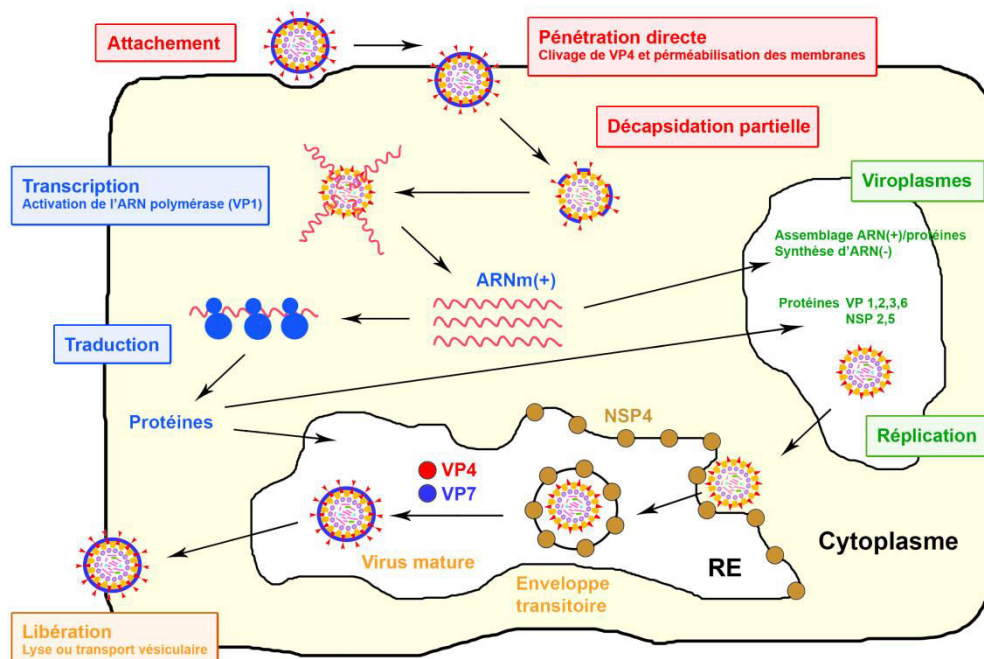


Figure 4. Schéma du cycle de réplication des rotavirus

2. Modes de transmission et épidémiologie

2.1 Transmission des rotavirus

L'homme est le réservoir naturel des rotavirus humains. Il contamine son environnement et le virus est présent en quantité importante dans l'environnement et les eaux usées. Les animaux sont les réservoirs de leurs rotavirus spécifiques. La contamination de l'environnement humain est un facteur permettant leur transmission à l'homme.

La transmission des rotavirus est avant tout féco-orale, interhumaine, véhiculée par les mains ou indirecte par les surfaces et objets contaminés par des fèces ou des vomissures. La capacité des rotavirus à survivre sur différentes surfaces et dans des conditions très variables ainsi que les faibles doses infectieuses nécessaires pour infecter l'homme contribue à leur rapide dissémination (90% de l'inoculum infectieux est retrouvé après 60 jours). En revanche, la contamination par l'eau semble moins importante compte-tenu de la perte d'infectiosité de rotavirus en milieu très humide mais ils peuvent être retrouvés dans l'eau du robinet pendant plus de 64 jours à 20°C. La voie aéroportée paraît également possible car ils peuvent survivre 9 jours dans les aérosols mais cela ne constitue pas une voie ordinaire de contamination.

La contamination par des animaux présentant une diarrhée à rotavirus reste un événement rare car il suppose d'une part que la souche animal puisse infecter l'homme, d'autre part qu'il existe un contact très étroit avec l'animal. Néanmoins, des cas de transmission inter-espèce ont été observés avec les bovins, les porcins et même les simiens en Afrique, Amérique du Sud et en Asie, et ont été à l'origine de réassortants entre l'homme et l'animal.

2.2 Épidémiologie des infections à rotavirus

La diarrhée aiguë est l'une des principales causes de morbidité et de mortalité parmi les enfants en bas âge dans le monde entier. Aujourd'hui, les rotavirus du groupe A sont responsables de 29 à 45% des hospitalisations pour diarrhées sévères et plus de 600.000 morts par an dans le monde, essentiellement dans les pays à bas et moyen revenus où la malnutrition et le mauvais état des structures sanitaires viennent grever le pronostic. En France, les infections à rotavirus sont responsables annuellement chez les enfants de moins de cinq ans de près de 140.000 consultations et 18.000 hospitalisations, les décès restant exceptionnels.

Les rotavirus sont un important problème de santé publique en milieu hospitalier car ils sont la première cause d'infection nosocomiale en milieu pédiatrique et représentent entre 27 et 32% des infections nosocomiales selon les pays. Chez l'enfant plus âgé et surtout chez l'adulte, les réinfections à RVA sont assez communes mais les manifestations cliniques sont peu importantes voire totalement absentes compte tenu de la persistance d'une forte immunité acquise pendant l'enfance. L'adulte infecté constitue néanmoins un vecteur de transmission pour les plus jeunes du fait de cette présentation pauci-symptomatique de la maladie.

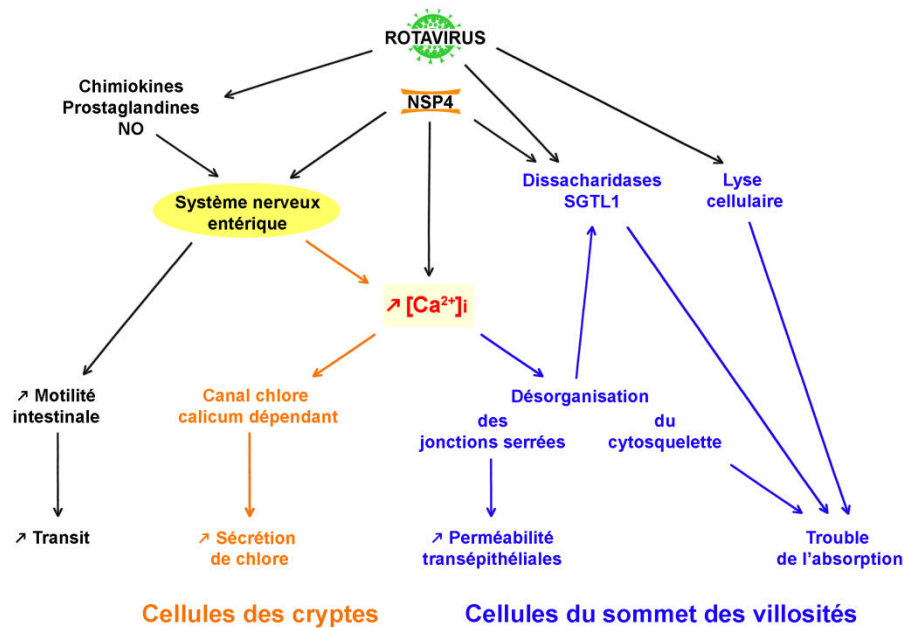
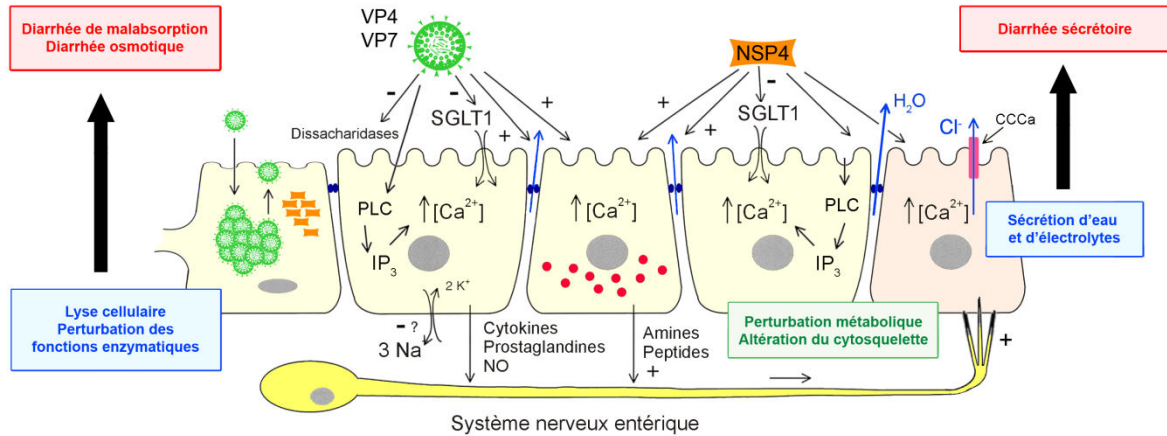
Bien qu'il y ait une diversité considérable de souches de rotavirus, les diverses études menées à travers le monde montrent que cinq combinaisons génotypiques sont responsable

à elles seules de plus de 90% des infections à rotavirus chez l'homme : les souches G1P[8], les plus fréquentes (>50%), G2[P4], G3P[8], G4P[8] et G9P[8]. Récemment, les souches G12P[8] ont également émergées dans de nombreux pays. Des génotypes G inhabituels tels que G5, G6, G8 ou G10 émergent dans quelques régions du monde, notamment dans les régions tropicales, et sont pour certains des rotavirus animaux qui ont pu passer à l'homme parfois grâce à des réassortiments homme-animal.

3. Physiopathologie

In vivo, les rotavirus ont un fort tropisme pour les entérocytes matures de l'intestin grêle où ils induisent des lésions à l'origine d'une diarrhée multifactorielle à triple mécanisme. Sous l'effet des protéines virales, la multiplication du rotavirus dans les entérocytes aboutit à la dérégulation de leurs fonctions, puis à leur destruction, entraînant une diarrhée par malabsorption, une diarrhée osmotique (due à la présence de résidus glucidiques dans la lumière intestinale) et une diarrhée sécrétoire (Figure 9).

La pathogenèse de cette diarrhée est liée aux diverses protéines virales qui jouent un rôle dans l'efficacité de la réplication virale (VP3, NSP2, VP6 et NSP3), l'inhibition de la synthèse des protéines de l'hôte (NSP3), la diffusion extra-intestinale du virus (NSP3 et VP6), l'entrée du virus dans la cellule (VP4 et VP7) et la régulation de l'induction d'interféron (NSP1). L'induction des sécrétions intestinales semble, quant à elle, liée d'une part à la protéine virale non structurale NSP4 qui, telle une entérotoxine, agit à distance sur les cellules non infectées et induit en particulier une augmentation du calcium intracellulaire responsable de l'activation de pompes membranaires ; d'autre part, l'activation du système nerveux entérique par des substances virales ou cellulaires encore non identifiées.



4. Clinique

Les rotavirus du groupe A ont un pouvoir pathogène entérique très important. Cependant les manifestations cliniques d'une infection à rotavirus varient fortement d'un individu à l'autre et notamment en fonction de l'âge et de l'exposition antérieure au virus allant de l'infection asymptomatique à des manifestations sévères avec des diarrhées de malabsorption et/ou sécrétoires. La période d'incubation est courte, inférieure à 48 heures, les premiers symptômes apparaissant en général entre 1 et 4 jours après la contamination. L'excrétion du virus dans les selles peut précéder de quelques jours l'apparition des signes cliniques et persister encore 8 à 10 jours après la disparition des symptômes.

Les rotavirus peuvent être responsables de gastroentérites aiguës dans tous les groupes d'âge mais celles-ci sont plus communément retrouvées chez le jeune enfant entre 6 mois et 2 ans chez qui elles sont par ailleurs volontiers plus sévères. L'expression clinique de l'infection chez le nouveau-né et le prématuré diffère de celle du nourrisson par la rareté de la diarrhée et de la déshydratation, la fréquence de la distension abdominale et la survenue

plus fréquente d'entérocolite ulcéro-nécrosantes. En revanche, les infections asymptomatiques à rotavirus sont habituelles chez l'enfant de 1 à 3 mois du fait de l'immunité passive maternelle acquise au cours du troisième trimestre de grossesse et de l'allaitement mais également de l'immaturité intestinale. La symptomatologie réduite ou absente chez l'enfant plus âgé et l'adulte est généralement le résultat d'une immunité acquise secondaire à une ou des infections antérieures.

Chez le nourrisson et le jeune enfant, la maladie est d'apparition brutale et associe typiquement une diarrhée aqueuse non glairo-sanglante parfois explosive, des vomissements pouvant précéder la diarrhée, des douleurs abdominales et une hyperthermie modérée à 38°C. La consistance des selles est variable allant de la simple selle molle à l'émission de liquide à peine teinté de matières fécales, souvent de couleur verdâtre. L'intensité de la diarrhée, source de déshydratation, est extrêmement variable puisque la fréquence des selles peut osciller entre 1-2 à 15-20 selles par 24 heures avec un maximum atteint en 48 heures.

5. Diagnostic virologique

Les symptômes cliniques des gastro-entérites à rotavirus ne sont pas suffisamment spécifiques pour permettre le diagnostic de la maladie, même si la prévalence du rotavirus et la sévérité du tableau clinique sont deux éléments en faveur d'une étiologie à rotavirus. Le diagnostic repose exclusivement sur des techniques de détection directe de rotavirus dans les selles.

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.

5.2 Diagnostic direct

Outre la microscopie électronique, de nombreuses techniques ont été développées pour détecter les rotavirus directement dans les selles : ce sont soit des techniques conventionnelles, soit des techniques de biologie moléculaire.

5.2.1 Techniques conventionnelles

Les techniques immuno-enzymatiques (EIA, ELISA) de détection des antigènes de rotavirus directement dans les selles sont de loin les plus utilisées en pratique courante et concordent avec les techniques biologiques moléculaires dans près de 94 % des cas. Ces techniques ont pour point commun l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine de groupe VP6 et spécifiques des RVA. Très répandus, les tests immuno-chromatographiques

(ICG) se présentent sous forme de test unitaire. Leur sensibilité est similaire aux tests ELISA mais leur interprétation reste subjective. Ils présentent l'avantage d'être faciles et rapides d'utilisation (10 à 15 minutes), ne nécessitant donc pas de personnel qualifié. Leur utilisation est particulièrement adaptée au coup par coup, aux situations d'urgence ou au lit du malade.

5.2.2 Techniques de biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire sont plus souvent utilisées en épidémiologie pour caractériser les souches virales après extraction de l'ARN viral à partir d'une suspension à 20 % de selles dans un tampon approprié. Parmi la variété de techniques disponibles, l'amplification génique par transcription inverse ou RT-PCR permet à la fois la détection du génome viral directement dans les selles mais également de déterminer les génotypes G et P de rotavirus par couplage avec le séquençage. Ces dernières années, des techniques d'amplification dite « en temps réel » ou RT-qPCR ont été développées. Ne nécessitant pas de révélation sur gel d'électrophorèse, l'amplification de courts fragments d'environ 100 pb à l'aide de rapporteurs

6. Traitement antiviral

Il n'existe à ce jour aucun traitement antiviral contre rotavirus. La prise en charge adaptée, notamment la réhydratation, permet d'obtenir une guérison en 5 à 7 jours. La déshydratation mixte constitue la principale complication tout particulièrement chez le nourrisson chez lequel elle doit être systématiquement recherchée, notamment par la pesée.

7. Prophylaxie-vaccinations

La prévention de la transmission du rotavirus 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 rotavirus entre individus. Le lavage soigneux et systématique des mains permettent de réduire considérablement le taux d'incidence des infections. Le lavage des mains à l'aide de savon liquide antiseptique ou non doit être systématique après être allé à la selle, le nettoyage des fesses d'un nourrisson diarrhéique ou le contact avec des vomissures mais également avant de préparer les aliments. La désinfection des objets et des surfaces souillés ou manipulés doit également être systématique compte-tenu de la résistance de rotavirus sur toutes sortes de surface.

Divers vaccins contre rotavirus ont été développés depuis le début des années 2000. Deux vaccins sont actuellement commercialisés et s'administrent par voie orale sous forme de solution buvable. Le schéma de vaccination comporte deux ou trois doses préconisées avant l'âge de 6 mois afin de limiter le risque connu d'invagination intestinale aiguë chez le nourrisson. Le premier est un vaccin monovalent (Rotarix™, GlaxoSmithKline) composé d'une souche atténuée dérivée d'un rotavirus humain de génotype G1P[8]. Le second est un vaccin recombinant pentavalent (RotaTeq™, Sanofy-Pasteur-MSD) basée sur la recombinaison d'un rotavirus bovin de génotype G6P[5] avec des rotavirus humains de génotype G1, G2, G3, G4 et P[8]. Ils permettent d'obtenir une protection vis-à-vis des formes

sévères dans plus de 90% des cas. D'autres vaccins à moindre coût et mieux adaptés à l'épidémiologie des rotavirus des pays en voie de développement ont été plus récemment développés.

8. Points clefs à retenir

- les rotavirus du groupe A (RVA) sont les agents principaux des gastro-entérites aiguës virales de l'enfant en l'absence de vaccination
- les RVA sont des virus ARN double brin segmentés non enveloppés et possèdent une capsidie icosaédrique formée d'une triple couche de protéines
- les RVA peuvent être classés selon leurs combinaisons génotypiques G (gène VP7) et P (gène VP4) dont les génotypes les plus fréquents sont G1/G3/G4/G9/G12P[8] et G2P[4]
- les rotavirus ont un fort tropisme pour les entérocytes matures de l'intestin grêle où ils induisent des lésions à l'origine d'une diarrhée multifactorielle à triple mécanisme : diarrhée par malabsorption, osmotique et sécrétoire
- la période d'incubation est courte (<2 jours), les premiers symptômes apparaissant entre 1 et 4 jours après la contamination
- le diagnostic virologique s'effectue soit à l'aide de tests rapides immunochromatographiques soit par des techniques de biologie moléculaire (RT-qPCR)
- le traitement est exclusivement symptomatique, en particuliers l'hydratation
- la prévention des GEA à rotavirus réside dans le lavage des mains et des surfaces souillées
- la vaccination est possible à l'aide de vaccins atténués oraux qui permettent de limiter les formes graves des infections à rotavirus