

NOUVEAUTES SUR LES DIARRHEES VIRALES

Bruno POZZETTO

Laboratoire de Bactériologie-Virologie

GIMAP EA3064

Faculté de Médecine Jacques Lisfranc

et CHU de Saint-Etienne

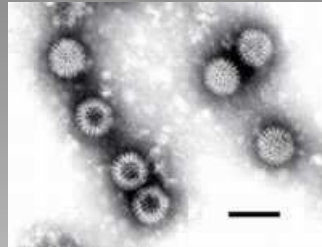
Bruno.Pozzetto@univ-st-etienne.fr

Principales nouveautés

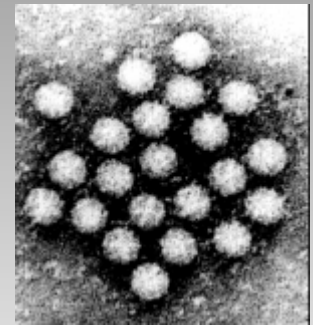
- Virus impliqués dans les gastro-entérites
- Aspects physiopathologiques (rota/noro)
- Aspects épidémiologiques
- Aspects diagnostiques (calici/astro)
- Prévention vaccinale (rotavirus)

Principaux virus responsables de diarrhées

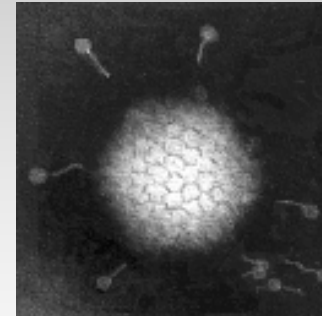
- Rotavirus
- Calicivirus



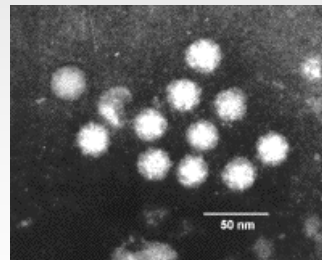
- Norovirus (dont virus de Norwalk) →
 - Sapovirus

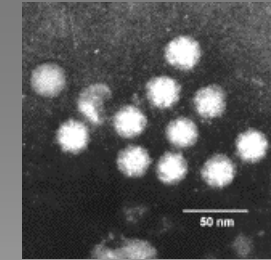
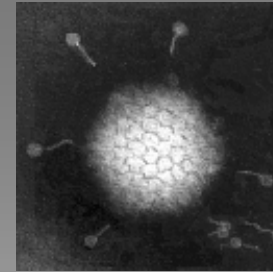
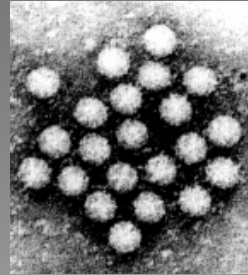
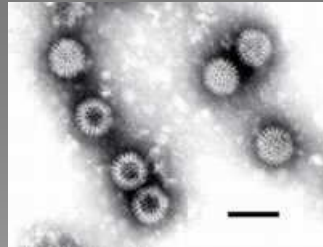


- Adenovirus 40 et 41 →



- Astrovirus →





ROTAVIRUS

CALICIVIRUS

ADENOVIRUS ENTERIQUES

ASTROVIRUS

Virologie	<i>Reoviridae</i> ARN db segmenté NON enveloppé	<i>Caliciviridae</i> ARN sb NON enveloppé	<i>Adenoviridae</i> ADN db NON enveloppé	<i>Astroviridae</i> ARN sb NON enveloppé
Taille	60 – 80 nm	27 – 38 nm	70 – 90 nm	27 – 34 nm
Age	6 mois – 2 ans	Tous âges	2 – 10 ans	< 5 ans et sujets âgés
Saisonnalité	Hiver	Toute l'année	Toute l'année	Hiver
Durée d'incubation	24 - 72 h	12 – 48 h	8 – 10 jours	1 – 5 jours
Déshydratation	Fréquente	Rare	Rare	Rare

Autres virus responsables de diarrhées

- Virus Aïchi (*Picornaviridae*)
- Parechovirus (*Picornaviridae*)
- Coronavirus (*Coronaviridae*)
- Picobirnavirus, picotrînavirus
- ...

NB : les Enterovirus, malgré leur nom, sont rarement à l'origine de gastro-entérites (idem pour les adenovirus non-F)

ROTAVIRUS

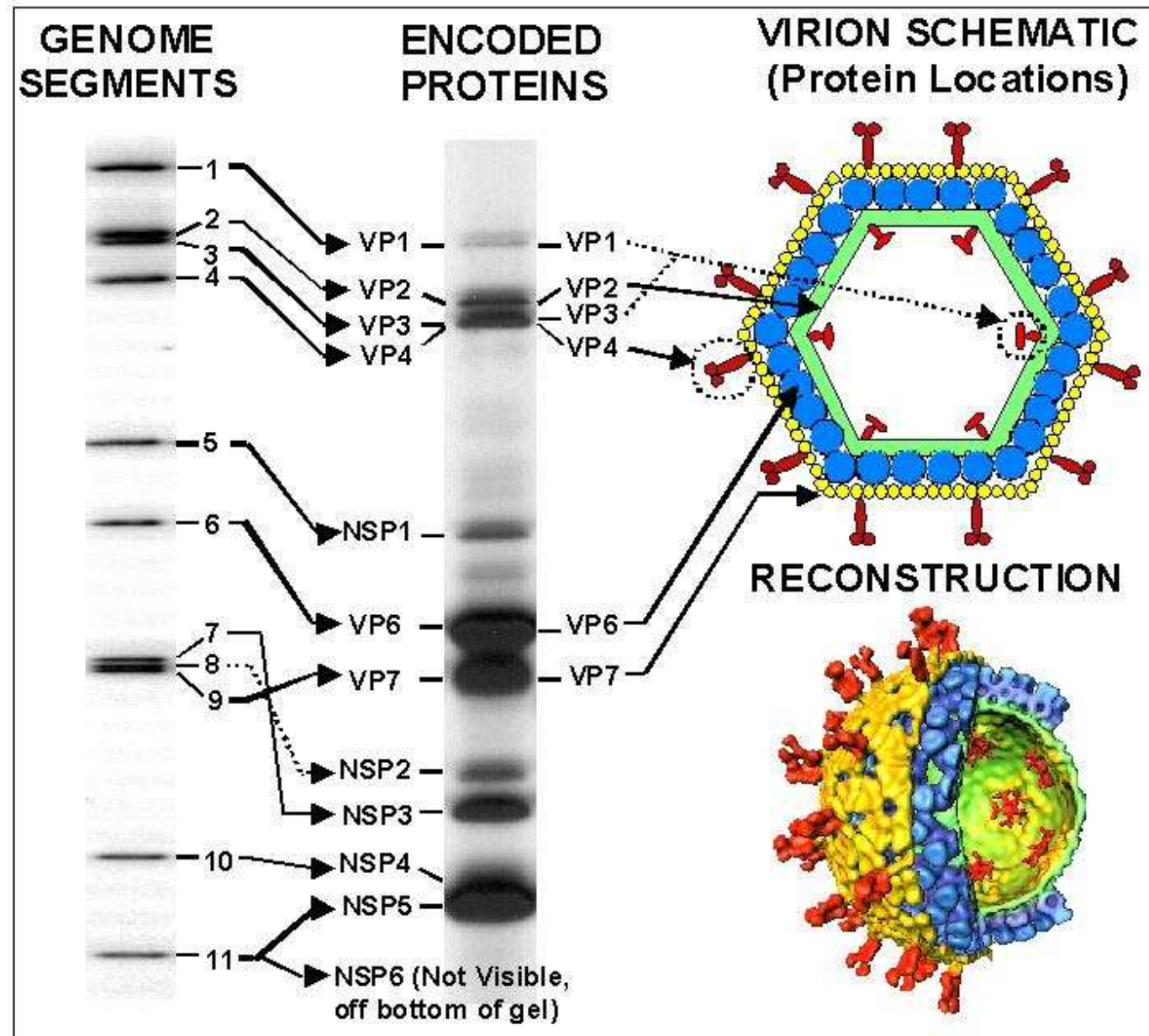
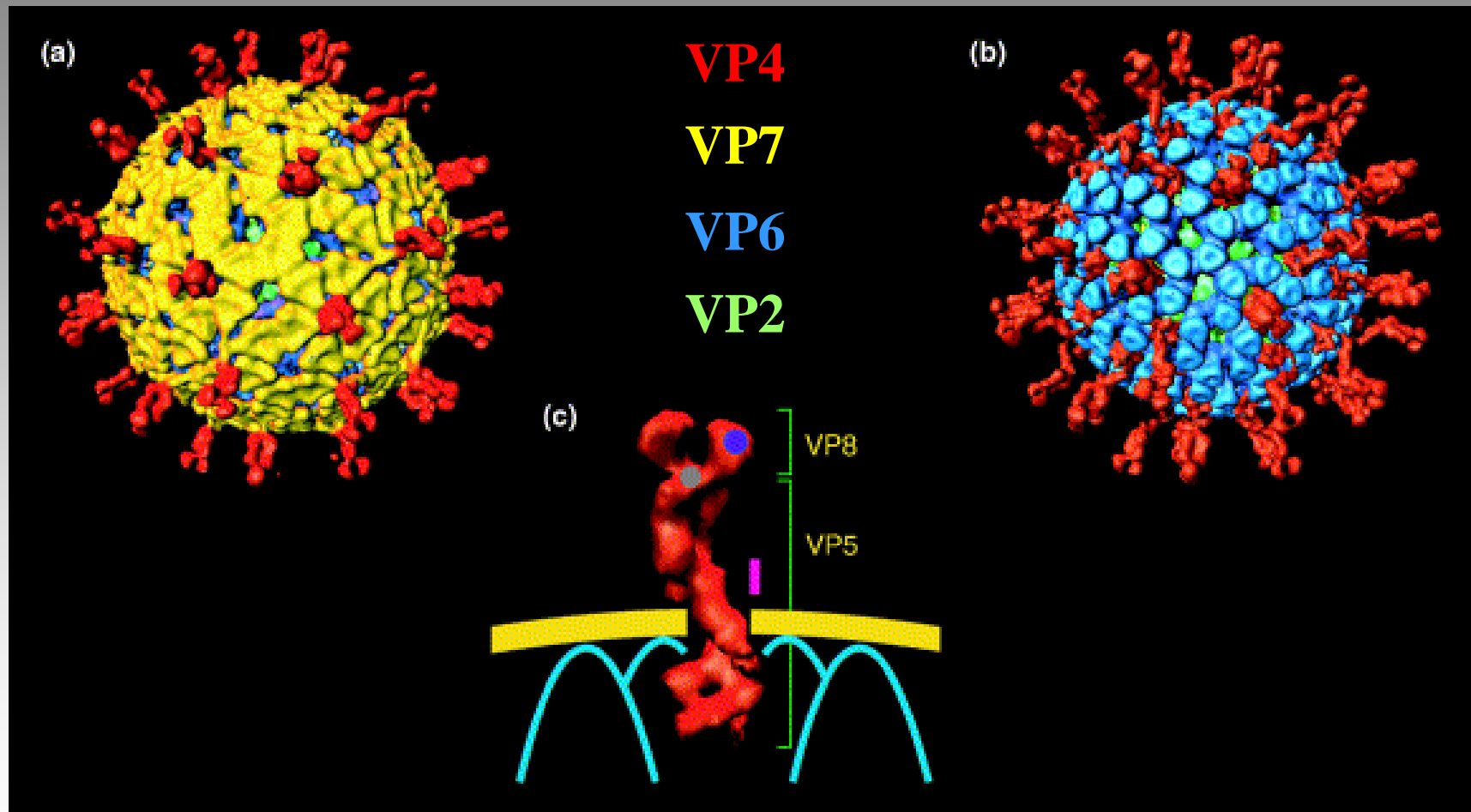


Figure supplied by Eric Mossel , Mary Estes and Frank Ramig

http://www.iah.bbsrc.ac.uk/dsRNA_virus_proteins/Table%2004%20Rotavirus-SA11%20figure.doc

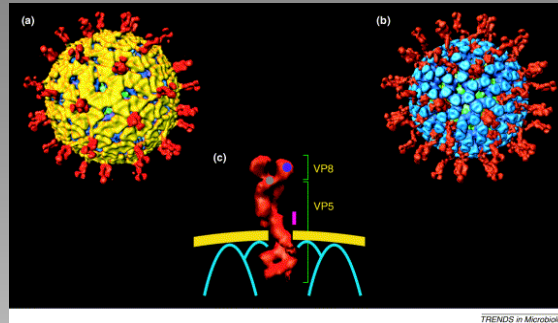
Physiopathologie des diarrhées à rotavirus : entrée dans la cellule



TRENDS in Microbiology

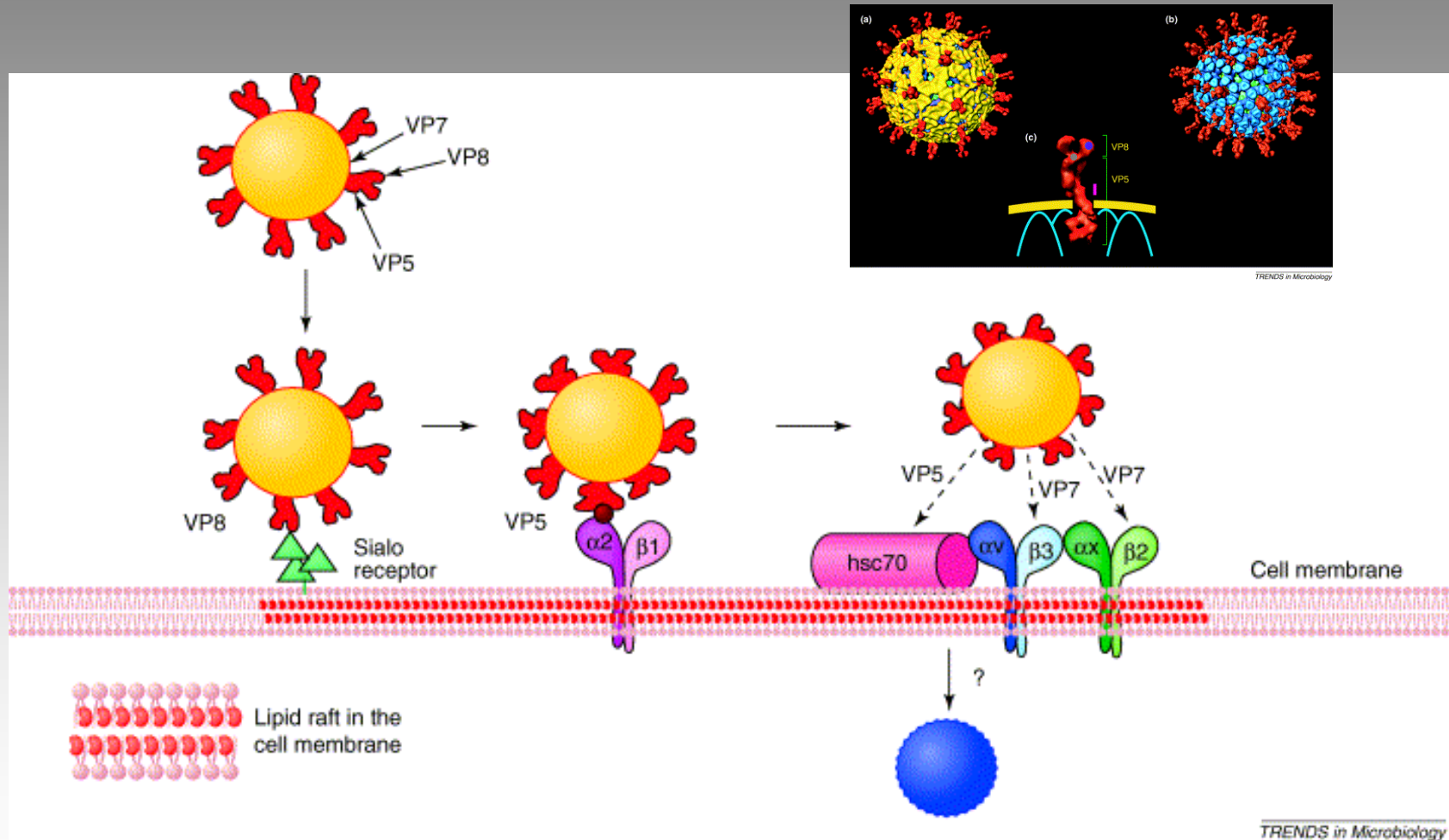
S Lopez & CF Arias, Trends Microbiol., 2004, 6, 271-8

Physiopathologie des diarrhées à rotavirus : entrée dans la cellule



Virus	Binding receptor(s) ^a	Post-binding receptor(s) ^a	Raft-associated function
Adenovirus	CAR, SA, HS	$\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 5$	—
Epstein–Barr virus	CD21	HLA-II, $\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 5$, $\alpha 5 \beta 1$	Entry
Coxsackievirus A9	$\alpha v \beta 3$	GRP78, MHC-I	Entry
Echovirus types 1 and 11	DAF, HS	$\alpha 2 \beta 1$, $\alpha v \beta 3$	Entry, traffic
Foot and mouth disease virus	SA	$\alpha v \beta 1$, $\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 6$, $\alpha 5 \beta 1$	—
Herpes simplex virus 1 and 2	HS	HVEM, nectin 1, 2	Entry, budding
Human herpes virus 8	HS	$\alpha 3 \beta 1$	—
Human immunodeficiency virus 1 ^c	CD4, Gal-C	CCR5, CXCR4	Entry, budding
Murine polyomavirus	SA	$\alpha 4 \beta 1$	—
Respiratory syncytial virus	HS	ICAM1	—
Reovirus	SA	JAM	—
Rotavirus ^d	SA, $\alpha 2 \beta 1$	$\alpha 2 \beta 1$, $\alpha v \beta 3$, $\alpha x \beta 2$, hsc70, $\alpha 4 \beta 1$	Entry, assembly

Physiopathologie des diarrhées à rotavirus : entrée dans la cellule

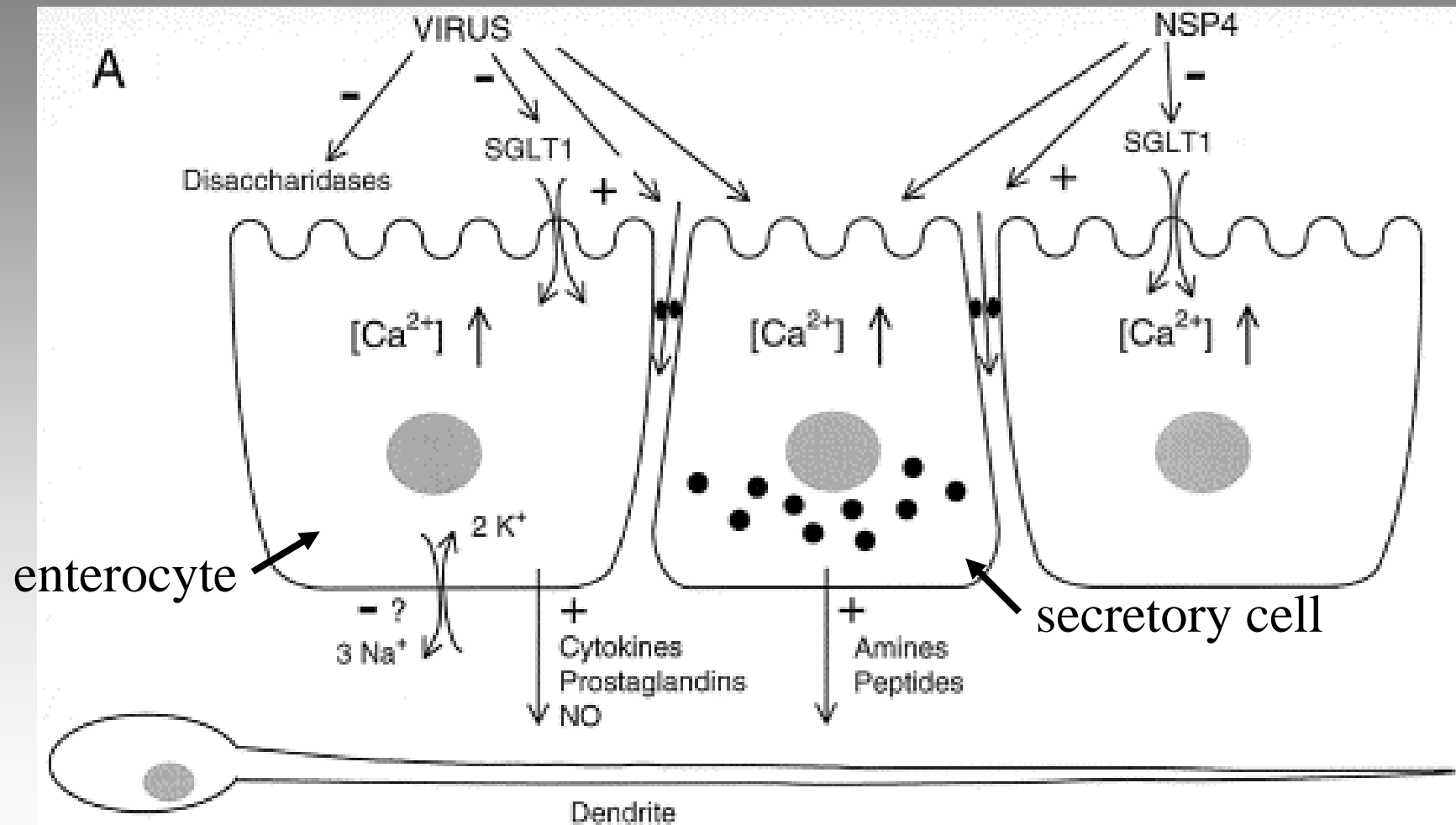


S Lopez & CF Arias, Trends Microbiol., 2004, 6, 271-8

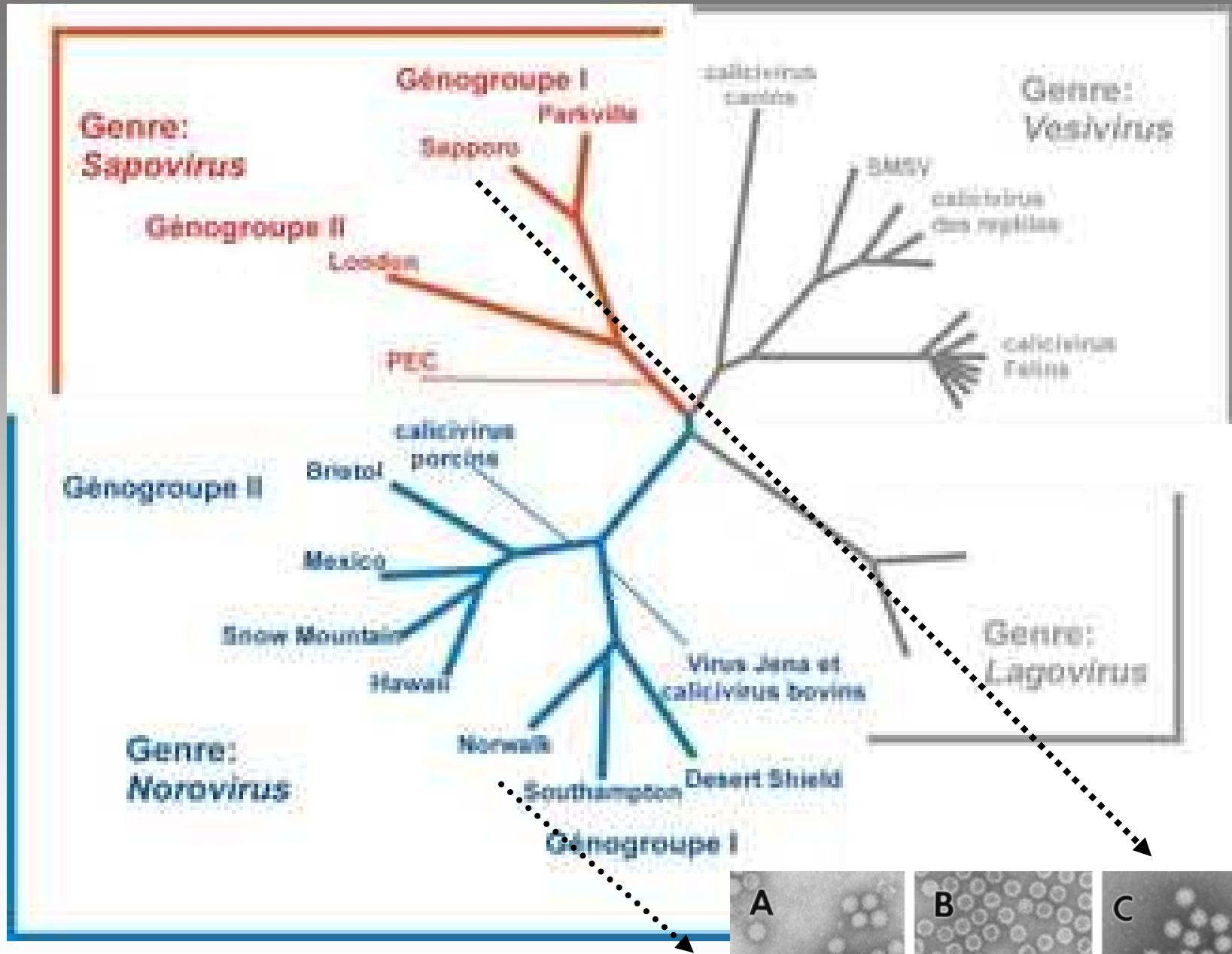
Physiopathologie des diarrhées à rotavirus : mécanisme de la diarrhée

- Tropisme pour les entérocytes matures du sommet et du milieu des villosités de l'intestin grêle
- Pas ou peu de lésions histologiques (épithélium intact)
- Diarrhée osmotique +++
 - inhibition des disaccharidases (maldigestion)
 - inhibition du symport sodium-glucose SGLT1 (maladsorption)
- Diarrhée sécrétoire (via NSP4) ?
 - mobilisation du calcium intracellulaire
 - d'où libération de médiateurs au pôle basal des entérocytes et des cellules sécrétoires
 - activation du système nerveux entérique
 - stimulation de la sécrétion nette de chlore au niveau des villosités
- NSP4 = première entérotoxine virale

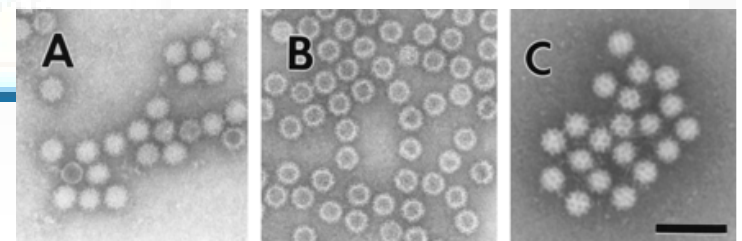
Physiopathologie des diarrhées à rotavirus : mécanisme de la diarrhée



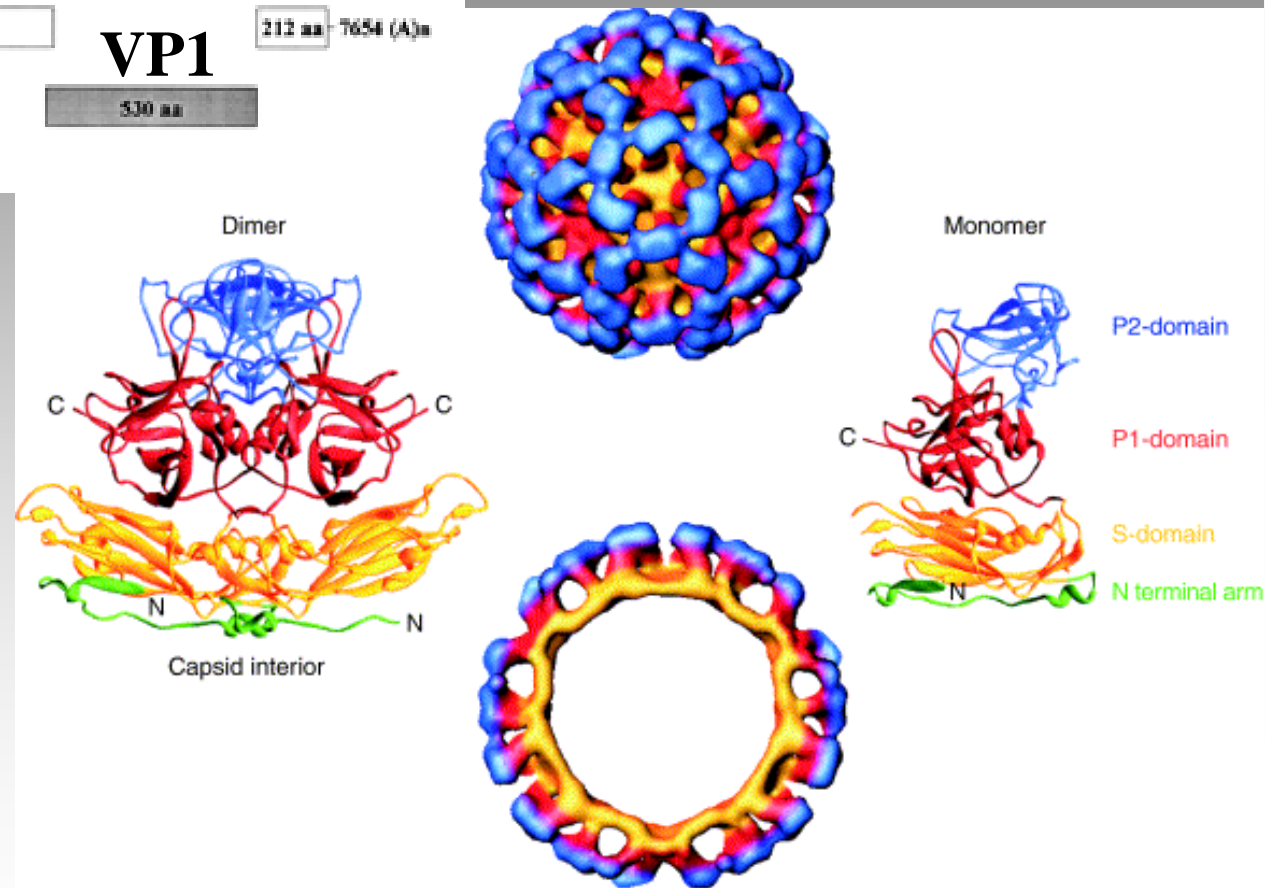
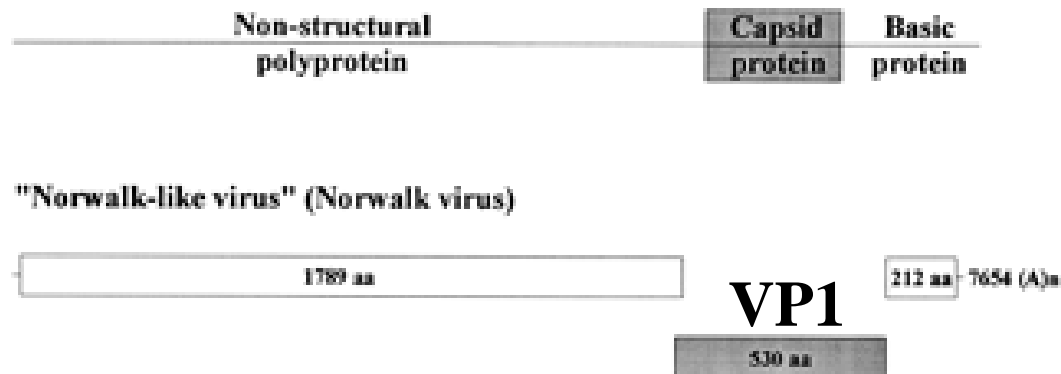
Calicivirus



Caliciviridae : 4 genres



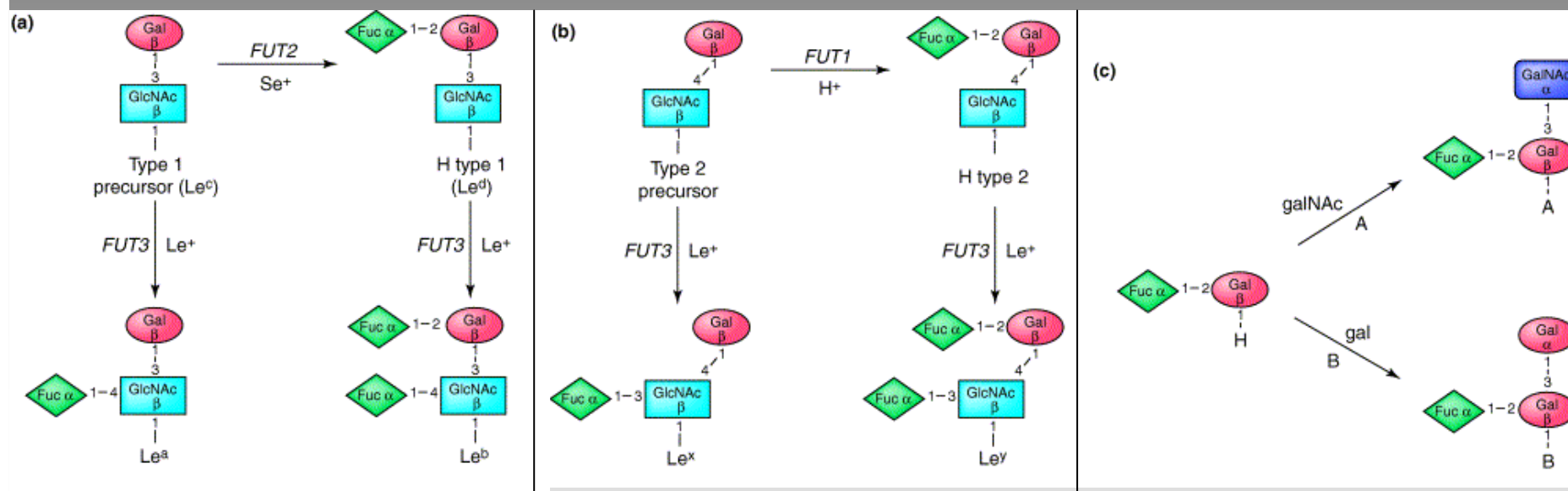
Physiopathologie des diarrhées à norovirus : entrée dans la cellule



TRENDS in Microbiology

Hutson, Atmar and Estes, Trends in Microbiology, 2004, 12, 279-287

Physiopathologie des diarrhées à norovirus : entrée dans la cellule



Virus Name	Accession Number	Carbohydrate-binding ^b													
		G	gc	Outbreak Site	Year	Le ^c	H1	Le ^a	Le ^b	H2	Le ^x	Le ^y	H3	A	B
Norwalk	M87661	I	1	Norwalk, OH, USA	1968	o	+	o	+	+	o	+	+	+	o
Hawaii	U07611	II	1	Hawaii, USA	1971	nd	o	o	o	nd	nd	nd	o	o	o
Snow Mountain	AY134748	II	2	Snow Mountain, CO, USA	1976	nd	o	o	o	nd	nd	nd	o	o	+s
Mexico	U22498	II	3	Mexico City, Mexico	1988	nd	+s	nd	+s	nd	nd	nd	nd	+s	+s
Grimsby	AJ004864	II	4	Grimsby, UK	1995	o	+	o	+	+	o	+	nd	+sr	+sr
VA387	AY038600	II	4	Virginia, USA	1998	nd	+s	o	+s	nd	o	+s	nd	+	+
MOH	AF397156	II	5	Three cities in Hungary	1999	nd	+s	o	+s	nd	o	n	nd	+	+
VA207	AY038599	II	na	Virginia, USA	1997	nd	o	+s	o	nd	+s	n	nd	o	o

Hutson, Atmar and Estes, Trends in Microbiology, 2004, 12, 279-287

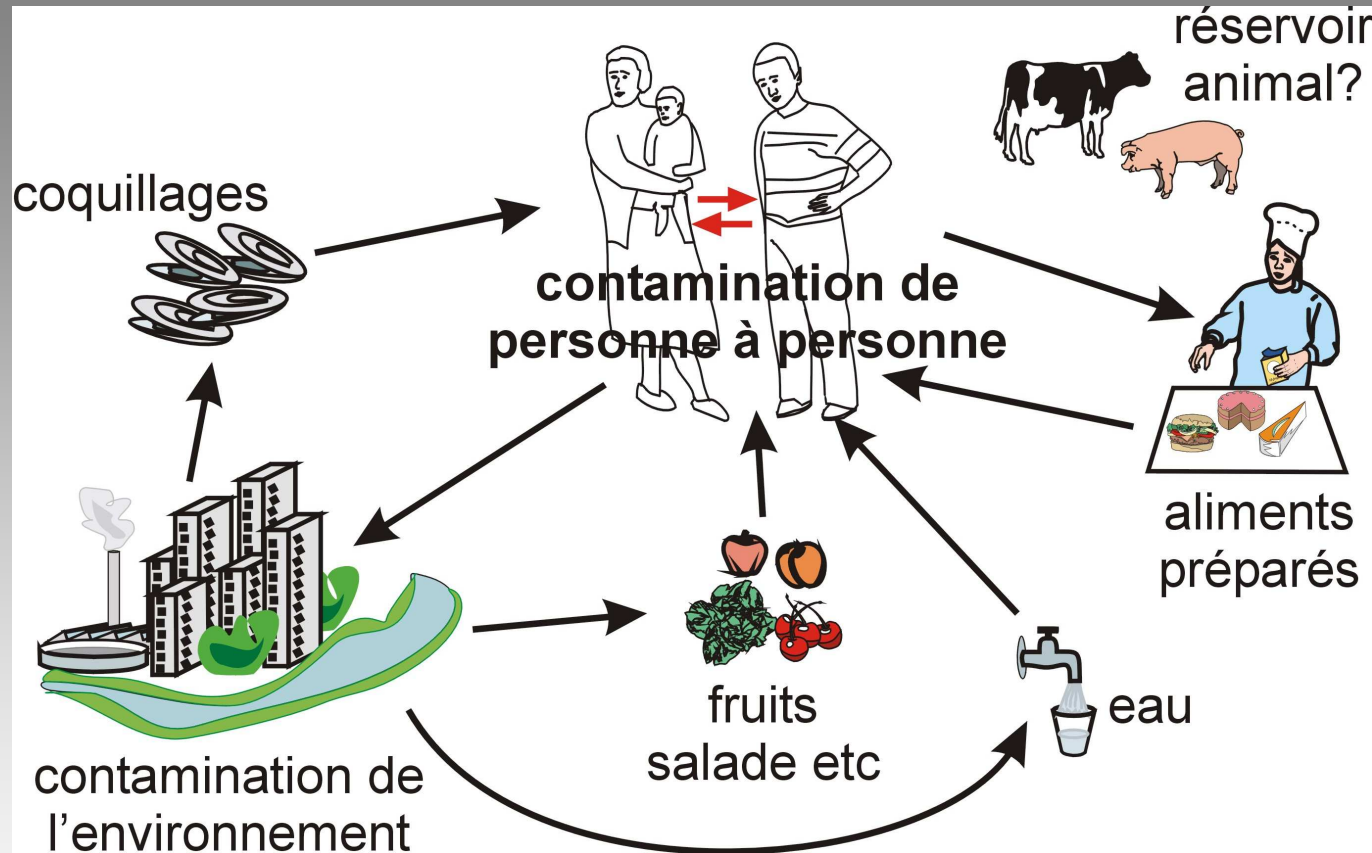
Physiopathologie des diarrhées à norovirus : entrée dans la cellule

- Toute personne, quel que soit son phénotype ABO ou Lewis, peut être infectée par un norovirus.
- En revanche, une souche donnée ne peut pas infecter tous les individus :
 - sujets non sécréteurs résistants à la souche Norwalk mais sensibles à la souche VA207
 - sujets du groupe B résistants à la souche Norwalk mais sensibles à la souche Snow Mountain (qui n'infecte pas les sujets A et O)
 - sujets de groupe O résistants à la souche MOH
- Les sujets résistants peuvent être porteurs sains et contribuent à disséminer l'infection.
- Intérêt majeur de ce polymorphisme à titre prophylactique et thérapeutique.

Lindersmith L. et al., Nature Med., 2003, 9, 548-53

Ruvoën-Clouet N & Le Pendu J., Virologie, 2004, 425-34

Modes de transmission



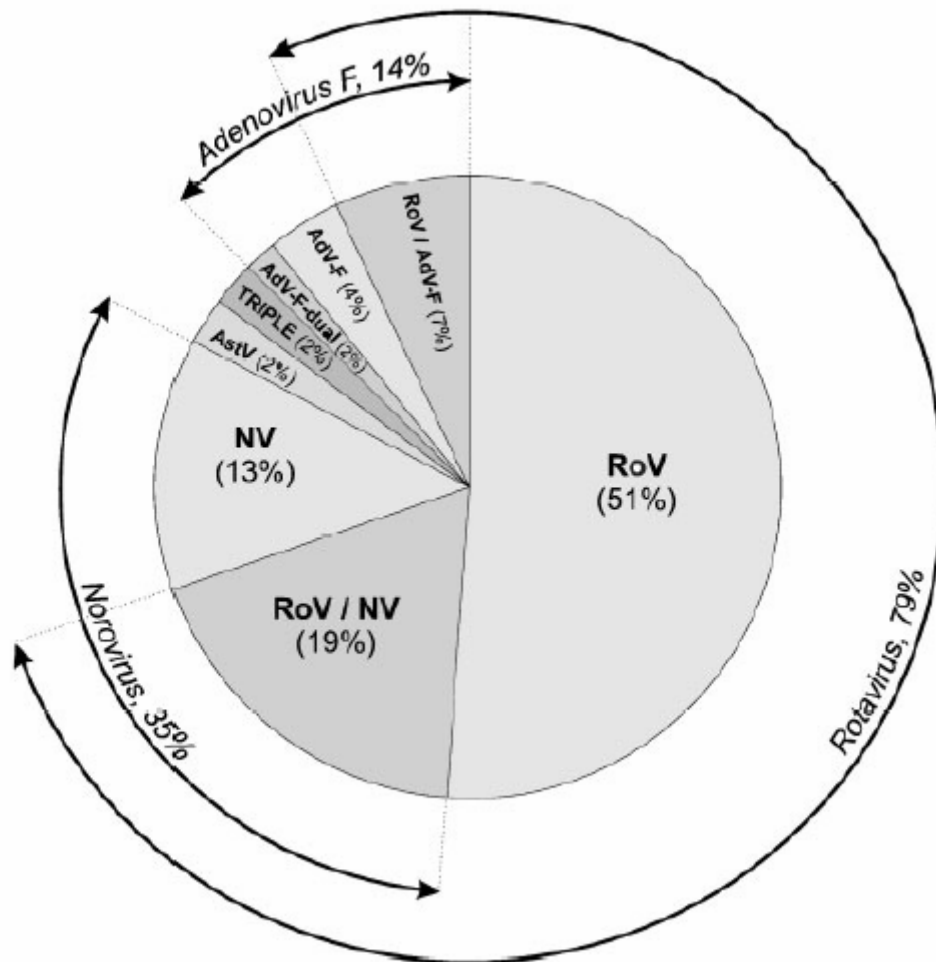
Pothier P, CHU de Dijon

Essentiellement fécal-oral :

- communautaire
- nosocomial

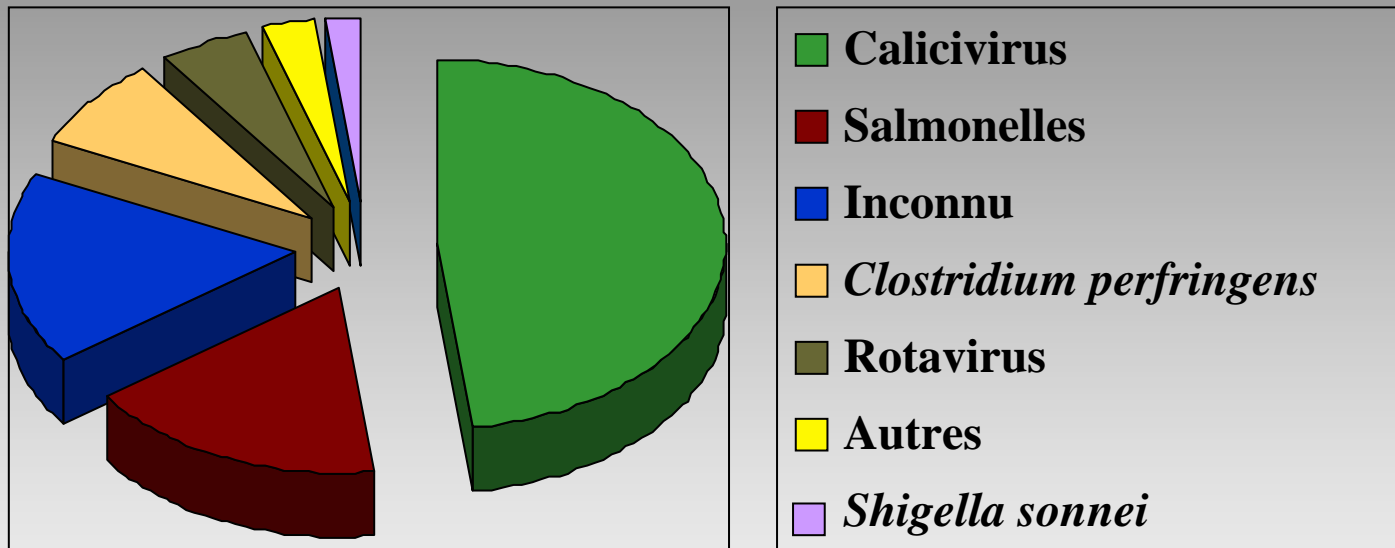
Possible transmission par aérosols

Agents étiologiques des gastro-entérites en pédiatrie



- 217 enfants hospitalisés à Berlin entre février 2001 et janvier 2002 pour GEA
- Diagnostic par PCR
- 129 + pour au moins 1 virus
 - 79% rotavirus
 - 35% norovirus
 - 14% adénovirus
 - 4% astrovirus
- 29% de co-infections

Agents étiologiques des gastro-entérites en gériatrie



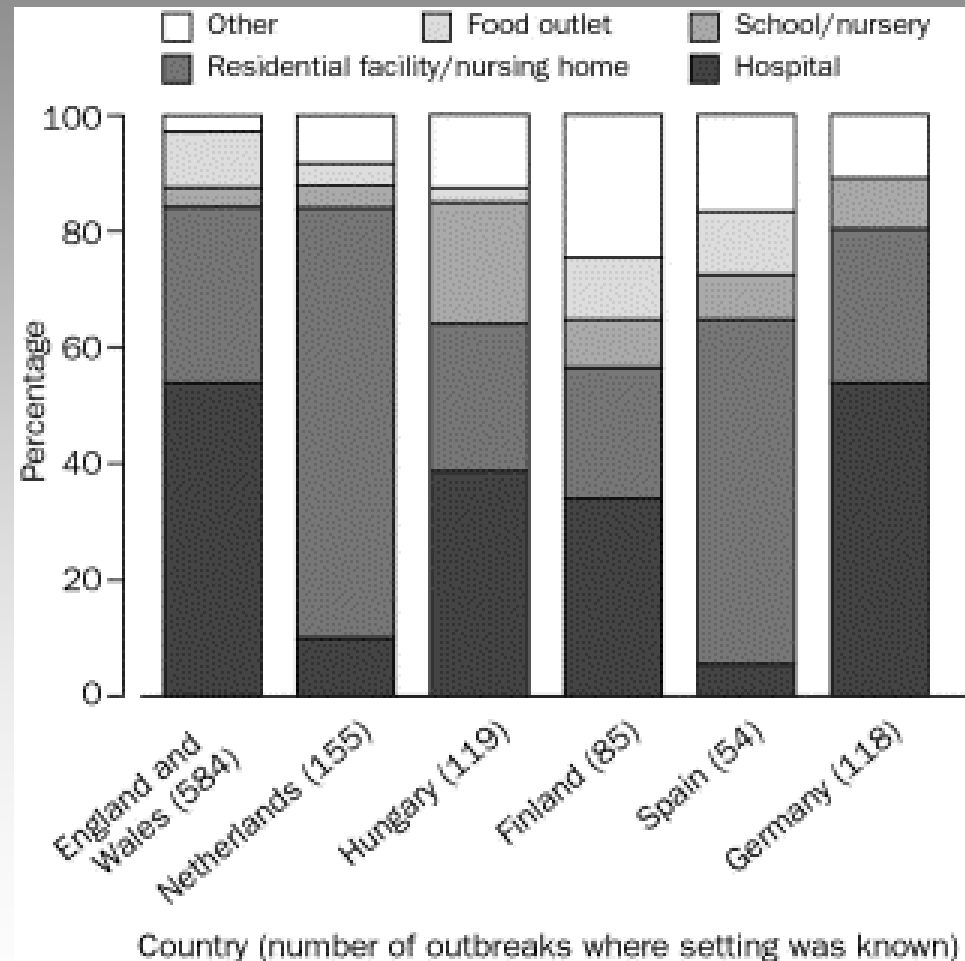
**Répartition des agents infectieux impliqués
dans 282 épidémies de gastroentérites en Angleterre
et au Pays de Galles entre 1992 et 1994**

Impact en santé publique des infections à calicivirus

- 90% des épidémies non bactériennes survenant dans les collectivités
- 50% des épidémies d'origine alimentaire aux USA
- 25 personnes touchées en moyenne par épidémie
- aux USA, 23 M de cas annuels, 50.000 hospitalisations, 300 décès
- en France, 500.000 consultations/an
- en GB, coût de 72 M de livres pour les seules épidémies dans les institutions de santé entre avril 2002 et mars 2003

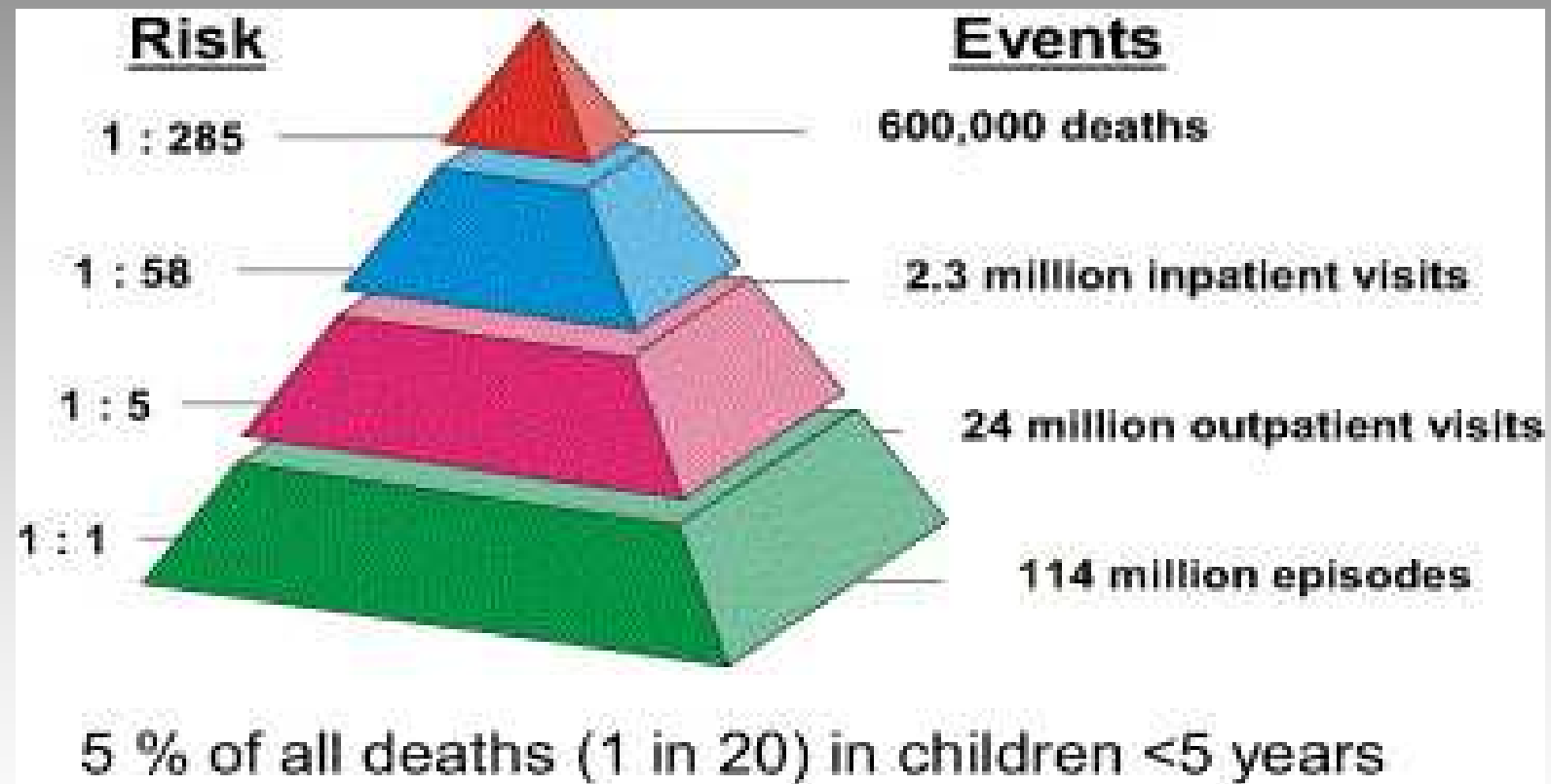
Kolhi E et al, Virologie, 2005, 9, 93-106

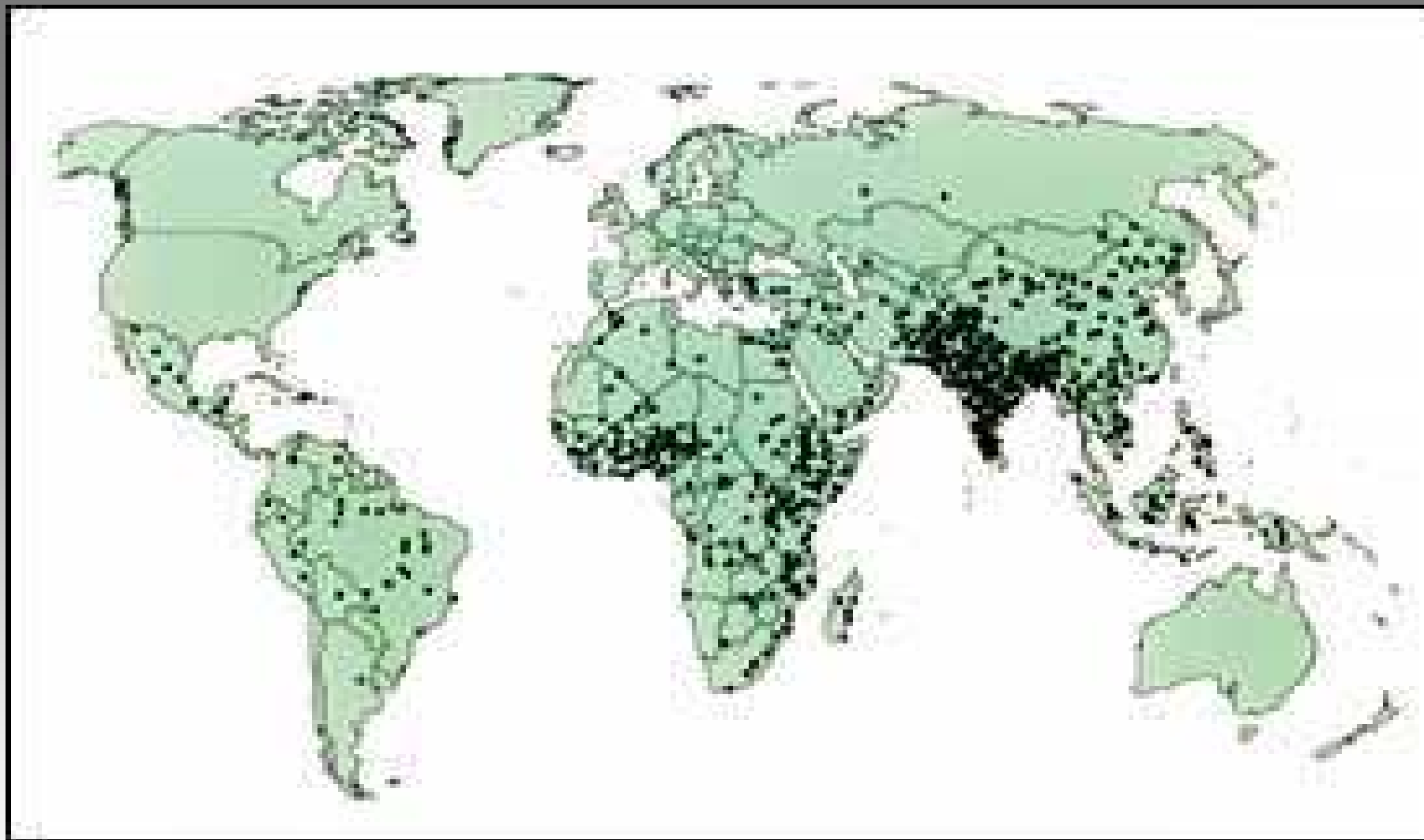
Lieu de survenue d'épidémies à norovirus en 2002 dans 6 pays européens



Lopman B et al., Lancet, 2004, 363, 682-8

Impact en santé publique des infections à rotavirus dans le monde





Chez les enfants de moins de 5 ans, estimation annuelle du nombre de cas de GEA entre 1996 et 2000 : 111 millions de cas et 440.000 décès. Chaque point représente 1200 décès annuels.

Parashar UD et al, Emerg Infect Dis, 2003, 9, 565-72

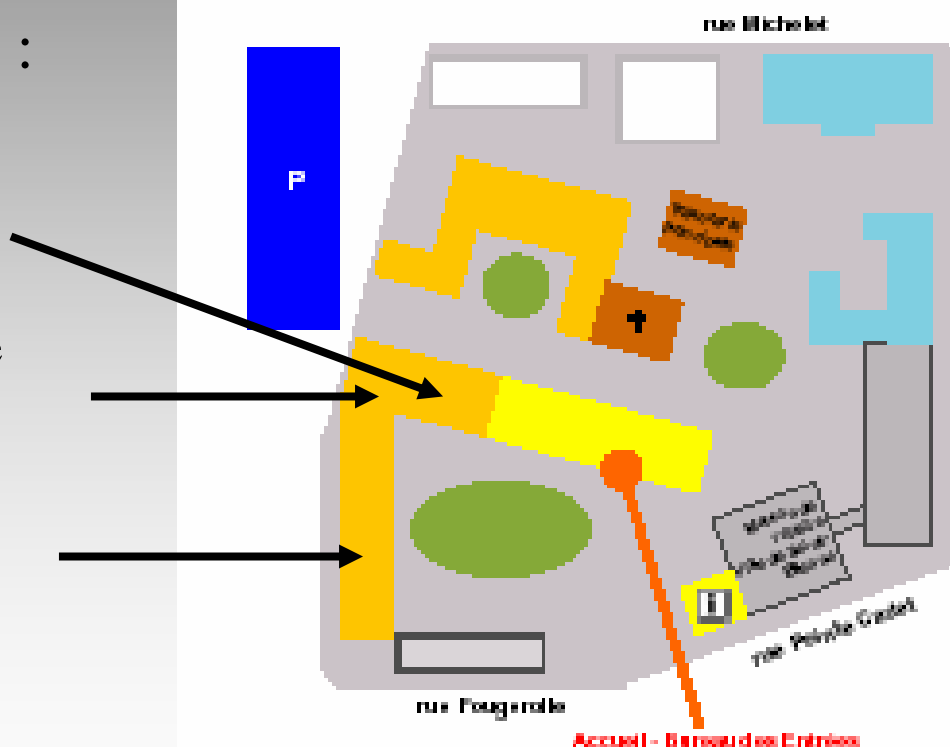
Epidémie stéphanoise nosocomiale novembre 2002 :objectifs

- Décrire les caractéristiques épidémiologiques et cliniques d'une épidémie de gastro-entérite qui a atteint 5 services de gériatrie au CHU de Saint-Etienne en novembre 2002
- Evaluer les répercussions médico-économiques pour les soignés et les soignants
- Prouver l'origine virale de cette épidémie

Epidémie stéphanoise novembre 2002 : **sujets, matériels et méthodes (1)**

- 5 services impliqués :
150 lits

- 2 services de longue durée (60 lits)
- 1 service de soins de suite-rééducation (30 lits)
- 2 services de court séjour (60 lits)



Plan de l'hôpital de la Charité

Epidémie stéphanoise novembre 2002 :

sujets, matériels et méthodes (2)

- Patients impliqués dans les 5 unités touchées par l'épidémie :
 - $n = 182$
 - âge moyen : 86,7 ans
 - extrêmes : 70-105 ans
 - sexe ratio F/H : 80,8 %
- Soignants : médecins/internes, cadres et infirmier(es), aides-soignantes, ASH, autres
 - $n = 157$ (154 ont répondu au questionnaire)
 - âge moyen : 39,3 ans
 - extrêmes : 20-62 ans
 - sexe ratio F/H : 90,3 %

Epidémie stéphanoise novembre 2002 :

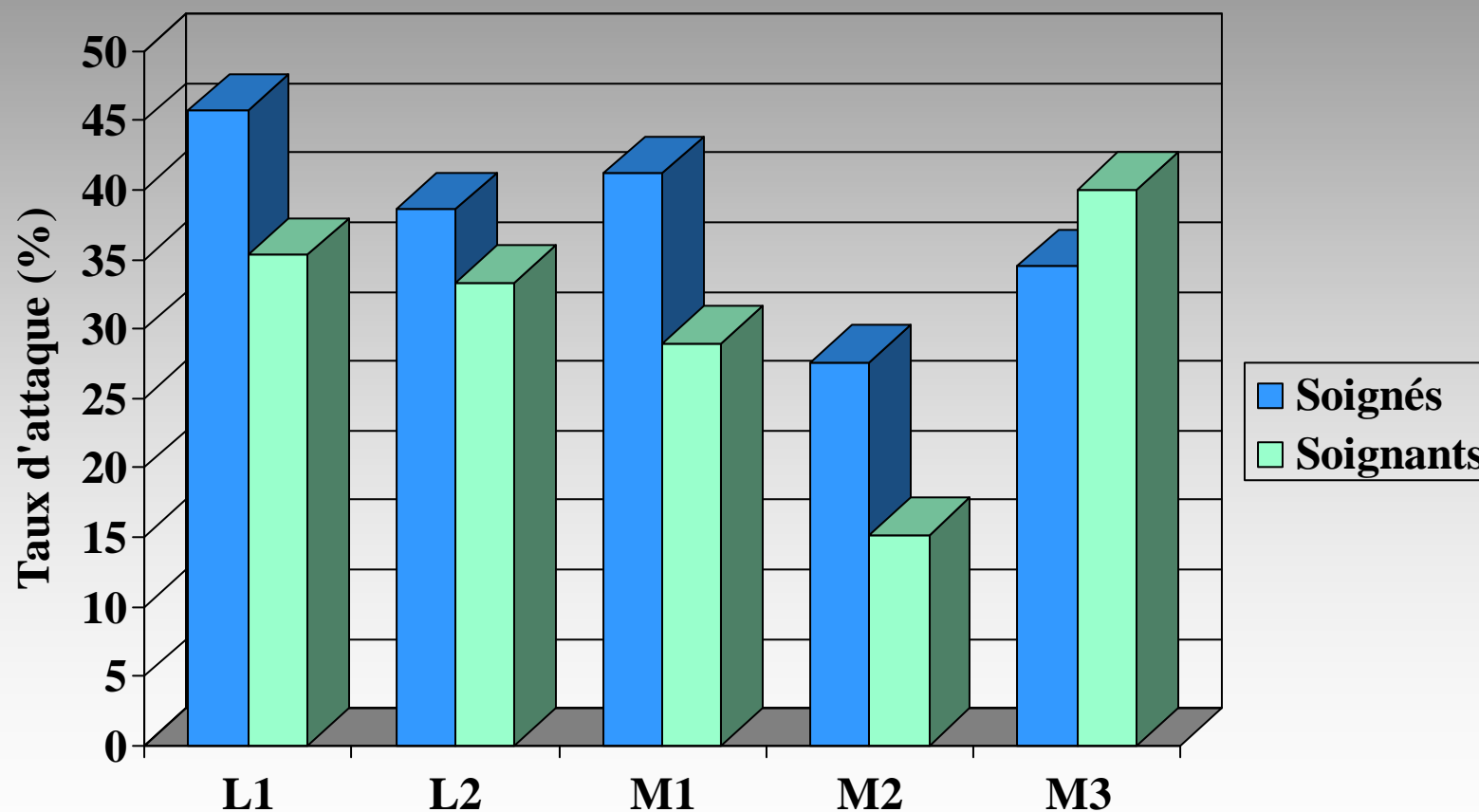
sujets, matériels et méthodes (3)

- | | | |
|---|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Fiche standardisée renseignée pour tous les patients (182) et par la plupart des soignants (154)• Données recueillies :<ul style="list-style-type: none">– signes cliniques (date de début et durée)<ul style="list-style-type: none">• troubles digestifs<ul style="list-style-type: none">– douleurs abdominales– anorexie– diarrhées– vomissements– nausées | <ul style="list-style-type: none">• température• douleurs diffuses<ul style="list-style-type: none">– myalgies– arthralgies– céphalées• frissons• asthénie– examens<ul style="list-style-type: none">• coproculture• isolement de virus• détection d'antigènes• PCR calicivirus | <ul style="list-style-type: none">– traitements<ul style="list-style-type: none">• anti-diarrhéiques• anti-émétiques• anti-pyrétiques• antalgiques• anti-spasmodiques• perfusions• antibiotiques– pour les soignants<ul style="list-style-type: none">• arrêt de travail• contamination d'un proche |
|---|--|---|

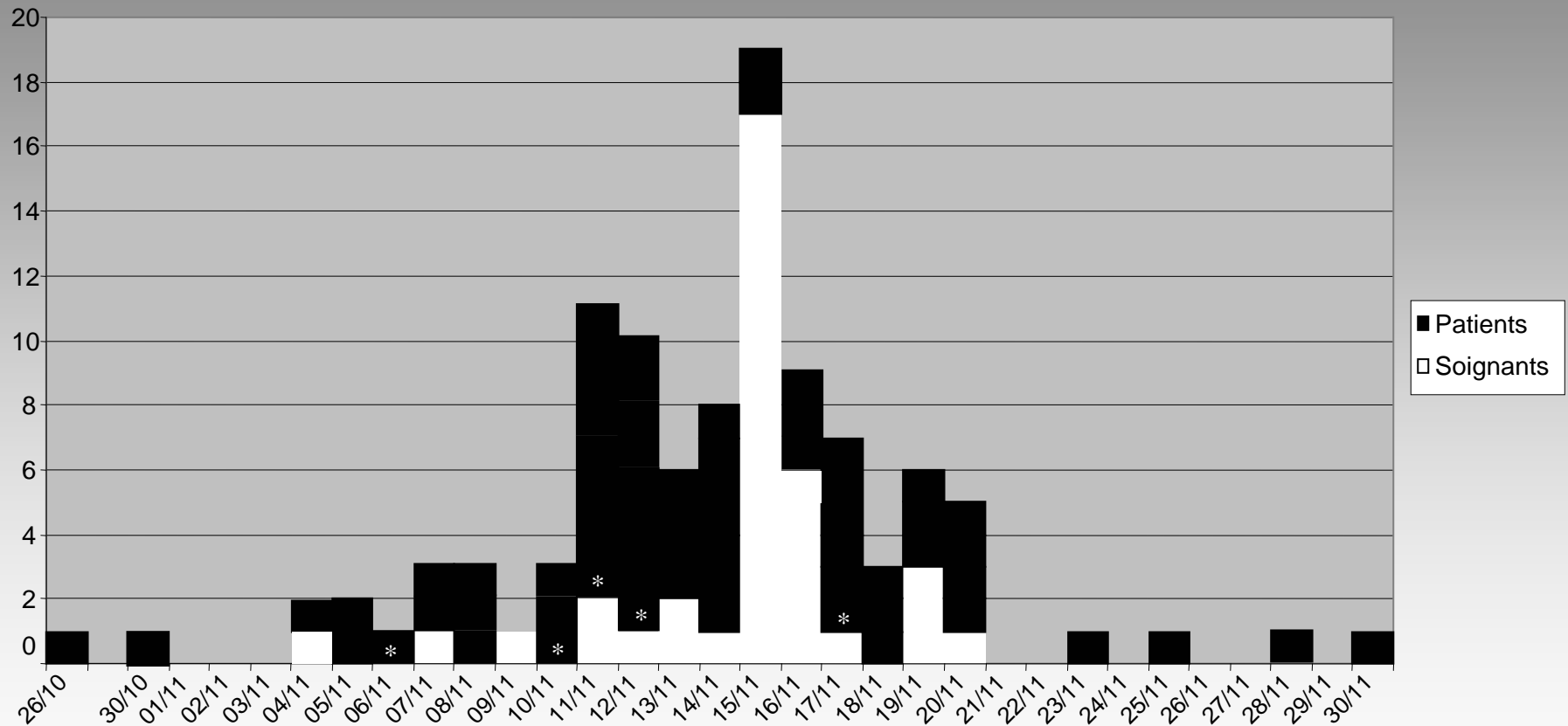
Epidémie stéphanoise novembre 2002 : **répartition des cas (1)**

- Personnes âgées : **70 / 182** (taux d'attaque : **38,5** %)
- Soignants : **40 / 154** (taux d'attaque : **26,0** %)
 - médecins/internes : **5 / 16** (taux d'attaque : **31,3** %)
 - cadres et infirmier(e)s : **11 / 42** (taux d'attaque : **26,2** %)
 - aides soignantes : **19 / 52** (taux d'attaque : **36,5** %)
 - ASH : **4 / 24** (taux d'attaque : **16,7** %)
 - autres (secrétaires, kinés, assistantes sociales ...) : **1 / 20**
(taux d'attaque : **5,0** %)

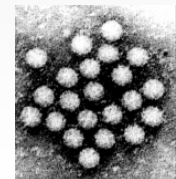
Epidémie stéphanoise novembre 2002 : répartition des cas (2)



Epidémie stéphanoise novembre 2002 : **courbe temporelle**



* : mise en évidence d'un *Norovirus* par PCR



Epidémie stéphanoise novembre 2002 :

symptômes

	Personnes âgées (n = 70) + / - / manquant	Soignants (n = 40) + / - / manquant
Anorexie	7 / 15 / 48	16 / 23 / 1
Diarrhées	60 / 6 / 4	30 / 9 / 1
Vomissements	30 / 28 / 12	25 / 14 / 1
Nausées	24 / 30 / 16	33 / 6 / 1
Douleurs abdominales	13 / 26 / 31	32 / 7 / 1
Hyperthermie	17 / 7 / 46	17 / 21 / 2
Asthénie	9 / 10 / 51	27 / 12 / 1
Frissons	-	19 / 20 / 1
Douleurs musculaires	-	16 / 23 / 1
Douleurs articulaires	-	14 / 25 / 1
Céphalées	-	14 / 25 / 1

Epidémie stéphanoise novembre 2002 : **traitements**

	Personnes âgées (n = 70) + / - / manquant	Soignants (n = 40) + / - / manquant
Anti-diarrhéiques	28 / 36 / 6	22 / 17 / 1
Anti-émétiques	35 / 26 / 6	25 / 16 / 1
Perfusions	20 / 44 / 6	-
Antibiotiques	8 / 56 / 6	-
Autres	-	12 / 27 / 1

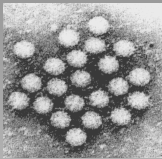



Epidémie stéphanoise novembre 2002 : **arrêts de travail et contamination de proches chez les soignants**

	Arrêt de travail (n = 40) + / - / manquant	Contamination de proches (n = 40) + / - / manquant
Médecins / Internes	2 / 3 / 0	0 / 5 / 0
Cadres et IDE	3 / 7 / 1	0 / 10 / 1
Aides-soignantes	6 / 13 / 0	5 / 14 / 0
ASH	3 / 1 / 0	0 / 4 / 0
Autres	0 / 1 / 0	0 / 1 / 0
TOTAL	14 / 25 / 1	5 / 34 / 1

Mesures de contrôle non spécifiques

- Hygiène des locaux
- Hygiène des mains
- Recours aux techniques de diagnostic rapide en virologie
- Mesures d'isolement contact
- Chambre unique ou regroupement des cas
- Éviter les antibiothérapies abusives et inutiles
- Former les sujets âgés en long séjour et les familles aux règles de base d'hygiène

METHODES DIAGNOSTIQUES

				
ROTAVIRUS A	OUI	OUI	±	OUI
CALICIVIRUS	OUI	OUI	NON	OUI
ADENOVIRUS	OUI	OUI	±	OUI
ASTROVIRUS	OUI	OUI	±	OUI

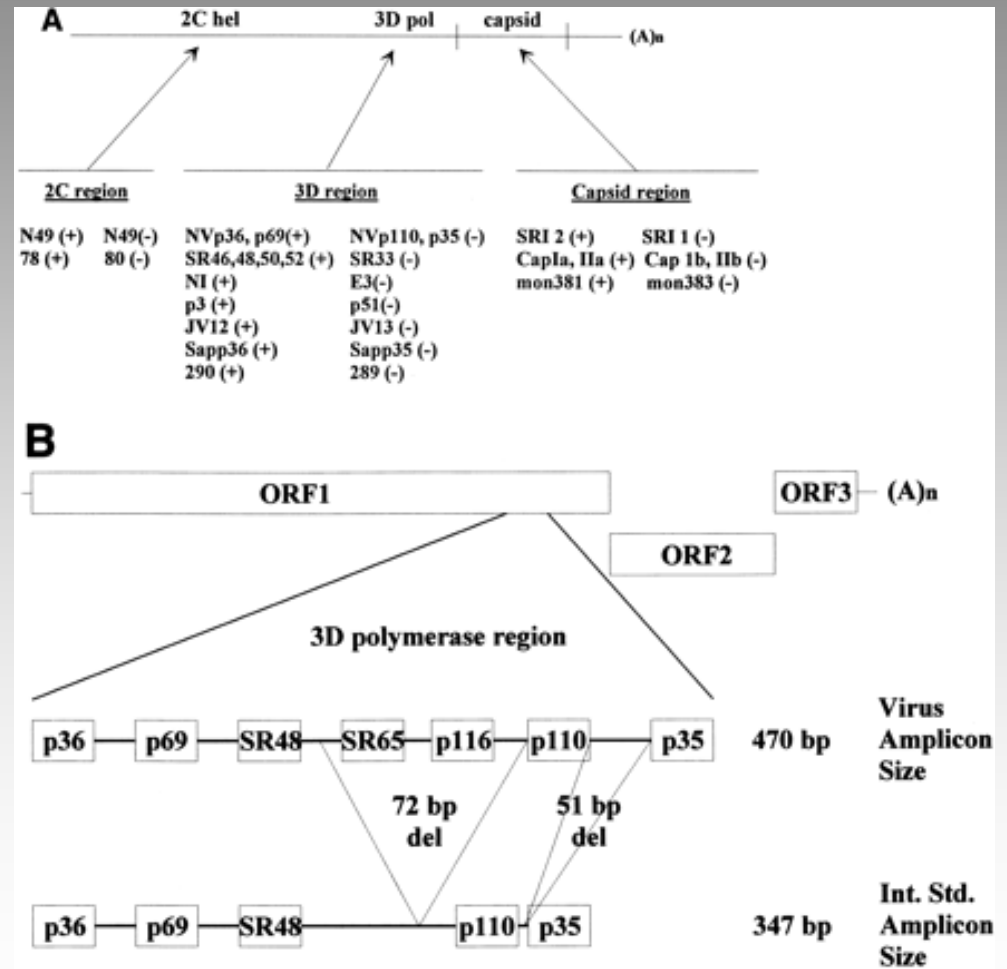
Techniques immuno-enzymatiques pour le diagnostic des infections à norovirus

- Anticorps hyperimmuns ou monoclonaux dirigés contre des protéines de capside exprimées dans des baculovirus
- Sensibilité de l'ordre de 10^4 à 10^6 particules virales / ml de selles
- Tests limités aux norovirus
- Rabenau et al, 2003, Interviol, 46, 232-8

	TEST ELISA (Dako)	ME	PCR	
Sensibilité %	50,0	88,2	94,1	<ul style="list-style-type: none">• 244 selles• 184 négatives• 60 positives par au moins un des 3 tests
Spécificité %	96,2	99,0	92,4	

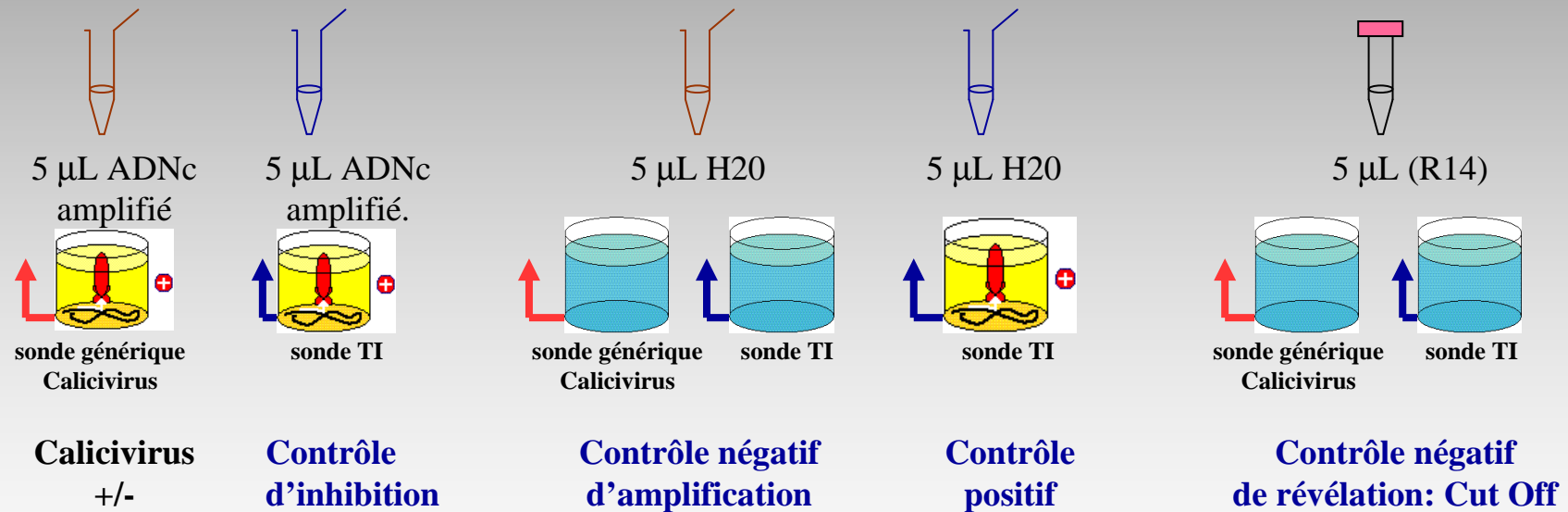
Techniques moléculaires pour le diagnostic des infections à norovirus

- RT-PCR standard
 - choix d'une région conservée (ARN polymérase)
 - nécessité d'utiliser plusieurs amorces
 - possibilité de standard interne



Techniques moléculaires pour le diagnostic des infections à norovirus

Test Argene consensus

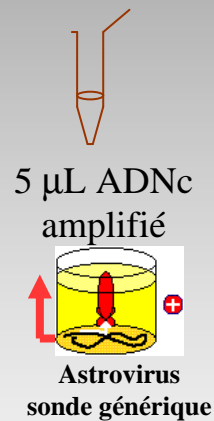


Résultat/patient: 2 puits

Validation du test: 5 puits

Techniques moléculaires pour le diagnostic des infections à norovirus

Test Argene consensus : couplage possible avec PCR Astrovirus

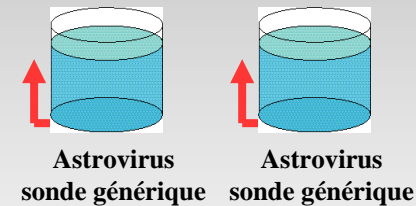
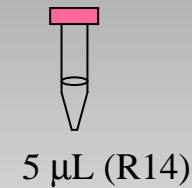


Astrovirus
+/-

Résultat/ patient: 1 puits



**Contrôle négatif
d'amplification**



**Contrôle négatif
de révélation: Cut Off**

Validation du test: 3 puits

Techniques moléculaires pour le diagnostic des infections à norovirus

- Technique de PCR en temps réel
 - amorces à la jonction ORF1-ORF2
 - Kageyama T. et al., JCM, 2003, 41, 1548-57
 - Hohne M et al., J Med Virol, 2004, 72, 312-9
- Typage avec amorces dans VP1
 - hybridation simple
 - hybridations multiples
 - mobilité des hétéroduplex (HMA)
 - séquençage +++

VACCINS ANTI-ROTAVIRUS

- Vaccin rhésus tétravalent Rotashield (1998)
- Juillet 1999 : 15 cas d'invaginations aiguës
- Retrait définitif du marché
- Risque évalué : 1 / 32.000
- 4 leçons (Glass RI et al., Lancet, 2004, 363, 1547-50)
 - efficacité clinique des vaccins oraux atténués
 - maintenir la concurrence
 - nécessité de faire des essais en parallèle dans les pays développés et en voie de développement
 - importance de l'âge lors de l'immunisation (moins d'effets secondaires chez les enfants de moins de six mois)

Vaccins oraux atténués en cours d'essai

Vaccine	Company	Vaccine composition	Status of vaccine
LLR	Lanzhou Institute of Biological Products (China)	Monovalent lamb G10P	2000, licensed in China
RotaTeq®	Merck (USA)	Pentavalent human-bovine reassortant	Phase III trials complete
			Filing in the US
		G1 X WC3	
		G2 X WC3	
		G3 X WC3	
		G4 X WC3	
		P1 A X WC3	
RotaRix®	GlaxoSmithKline (Belgium)	Human G1P	Phase III, licensed in Mexico,
			Dominican Republic, Kuwait, 2004
UK-reassortant	National Institute of Health (USA)	Human-bovine (UK) reassortant	Phase II
		G1 X UK	
		G2 X UK	
		G3 X UK	
		G4 X UK	
Australian RV3	Univ. of Melbourne (Australia)	Neonatal human G3P	Phase II
Indian neonatal	Bharat Biotech (India)	Neonatal strains	Phase I
116E and I321		G9P and G10P	
Rhesus Rotavirus	National Institute of Health/BIOVIRx (USA)	Tetravalent human-rhesus reassortant, G1-G4	Licensed by Food and Drug Administration; currently not manufactured

CONCLUSIONS

- Immense problème de santé publique
- Très grande diversité des agents incriminés
- Très grande variabilité des virus en cause
- Épidémiologie de mieux en mieux connue
- Place de plus en plus grande du diagnostic moléculaire
- Nécessité de techniques sensibles et spécifiques permettant de tester simultanément plusieurs agents pathogènes : biopuces ...