

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur

en

Médecine vétérinaire

THEME

Etude bibliographique sur les Norovirus chez l'homme et les animaux : caractéristiques et diversité génétique du norovirus.

Présenté par :

Melle KHALDI HOUDA AMINA

Soutenu publiquement, le 27 juillet 2021 devant le jury :

Pr KHELEF DJAMEL

Dr BAROUDI DJAMEL

Mme BAAZIZI RATIBA

Pr (ENSV)

MCA (ENSV)

MCA (ENSV)

Président

Examineur

Promotrice

DECLARATION SUR L'HONNEUR

Je soussigné Mlle **KHALDI HOUDA AMINA**, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteurs ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Khaldi', is written below the 'Signature' label.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur

en

Médecine vétérinaire

THEME

Etude bibliographique sur les Norovirus chez l'homme et les animaux : caractéristiques et diversité génétique du norovirus.

Présenté par :

Melle KHALDI HOUDA AMINA

Soutenu publiquement, le 27 juillet 2021 devant le jury :

Pr KHELEF DJAMEL

Dr BAROUDI DJAMEL

Mme BAAZIZI RATIBA

Pr (ENSV)

MCA (ENSV)

MCA (ENSV)

Président

Examineur

Promotrice

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A mes parents grâce à leurs encouragements et sacrifices pour que je puisse grandir et étudier. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mes sentiments envers eux, je pris dieu de les protéger et qu'ils soient toujours fiers de moi.

A mon unique frère «MOHAMED» qui se levait tôt le matin juste pour m'emmener à la station de Cous.

A mes petites sœurs «SOUNDOUSS» et «TASNIME», ma source de joie et de bonheur.

A mes tantes et oncles paternels et maternels.

A mes amies, mes camarades de la promo et précisément du groupe (6) qui ont partagé avec moi des moments inoubliables durant le cursus.

A tous mes enseignants qui ont donné le meilleur de leurs savoir tout au long de mes études.

HOMMAGE

A mon grand père «KHALDI BRAHIM» que dieu le tout clément l'accueille dans son vaste paradis qui nous a quitté en martyr ce premier juillet, il était la personne la plus gentille et affectueuse du monde.

Il apportait l'amour, la tendresse et la bénédiction à toute la famille. Je pris le bon dieu de vous accorder sa miséricorde et de nous donner de le courage et la patience à supporter votre absence. Vous serez à jamais la chandelle qui illuminera ma vie.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord dieux merci « El-hamdoullah »

Je remercie :

*Ma promotrice Docteur **BAAZIZI.R** sans laquelle mon travail n'aurait pas pu s'accomplir.*

Je vous remercie pour vos efforts, vos conseils et vos encouragements pour l'aboutissement de ce travail.

*Le Président Professeur **KHELEF.D** ainsi que mon examinateur Docteur **BAROUDI.D** pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect*

A tout le personnel de l'école nationale vétérinaire, pédagogique et administratif.

Vifs remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Plan de travail

Dédicaces.....	I
Remerciements.....	ii
Plan de travail	iii
Liste des tableaux et des figures.....	vi
Liste des abréviations.....	vii
Résumé	viii
Abstract.....	ix
ملخص	x
Introduction.....	1
Historique.....	2
<u>CHAPITRE I : ETIOLOGIE</u>	
I.1 AGENT PATHOGENE : Caractéristiques morphologiques:.....	4
I.1.A) LES PROTEINES STRUCTURALES	5
I.1.A. a) VP1	5
I.1.A. b) VP2	6
I.1.B) LES PROTEINES NON STRUCTURALES	7
I.1.B. a) P48 (P37)	7
I.1. B. b) P41 (P40) NTPase	7
I.1.B. c) P22 (P20)	8
I.1.B. d) VPg	8
I.1.B. e) 3CLpro	9
I.1.B. f) RdRp	9
I.2. TAXONOMIE	10
I.3. PHYLOGENETIQUE	11
I.3. A) MNV : Norovirus murin	12
I.3.A. a) Génétiquement	12
I.3.A. b) Entrée	13
I.3.B) Norovirus bovin	13
I.3 .C) Norovirus Canin	13
I.4. PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES	14
I.5. REPLICATION	14
<u>CHAPITRE II : PATHOGENIE</u>	
II.1. : ETUDE CLINIQUE	17
II.1.A :.PRESENTATION.....	17
II.1.B. : REPONSE IMMUNITAIRE	17
II.1.A.a.L'IMMUNITE INNEE.....	18
II.1.A.b. : IMMUNITE ADAPTATIVE	18
II.2. : ETUDE LESIONNEL	21
<u>CHAPITRE III : EPIDEMIOLOGIE</u>	
III.1. : FACTEURS INFLUENÇANT L'EPIDEMIE	23
III.2. : TRANSMISSION	23
III.3. : EVOLUTION	24
III.4. : EPIDEMIOLOGIE.....	25

CHAPITRE IV : DIAGNOSTIC

IV.1. : DIAGNOSTIC EPIDEMIO-CLINIQUE.....	30
IV.2. : DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL	30
IV.2. A. : Echantillons cliniques	30
IV.2.A.a. : Les selles	30
IV.2.A.b. : Les vomissements.....	31
IV.2.A.c. : le sérum	31
IV.2.A.d. : Échantillons de nourriture et d'eau	32
IV.2.A.e. : Spécimens environnementaux	32
IV.2.B. : Microscopie Electronique à Coloration Négative(NSEM).....	32
IV.2.C. : L'analyse inverse de réaction en chaîne de transcriptase-polymérase.....	33
IV.2.C.a. : Méthodes d'extraction d'ARN	34
IV.2.C.b. : Contrôle interne.....	34
IV.2.C.c. : Les amorces	35
IV.2.D. : L'amplification basée sur la séquence d'acide nucléique (NASBA).....	35
IV.2.E. : RT-PCR en temps réel.....	35
IV.2.F. : Essai immunoenzymatique (EIA).....	36
IV.2.G. : Dosage immunoenzymatique sur support solide (ELISA).....	36
IV.3. :DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL	36

CHAPITRE V : TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

V.1. : TRAITEMENT :.....	39
V.1.A. : Agents Anti-Gastro-Enterite :.....	39
V.1.B. : Antiviraux	39
V.2. : PROPHYLAXIE	41
V.2.A : Prophylaxie Sanitaire.....	41
V.2.B. : Prophylaxie Medicale.....	42
V.2.B.A. : Les Vaccins A Partir Des Vlp.....	42
V.2.B.B. : Les Vaccins A Adn.....	43
Conclusion.....	44
Références Bibliographiques	45

Liste des tableaux et des figures

Figure 1 : (b) Structure du monomère de VP1 (c) Représentation du dimère de VP1 (d) Représentation du virion du Norovirus, composé de 90 dimères de VP1 (Donaldson E-F et al., 2010)	04
Figure 2 : Structure moléculaire du norovirus humain (Campillay-Véliz, 2020).....	05
Figure 3 : Représentation structurale de VP1 (Hardy, 2005)	06
Figure 4 : Organisation génomique des norovirus (Rougemont, 2010).....	10
Figure 5 : classification schématique du norovirus basé sur l'analyse phylogénétique du gène de la capsid 99 (Bucardo, 2008).....	11
Figure 6 : Classification des norovirus (Rougemont et al., 2010).....	12
Figure 7 : Schéma du cycle de réplication des norovirus d'après Graaf Miranda et coll....	15
Figure 8 : Schéma de l'infection par les norovirus dans l'intestin et de sa réponse immunitaire (Newman et al., 2015).....	20
Figure 9 : Voies de transmission des norovirus. Sont encadrés les facteurs propices à la concentration de norovirus (adapté de Ludwig et coll, 2018).....	24
Figure 10 : Distribution des norovirus animaux dans le monde (Villabruna et al., 2019)..	26
Figure 11 : Emergence périodiques des variantes GGII.4 (Rougemont et al., 2010).....	27
Tableau 1 : Infection à norovirus dans les pays de la région MENA entre 2000 et 2015 (Kreidieh et al., 2017).....	27
Figure 12 : Carte de l'Afrique indiquant les pays à partir desquels les données de prévalence et de diversité ont été obtenues (bleu clair) et les pays où seules les données de génotype des norovirus étaient disponibles (bleu foncé)(Mans et al., 2016).....	28
Figure13 : Norovirus, technique de micrographie électronique à transmission colorée (TEM) Grossissement: x 21,820 (KUNKEL, 2021).....	33
Tableau 2 : Diagnostique différentiel entre les agents causant les gastroentérites.....	37

Liste des abréviations

3CLpro :	3C Lke-protéase
aa :	Acides aminés
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ARN :	Acide ribonucléique
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
ATP :	Acide adénosine-triphosphorique
C :	Carbone
C° :	Celsius
Ca Nov :	Canine norovirus
E.coli :	Escherichia coli
EIA :	Essai immunoenzymatique
eIF :	Facteur d'initiation eucaryote
ELISA :	Dosage immunoenzymatique sur support solide
EM :	Microscopie électronique
FCV :	Féline calicivirus
g/cm³ :	Gramme/centimetre ³
GG :	Génogroupe
GTPase :	Guanosine triphosphatase
H :	Histone
HBGA :	Antigènes du groupe sanguin humain
Hu Nov :	Norovirus humain
ICVT :	Comité internationale sur la taxonomie des virus
IFN :	Interféron
Ig :	Immunoglobuline
Kb :	Kilobases
kDa :	Kilodaltons
MENA :	Moyen orient et nord d'Afrique
mg/L :	Milligramme/litre
mM :	Milimole
MNV :	Murine norovirus
NASBA :	Amplification basé sur la séquence d'acide nucléique
nm :	Nanomètre
NSEM :	Microscopie électronique a coloration négative.
NTP :	Nucléotide triphosphate
NTPase :	Nucléoside triphosphatase
ORF :	Cadre de lecture ouverte
PMO	phosphorodiamidates morpholino
Pro :	Protéase
RdRp :	ARN polymérase dépendant de l'ARN
RHDV :	Virus de la maladie hémorragique du lapin
RT-PCR :	Reverse transcriptase- réaction en chaine de polymérase
RT-	
qPCR :	RT-PCR en temps réel
s :	Seconde
SPIEM :	Microscopie immunitaire en phase solide
SRO :	Solution de réhydratation orale

SRSV :	Petits virus ronds structurés
TCD4 :	Lymphocytes T auxiliaires
TCD8 :	Lymphocyte T cytotoxique
TEM :	Microscopie électronique à transmission
TM :	Transmembranaire
VF :	Facteur de virulence
VLP :	Particule virale de synthèse
VP :	Protéine virale
VPg :	Protéine liée au génome virale

Résumé

Les norovirus sont responsables des gastroentérites aiguës chez l'homme et les animaux causant ainsi une épidémie hivernale.

Ces virus appartiennent à la famille des *Caliciviridae* et ils comprennent 5 génogroupes devisés en génotypes.

Les norovirus sont des petits virus non enveloppés avec un ARN simple brin à polarité positive codant pour : des protéines non structurales, VP1 et VP2. Leur transmission se fait majoritairement par voie oro-fécale soit indirectement par l'intermédiaire des eaux et de l'environnement.

L'infection par ces virus est décrite chez les adultes et chez les jeunes par une faible dose de virion (10^2) et provoque des symptômes bénins tels que la diarrhée et les vomissements qui sont résolutive en 12 à 60 heures en moyenne. Cependant ; chez les immunodéprimés les âgées ou les gestantes ; l'infection peut être mortelle.

Le diagnostic des norovirus peut se faire à l'aide de la microscopie électronique, des méthodes immunoenzymatique (ELISA) ou des techniques de biologie moléculaire (RT-PCR/ RT-qPCR).

A nos jours, il n'existe pas de traitement spécifique au norovirus mais la réhydratation est envisagée chez les cas graves. En plus l'immunité à courte terme contre ces virus nécessite la vaccination or la grande diversité génétique des norovirus ne facilite pas les recherches.

Mots clés : Norovirus, calicivirus, caractéristiques, homme, animaux, gastroentérite, oro-fécale.

Abstract

Noroviruses are responsible for acute gastroenteritis in humans and animals causing a winter epidemic.

These viruses belong to the *Caliciviridae* family and they comprise 5 genogroups divided into genotypes.

Noroviruses are small, non-enveloped viruses with positive polarity single-stranded RNA encoding: non-structural proteins, VP1 and VP2. Their transmission occurs mainly via the faeces, or indirectly via water and the environment.

Infection with these viruses is described in adults and young people by a low dose of virion (10^2) and causes mild symptoms such as diarrhea and vomiting which resolve within 12 to 60 hours on average. In the immunocompromised, the elderly or pregnant women; infection can be fatal.

Diagnosis of noroviruses can be made using electron microscopy, enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) or molecular biology techniques (RT-PCR / RT-qPCR).

Today, there is no specific treatment for noroviruses but rehydration is considered in severe cases. Short-term immunity against these viruses requires vaccination, and the great genetic diversity of noroviruses does not facilitate the researches.

Keywords: Norovirus, calicivirus, features, human, animals, gastroenteritis, fecal-oral.

ملخص

النوروفيروسات مسؤولة عن التهاب المعدة والأمعاء الحاد لدى البشر والحيوانات مما يتسبب في الاوبئة الشتوية .

تنتمي هذه الفيروسات إلى عائلة فيروسات كالسي و التي تضم 5 مجموعات جينية مقسمة إلى انماط وراثية.

النوروفيروسات هي فيروسات صغيرة غير مغلفة تحتوي على حمض ريبي نووي أحادي السلسلة ذو قطبية ايجابية و الذي يرمز الى: البروتين الهيكلية الرئيسي، البروتين الهيكلية الثانوي و البروتينات الغير هيكلية. يحدث انتقالها بشكل رئيسي من الفضلات الى الفم، أو بشكل غير مباشر من خلال الماء والبيئة.

تتم العدوى بهذه الفيروسات عند البالغين والشباب بجرعة منخفضة من الفيروس (10^2)، وتسبب أعراضًا خفيفة مثل الإسهال والقيء والتي تختفي في غضون 12 إلى 60 ساعة في المتوسط. في حالة كان المرضى كبار في السن، نساء حوامل او يعانون من نقص في المناعة يمكن أن تكون العدوى قاتلة.

يمكن تشخيص النوروفيروسات باستخدام الفحص المجهرية الإلكترونية، او عن طريق مقايسة الامتصاص المناعي المرتبط بالانزيمات أو باستخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية.

الى يومنا هذا لا يوجد علاج محدد للنوروفيروسات ولكن تعتبر اعادة الاماهة ضرورية في الحالات الشديدة. بالإضافة إلى ذلك وجود مناعة قصيرة المدى ضد هذه الفيروسات يتطلب التطعيم، لكن التنوع الجيني الكبير لهذه الفيروسات لا يسهل عملية البحث.

الكلمات المفتاحية : نوروفيروس، فيروسات كالسي، المميزات، الانسان، الحيوانات، التهاب المعدة والأمعاء، من الفضلات الى الفم .

Introduction

Etant identifié pour la première fois en 1968 dans une école de Norwalk à l'Ohio, les norovirus appartiennent au genre *Norovirus* de la famille des *Caliciviridae*. Cette identification est passée par l'observation des symptômes ; qui ont duré 24 heures ; correspondant aux nausées, les vomissements et des diarrhées.

Les *Norovirus* appartiennent aux principaux agents des gastroentérites aiguës sporadiques et épidémiques quelles que soient les tranches d'âge (**Rougemont, 2010**).

Ce genre affecte un large éventail d'espèces hôtes mammifères qui comprennent les humains, les chiens, les chats, porcs, souris, les ovins et les bovins (**Chaabra et al., 2019**).

Il existe une grande diversité génétique dans cette famille de virus présentant des difficultés non seulement pour le diagnostic et pour leur épidémiologie mais aussi pour concevoir des stratégies de prévention. De plus la plupart des *Norovirus* (à l'exception des norovirus murins) ne poussent pas en culture cellulaire, ainsi ; on sait peu de choses sur leur cycle de réplication (**Cheetham, 2006**).

Dans notre recherche nous allons traiter les principaux caractéristiques des norovirus tout en expliquant conséquences d'une infection aux norovirus.

Historique

Chez l'homme, le premier cas identifié par une infection au *Norovirus* s'est produit dans une école de Norwalk ; Ohio en 1968, en deux jours 116 de 232 enfants et adultes fréquentant l'école ont présenté des nausées, des vomissements et des diarrhées. Les symptômes ont duré 24 heures et il y'avait un taux d'atteinte secondaire de 32% des personnes qui étaient en contacts avec les cas primaires.

Par contre ce n'est qu'en 1972 que l'utilisation de microscopie électronique ; où un échantillon fécal (désigné « 8FIIa ») d'un volontaire a permis la visualisation d'agrégats de particules virales à 27 nm. C'était le premier virus identifié comme une cause de gastroentérite et il a été rapidement suivi par l'identification d'autres virus tels que le rotavirus, adénovirus et l'astrovirus. La souche de calicivirus qui était présente dans l'échantillon 8FIIa a été appelé virus de Norwalk (**Cheetham, 2006**).

En microscopie électronique immunitaire le virus de Norwalk a été décrit comme ayant une morphologie indistinctive car il ne possède pas de structures spécifiques à leur surface. Ces virus ne se multiplient pas dans la culture cellulaire ou les animaux sauf chez les primates par conséquent ils n'ont été classé qu'en 1993 lorsque le clonage moléculaire et le séquençage du génome viral l'a identifié comme un membre de la famille des «*Caliciviridae*».

Plus tard en 2002 les virus de types Norwalk ont été attribués au genre *Norovirus* approuvé par le comité international sur la taxonomie des virus (ICVT) (**Wang, 2005**).

CHAPITRE I : ETIOLOGIE

CHAPITRE I : ETIOLOGIE

L.1 AGENT PATHOGENE : Caractéristiques morphologiques:

Les norovirus appartiennent à la famille des *Caliciviridae*. Ce sont des petits virus non enveloppés de 27 à 40 nm de diamètre avec un génome d'ARN simple brin (d'une longueur d'environ 7,5 kb) de polarité positive poly-adenylé de 7700 nucléotides .(figure n°1)

Il comprend 3 cadres ouverts de lecture (ORF1-3, open reading frame) codant respectivement les protéines non structurales, la protéine majeure de capsid (VP1) et une protéine structurales mineur (VP2) (**Rougemont, 2010**).

-ORF1 code une polyprotéine qui s'auto-clive en 6 protéines non structurales matures dont une NTPase (NS3), protéase (NS6) et ARN polymérase ARN-dépendante (NS7).

- ORF2 encode la protéine structurelle majeure, VP1, qui s'auto-assemble en 90 dimères pour former la capsid virale. VP1 contient un domaine shell (S) conservé et un domaine (P) en saillie. Le domaine P se compose à son tour d'une région de tige (P1) et d'une hypervariable exposée (P2) région qui médie l'attachement aux cellules hôtes et est la principale cible de la neutralisation des anticorps.

-ORF3 code la protéine structurelle mineure, VP2, qui permet la libération du génome viral de la capsid lors de l'entrée cellulaire (**Journal Pre-proof, 2020**).

Avant que la classification du génome ne soit disponible les *Norovirus* étaient appelés SRSV « **Petits virus ronds structurés** », leur forme est ronde mais sans surface typique (**Cheetham, 2006**).

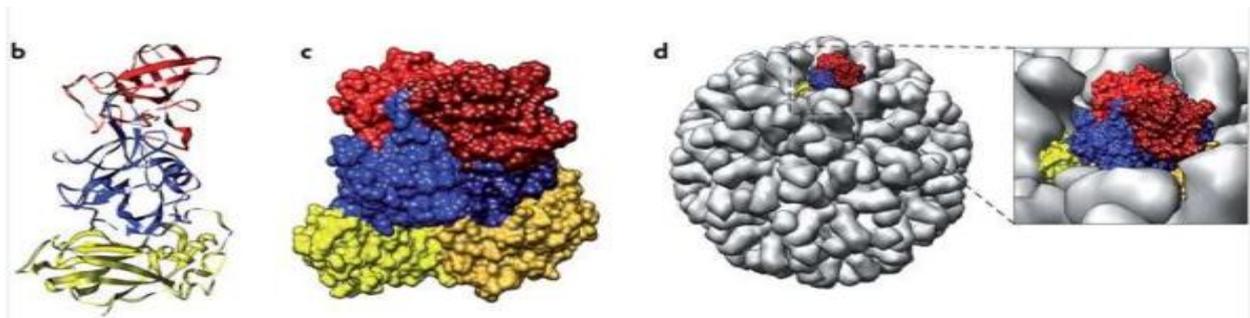


Figure 1 : (b) Structure du monomère de VP1 (c) Représentation du dimère de VP1 (d) Représentation du virion du Norovirus, composé de 90 dimères de VP1 (Donaldson E-F et al., 2010).

Jaune : domaine S, en bleu : P1, en rouge : P2

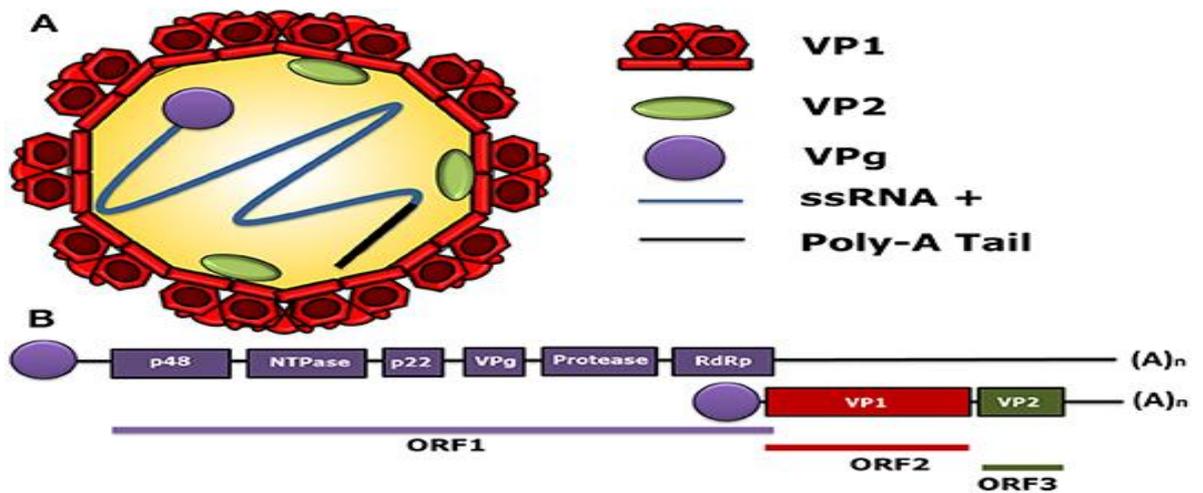


Figure 2 : Structure moléculaire du norovirus humain (Campillay-Véliz, 2020).

I.1.A) LES PROTEINES STRUCTURALES :

Le virion du norovirus est composé de 90 dimères de la protéine de capsidique majeure VP1 et une ou deux copies de la protéine structurelle mineure VP2. La protéine de capsidique majeure du virion est unique parmi les virus animaux et ressemble plus étroitement à la composition de la capsidique des virus végétaux.

Un ARN sous-génomique lié à une protéine contenant à la fois ORF2 et ORF3 participe à la formation de VP1 et VP2.

I.1.A. a) VP1 :

La VP1 est constituée de 530 à 555 acides aminés avec des poids moléculaires calculés de 58 à 60 kDa. Elle est composée de deux domaines conservés (S et P1) qui entourent un domaine central variable (P2), observable sur la figure n°3 (Muller, 2015).

Le domaine shell (S) est constitué de 225 acides aminés N-terminal dont leurs compositions contiennent des éléments essentiels à la formation de l'icosaèdre.

Le domaine en saillie (P) est composé des acides aminés restants est divisés en deux sous-domaines, (P1) et (P2). Les domaines (P) interagissent dans des contacts dimères qui augmentent la stabilité de la capsidique et forment les protubérances sur le virion observé par microscopie électronique. Le domaine (P2) est une insertion de 127 acides aminés (aa 279–405, numérotation de la souche Norwalk) dans le domaine (P1) situé à la surface la plus distale du monomère replié.

Certains chercheurs pensent que la région hypervariable au sein de (P2) joue un rôle important dans la liaison aux récepteurs et la réactivité immunitaire. Chez les humains les récepteurs cellulaires des norovirus sont représentés par les antigènes du groupe histo-sanguin (HBGA).

Cependant, l'établissement de lignées cellulaires permissives portant le récepteur. I. ont rapporté que les protéines virales de synthèse des norovirus (VLP) se sont liés à une protéine cellulaire de 105 kDa qui pourrait également fonctionner dans l'attachement cellulaire et qui peut aider à l'identification concluante du ou des domaines de fixation cellulaire de VP1, ainsi que la définition d'un récepteur fonctionnel authentique. Or qu'à ce moment on ne sait pas si des sites similaires dans le domaine P2 de VP1 sont responsables de la liaison de cette protéine et des antigènes glucidiques, et quelles interactions de liaison coopérative peuvent se produire.



Figure 3 : Représentation structurale de VP1 (Hardy, 2005).

I.1.A. b) VP2 :

La VP2 varie de 208 à 268 acides aminés avec des poids moléculaires de 22 à 29 kDa et présente une variabilité de séquence étendue entre les souches.

Les rôles de VP2 dans le cycle de réplication ne sont pas connus, mais il est clair que VP2 est une protéine structurelle mineure présente en une ou deux copies par virion et qui est essentiel pour la production de virus infectieux lorsqu'il est évalué dans un système de génétique inverse du calicivirus félin (FCV), par contre VP2 n'est pas nécessaire pour l'assemblage de particules de type virus.

La VP2 est d'abord décrite pour le virus de la maladie hémorragique du lapin (RHDV) et ensuite dans les norovirus et autres calicivirus.

Une théorie a été démontrée que VP2 se lie à l'ARN. Cette théorie était logique parce que VP1 n'a pas de domaine de liaison à l'ARN basique N-terminal trouvé dans les protéines

de capsid des virus végétaux. Mais à ce moment il n'y a pas encore de données expérimentales décrivant l'activité de liaison à l'ARN de VP2.

I.1.B) LES PROTEINES NON STRUCTURALES :

I.1.B. a) P48 (P37) :

La protéine 48 (P48) ; La protéine N-terminale de ORF1 ; est de 15 et 22 kDa. Elle est quelque peu variable en longueur et en séquence entre les virus des génogroupes I et II.

La propriété de p48 est de ne montrer aucune similitude de séquence significative avec d'autres protéines virales ou protéines cellulaires dans les bases de données publiques, elle s'oppose aux motifs d'acides aminés dans d'autres protéines non structurales de norovirus qui permettaient des prédictions de fonction par analogie principalement avec les protéines de *Picornavirus*.

Mais il existe toujours des exceptions, les chercheurs ont ainsi noté la présence des régions analogues dans le norovirus p48 et des *Parechovirus*. Ces régions sont suggérées pour être impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire.

I.1. B. b) P41 (P40) NTPase:

Il a été reconnu comme un motif de liaison NTP dans le génome du calicivirus félin dans une position similaire à 2C par rapport à la polyprotéine dans les génomes de *Picornavirus*.

P41 fait partie de la superfamille 3 des ARN hélicases dû à la présence de trois motifs spécifiques, A, B et C.

Quand elle est purifiée elle se lie à l'ATP in vitro, et la mutation du résidu d'acide aminé 168 dans le motif A qui ablaté un groupe de liaison au phosphate était suffisante pour supprimer la liaison à l'ATP. P41 hydrolyse également l'ATP, mais n'a pas été capable de dérouler un hétéroduplex ARN synthétique: ADN.

À partir de ces données suggèrent que p41 a une activité NTPase, mais pas une activité hélicases.

I.1.B. c) P22 (P20) :

Jusqu'à 'à maintenant il n'y'a pas encore de données sur les fonctions possibles de p22, à l'exception de sa présence dans un précurseur de p22-VPg-3CLpro dans la voie de traitement protéolytique.

P22 occupe une position dans le génome du norovirus similaire à la position de la protéine 3A dans les génomes de picornavirus.

Cette dernière est importante pour la localisation membranaire des complexes de réplication, et des mutations ciblées dans la protéine 3A donnent des virus défectueux dans la synthèse de l'ARN et des virus avec une capacité réduite à inhiber les voies de sécrétion cellulaire.

Il reste à l'évidence beaucoup à apprendre sur cette protéine et comment ses fonctions se comparent à celles de la protéine 3A.

I.1.B. d) VPg :

VPg est de 15 kDa est lié de manière covalente aux ARNm génomiques et sous-génomiques. Les preuves expérimentales de cette liaison ne sont connues qu'à partir des calicivirus animaux, bien qu'il est vraisemblable qu'il en soit de même pour les norovirus.

VPg joue des fonctions variées dans les cycles de réplication, dont certaines sont communes entre les familles (*Picornaviridae*, les *Potyviridae*, les *Luteoviridae* et les *Comoviridae*).

La VPg des *Picornavirus* est de 2 à 4 kDa, fonctionne dans la synthèse de l'ARN protéinique et ne joue aucun rôle reconnu dans la traduction de l'ARN viral.

La VPg des *Potyvirus* beaucoup plus grande (24–26 kDa) et fonctionne dans la réplication de l'ARN, le mouvement de cellule à cellule à longue distance et se lie au facteur d'initiation de la traduction eIF (iso), suggérant un rôle supplémentaire dans la traduction de l'ARN du *Potyvirus*.

Les scientifiques ont approuvé que l'ARN génomique du calicivirus dépourvu de VPg ne soit pas infectieux. Ils suggèrent que VPg a un rôle dans la traduction de l'ARN viral et ont montré que l'élimination de VPg de l'ARN génomique des calicivirus félins réduisait considérablement les niveaux de protéine virale synthétisée in vitro, bien que la fidélité

d'initiation semble rester intacte. Ainsi, une hypothèse a été proposée que VPg puisse fonctionner dans le recrutement des ribosomes vers l'ARN viral.

I.1.B. e) 3CLpro :

La protéine 3C-like (3CLpro) est la seule protéase retrouvée chez les norovirus, elle est appelée ainsi en raison de sa similitude avec le picornavirus 3C.

Les études non pas permis d'identifier des protéases virales supplémentaires ni par des analyses de séquence ni par une mutation dirigée vers le site des résidus de site actif prédits.

I.1.B. f) RdRp :

La protéine RdRp s'étend de l'acide aminé 1281 à l'extrémité C de ORF1 (numérotation des souches de Norwalk). Récemment, il a été décrit que l'activité enzymatique in vitro d'un norovirus RdRp est exprimée par un baculovirus recombinant, suit l'activité rapportée pour le virus de la maladie hémorragique du lapin (RHDV) et le calicivirus félin RdRp.

La RdRp présentait globalement des éléments catalytiques et structuraux caractéristiques de RdRp d'autres virus à ARN à brin positif.

Des études enzymatiques avec une protéine recombinante ont par la suite confirmé que le précurseur 3CLpro-RdRp est une protéine bifonctionnelle avec à la fois une activité protéase et polymérase, alors que la polymérase seule a récemment été signalée comme ayant une activité similaire au précurseur lorsqu'elle est dosée in vitro (**Hardy, 2005**).

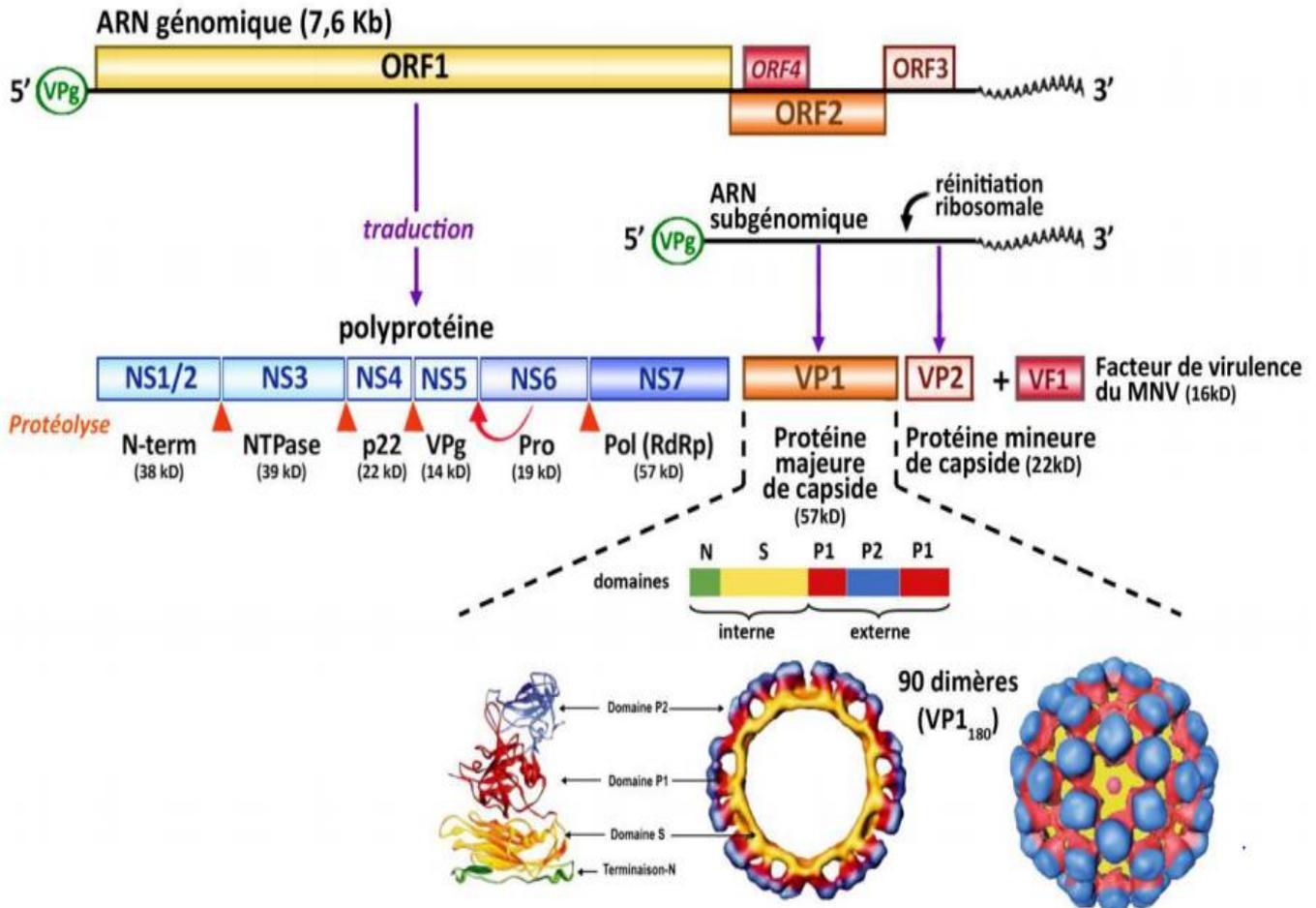


Figure 4 : Organisation génomique des norovirus (Rougmont, 2010).

II.2. TAXONOMIE :

Norovirus est l'un des cinq genres de la famille des *Caliciviridae* avec les genres :

- *Lagovirus* ou Les lagomorphes représentent les hôtes naturels. Il existe deux espèces dans ce genre :
 - Virus du syndrome du lièvre brun européen.
 - Virus de la maladie hémorragique du lapin
- *Sapovirus* ou Les hôtes naturels du virus sont les humains et les porcs. Ce sont la cause la plus fréquente de gastro-entérite aiguë du à la seule espèce contenue dans ce genre : Sapporo virus.
- *Vesivirus* : Les porcs, les mammifères marins et les félins sont des hôtes naturels. Il existe deux espèces dans ce genre :

- Calicivirus félin (FCV)
 - Exanthème vésiculaire du virus porcin. Ces virus sont responsables des maladies respiratoires (FCV) et conjonctivite.
- *Nebovirus* : Les bovins servent d'hôtes naturels. Il n'y a qu'une seule espèce dans ce genre: le virus Newbury 1. Les maladies associées à ce genre comprennent: l'hépatite nécrosante entraînant des hémorragies mortelles.

Seuls les genres *Sapovirus* et *Norovirus* sont pathogènes pour l'homme (Rougemont, 2010).

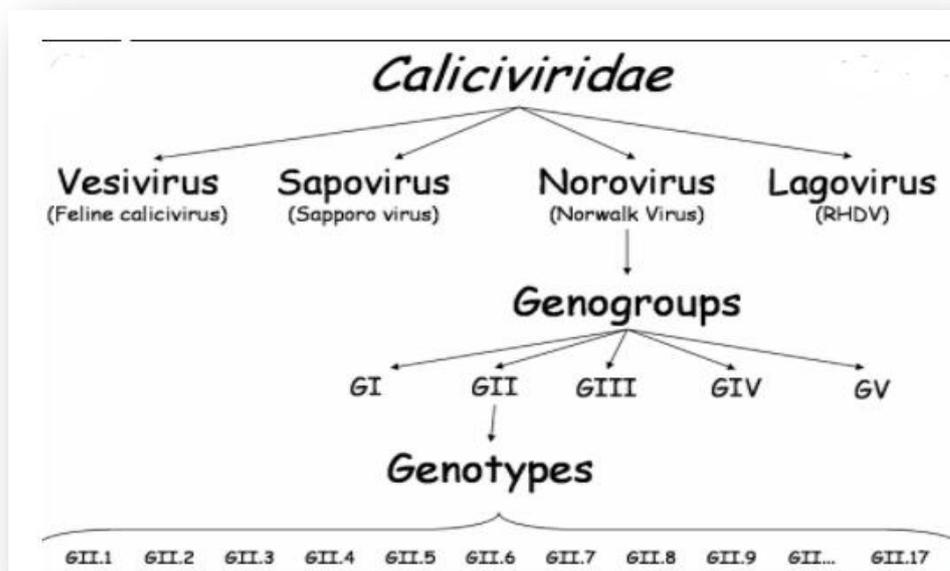


Figure 5 : classification schématique du norovirus basé sur l'analyse phylogénétique du gène de la capsid 99(Bucardo, 2008).

I.3. PHYLOGENETIQUE :

Les norovirus présentent une grande diversité génétique. Les souches sont classées en génogroupes subdivisés en génotypes en se **basant sur la diversité des acides aminés de VP1.**

Actuellement, on distingue cinq génogroupes (I à V) mais seuls les génogroupes I, II et IV infectent l'homme. Les génogroupes I et II sont les plus importants et sont divisés respectivement en 8 et 19 génotypes. Ainsi la dénomination utilisée mentionne le génogroupe puis le génotype du norovirus GGI.1 à GGI.8 et GGII.1 à GGII.19

Classification des <i>norovirus</i>		
GG	génotype	Type
I	1	Norwalk
	2	Southampton
	3	Desert Shield
	4	Chiba
	5	Musgrove
	6	Hesse
	7	Winchester
	8
II	1	Hawai
	2	Melksham (Snow Mountain)
	3	Toronto (Mexico)
	4	Bristol (Lordsdale)
	5	Hillingdon
	6	Seacroft
	7	Leeds
	8	Amsterdam
	9-19
III		Bovine virus : Jena
IV		Alphatron
V	1	Murine

Figure 6 : Classification des norovirus (Rougemont et al., 2010).

En outre le genre des *Norovirus* comprend des souches responsables des zoonoses tels que les souches bovine (GGI, virus Jena et agent Newbury-2) ; trois souches porcine (GGII) ainsi qu'une souche murine ou MNV (GGV) (Rougemont, 2010).

I.3. A) MNV : Norovirus murin :

C'est une espèce de norovirus qui affecte les souris et qui été identifier pour la première fois en 2003.

Des cultures cellulaires standardisées sont utilisées dans l'étude des norovirus murins et vue que ce virus infecte naturellement les souris, il permet donc l'étude sur des systèmes d'animaux.

I.3.A. a) Génétiquement :

Comme tous les norovirus, le MNV possède un génome ARN linéaire non segmenté sens positif d'environ 7,5 kb codant pour une polyprotéine qui est clivée en six protéines non structurales plus petites, et deux protéines structurales VP1 et VP2.

En plus de ces protéines, le norovirus murin est unique parmi les norovirus en possédant un quatrième cadre de lecture ouvert supplémentaire chevauchant la séquence codant VP1. Ce cadre code un facteur de virulence (VF1) qui régule la réponse immunitaire innée.

I.3.A. b) Entrée :

Le premier récepteur protéique médiant l'entrée du norovirus a été trouvé avec des expériences sur les norovirus murins. Ce récepteur CD300IF ; est une glycoprotéine membranaire ; qui fonctionne dans la régulation de multiples réponses immunitaires, et qui se trouve dans les mastocytes des espèces murines et des humains.

I.3.B) Norovirus bovin :

Des études ont démontré de petits virus non identifiés trouvés dans les excréments de veaux et se sont révélés pathogènes pour les veaux gnotobiotiques. Les auteurs ont trouvé ce qui a été appelé plus tard l'agent Newbury-1 et l'agent Newbury-2.

L'agent Newbury-2 identifié au Royaume Uni et le Jena en Allemagne qui est en revanche un virus plus étroitement lié aux norovirus gastro-intestinaux humains qu'au autres calicivirus animaux, ce qui en fait un troisième génogroupe du genre *Norovirus*.

Le virus Jena et l'agent Newbury-2 ont été détectés dans les excréments des veaux nouveau-nés atteints de diarrhée, aussi ils sont les représentants des deux génotypes GGIII.1 et GGIII.2 respectivement et les deux génotypes sont antigéniquement distincts (**Vildevall, 2011**).

I.3.C) Norovirus canin :

Le norovirus canin (CaNoV) a été identifié pour la première fois chez un chien présentant une entérite en Italie en 2007. La détection de CaNoV dans des échantillons fécaux de chiens a été suivie au Portugal vers 2007, puis ces virus ont été décrits chez des chiens en Europe et en Asie.

Une étude de prévalence récente a démontré que la séropositivité pour le norovirus canin était estimée à 39% dans les échantillons de sérum de chien provenant de 14 pays européens différents.

En outre, le norovirus canin pourrait infecter les humains, en particulier les travailleurs vétérinaires présentant des facteurs de risque potentiels d'exposition aux virus. Cela était

confirmé lors d'une étude sur des échantillons de sérum prélevés sur 373 vétérinaires de petits animaux et 120 témoins dans la population humaine. Les résultats ont montré la présence d'anticorps contre le norovirus canin, et le taux de séropositivité du groupe vétérinaire était de 22,3 % contre 5,8 % chez le témoin (**Mesquita et al., 2013**).

L'émergence des norovirus canin peut être un problème de santé publique car les animaux de compagnie font partie intégrante de la vie de la famille dans la plupart des pays industrialisés, et leur relation étroite avec les humains doit faire l'objet d'une attention particulière avec un réservoir potentiel d'agents zoonotiques (**Lyo et al., 2018**).

I.4. PROPRIETES PHYSICOCHEMIQUES :

Les norovirus présentent une grande stabilité dans l'environnement et dans les aliments. Ils sont résistants à la chaleur (72 °C pendant 4 min, 100° C pendant 2 min) et stables à la congélation. En effet, ils peuvent rester infectieux dans les aliments congelés (-20°C) jusqu'à 6 mois (**Muller, 2015**).

De plus les norovirus résistent à un Ph acide de 2,7 pendant 3 heures à température ambiante, et à 3,75_6,25 mg/L de Chlore qui est la concentration normale de chlore dans l'eau potable.

Cependant les norovirus perdent leur pouvoir infectieux lorsqu'ils ont été traités avec 10 mg/L de chlore (une concentration utilisée pour traiter l'eau contaminée) et a un Ph alcalin.

Les norovirus sont des virus non cultivable, leur propriétés physicochimiques n'ont pas encore été entièrement déterminées. Pour cela on peut utiliser les données des *Vesivirus* et *Lagovirus* comme référence pour prédire certaines propriétés des calcivirus (**Wang, 2005**).

I.5. REPLICATION :

La réplication des calcivirus partage de nombreux éléments avec les autres virus à ARN de polarité positive.

Etapas de la réplication :

- **Première étape** : 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).

- **Deuxième étape** : l'ARN génomique est relargué dans le cytoplasme afin d'être traduit par la machinerie cellulaire. Il va subir une décapsidation puis une traduction. 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 pour la production d'un brin d'ARN génomique et d'un brin d'ARN subgénomique.

L'ARN subgénomique en surnombre permet alors à la synthèse des protéines structurales VP1 et VP2. La particule issue ensuite va subir une encapsidation puis une libération du norovirus (Rouge mont, 2010).

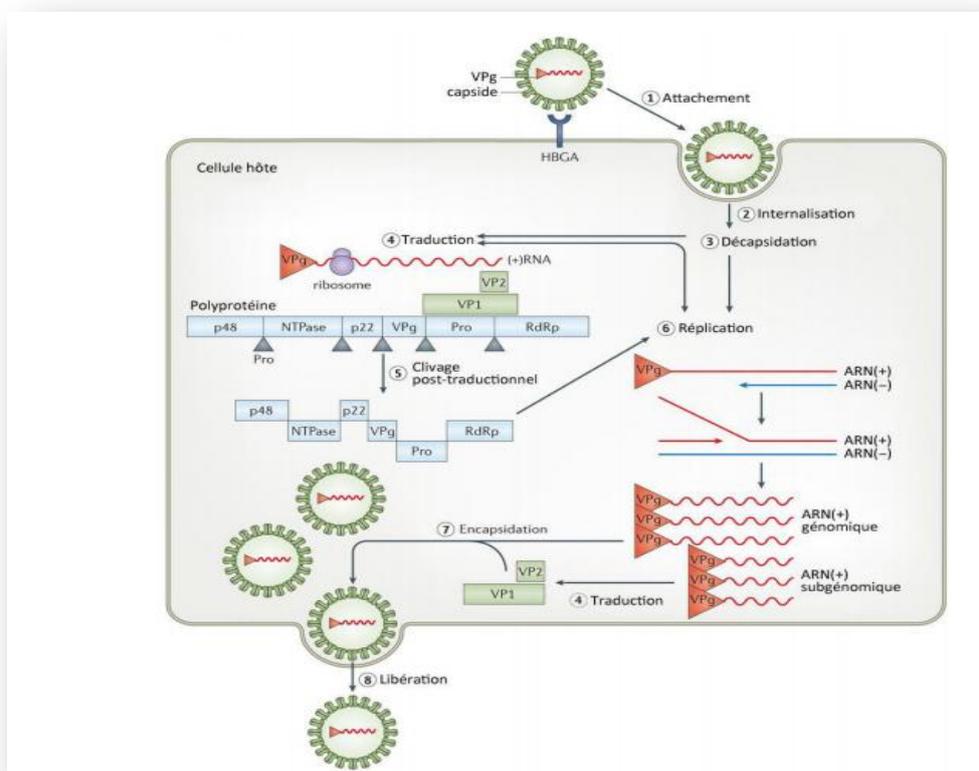


Figure 7: Schéma du cycle de réplication des norovirus d'après Graaf Miranda et coll.

CHAPITRE 2 : PATHOGENIE

II.1. ETUDE CLINIQUE :

II.1.A. PRESENTATION:

La principale voie de transmission par les norovirus des animaux et humains est la voie oro-fécale.

Les observations épidémiologiques et expérimentales suggèrent qu'une autre voie naturelle d'infection pourrait être les voies respiratoires par l'intermédiaire de particules en aérosol dans les vomissements (Scipioni et al., 2008).

La symptomatologie des infections à norovirus apparaissant après une courte période d'incubation, de 15 à 50h, est caractérisée par des vomissements souvent en jets incontrôlables et d'une diarrhée aqueuse, accompagnés de nausées, de crampes et douleurs abdominales, de fièvre, de frissons, de myalgies et de céphalées. Les symptômes varient selon l'âge et l'état d'immunité du patient mais ils sont généralement légers et spontanément résolutifs chez l'homme (Muller, 2015).

Chez les veaux, l'entérite non hémorragique, la diarrhée légère, l'anorexie transitoire la malabsorption et la xylose étaient les signes cliniques courants signalés La diarrhée était plus sévère chez les veaux de 3 semaines que chez les nouveau-nés.

Chez les souris les norovirus provoquent des signes cliniques d'encéphalite, de vascularite des vaisseaux cérébraux, de pneumonie et d'hépatite.

II.1.B. REPONSE IMMUNITAIRE :

Les données initiales concernant les réponses immunitaires de l'hôte contre l'infection par les norovirus ont été générées par une provocation humaine avec un filtrat de selles ou une exposition naturelle pendant les épidémies et ont été compliquées par des facteurs non immunologiques de l'hôte.

Ceux-ci peuvent être génétiques (HBGA pour les souches humaines) et associés à une susceptibilité à l'infection. Les premiers rapports chez l'homme indiquaient un schéma d'immunité clinique inhabituel. Des études sur des volontaires humains avec une souche de norovirus ont établi qu'une immunité à court terme, d'une durée d'environ 6 mois, se développe contre les virus homologues. Cette immunité à court terme n'a pas nécessairement

étendu la protection aux infections hétérologues par les norovirus et pourrait être suivie d'une sensibilité renouvelée à l'infection 1 à 2 ans plus tard.

Ainsi, une seule exposition au virus ne confère pas nécessairement une immunité à long terme. De plus, les individus ayant des titres élevés d'anticorps pré-provocation contre le norovirus ne sont pas protégés contre la réinfection et la maladie après une seule exposition, mais des niveaux élevés d'anticorps deviennent associés à une protection après des expositions répétées. Les veaux testés avec l'agent Newbury 2 ont montré une immunité homologue qui s'est développée 3 semaines après la première inoculation. La durée de l'immunité homologue contre le norovirus bovin n'a pas encore été étudiée.

II.1.A.a.L'IMMUNITE INNEE :

L'immunité innée joue un rôle important dans le contrôle de l'infection murine norovirus-1, tandis que les réponses immunitaires adaptatives dépendantes des cellules B et T ne sont pas nécessaires pour la protection.

Les souris dépourvues de récepteurs d'interféron (IFN) sont plus sensibles à l'infection par les norovirus que les souris immunocompétentes. Chez les porcs inoculés avec du norovirus humain, l'IFN α intestinal est significativement élevé après l'infection.

Le rôle de l'immunité innée dans le contrôle de l'infection pourrait expliquer que les sujets immunodéficients peuvent développer une maladie plus grave et une propagation virale systémique suite à une infection par les norovirus.

II.1.A.b. IMMUNITE ADAPTATIVE :

Essentiellement limitée à l'intestin grêle, l'infection par les norovirus stimule la réponse immunitaire muqueuse et, après l'inoculation expérimentale humaine, une réponse IgA sérique spécifique semble être une caractéristique constante.

Les IgA salivaires ne sont pas réactives croisées entre les génogroupes et pourraient être moins réactives croisées que les IgG au sein du génogroupe.

Certaines personnes génétiquement sensibles ; qui n'ont pas succombé à une infection après une provocation ; ont montré une augmentation précoce des IgA sécrétoires, suggérant qu'une réponse immunitaire de la mémoire pourrait être protectrice. Cependant, on ne sait pas si cette immunité protectrice représente une immunité à court ou à long terme.

Chez l'homme, un pic d'IgM s'est produit environ 2 semaines après l'inoculation en association avec une maladie, et une réponse IgM secondaire s'est produite à plus long terme après une nouvelle provocation. Une réponse IgM au norovirus n'est donc pas limitée à une infection primaire mais est plutôt un marqueur d'une infection récente.

Chez l'homme également, une réponse IgG est activée par une infection, caractérisée par une multiplication par quatre (x4) des titres qui peuvent rester élevés pendant plus de 2 ans après l'infection. Chez les veaux infectés expérimentalement, la réponse sérologique augmente de façon similaire à la réponse sérologique observée chez les humains infectés par le norovirus humain.

Les IgG sériques sont d'abord détectées 5 jours après l'infection et les titres maximaux sont atteints environ 3 semaines après l'inoculation avec un norovirus bovin de génotype 2.

Une caractéristique de ces virus non enveloppés est la relative simplicité de la capsid. Le sous-domaine en saillie P2 est la région la plus variable sur le plan antigénique de la capsid car il est susceptible d'être influencé par la pression immunitaire. Les anticorps monoclonaux reconnaissant les épitopes P2 bloquent les interactions virus-cellule. Cela confirme de plus en plus de preuves que les interactions entre les norovirus et les cellules hôtes reposent sur des structures dans le domaine P2 de VP1 et que VP1 possède un antigène déterminant impliqué dans l'immunité protectrice.

Les épitopes inter-génogroupe largement réactifs sont localisés dans le domaine Shell. En effet, bien que les virus de différents génogroupes soient antigéniquement distincts, les norovirus bovins partagent un épitope à réaction croisée avec un norovirus GII.3 humain. Cet épitope est localisé dans la région N-terminale appartenant au domaine de la coque interne de la protéine de capsid qui est relativement bien conservé.

Chez les porcs et les humains, l'infection par un norovirus humain GII provoque une réponse Th1 prédominante mais non exclusive. Les nombreuses expériences ont utilisé des norovirus VLP (auto-assemblage de VP1) comme substitut pour étudier l'immunité contre les norovirus.

Ces VLP sont produites par différents systèmes de production de protéines, en particulier le système baculovirus, et sont structurellement, morphologiquement et antigéniquement similaires au virus infectieux.

L'infection par les norovirus étant principalement localisée dans l'intestin grêle, l'induction d'une immunité locale peut être importante pour la protection contre l'infection et la maladie. (Figure n°8)

La conclusion des nombreuses études humaines est que l'immunité contre les norovirus humains ne sont pas déterminés par les anticorps sériques et les anticorps sériques préexistants ne semblent pas être associés à une immunité protectrice (Scipioni et al., 2008).

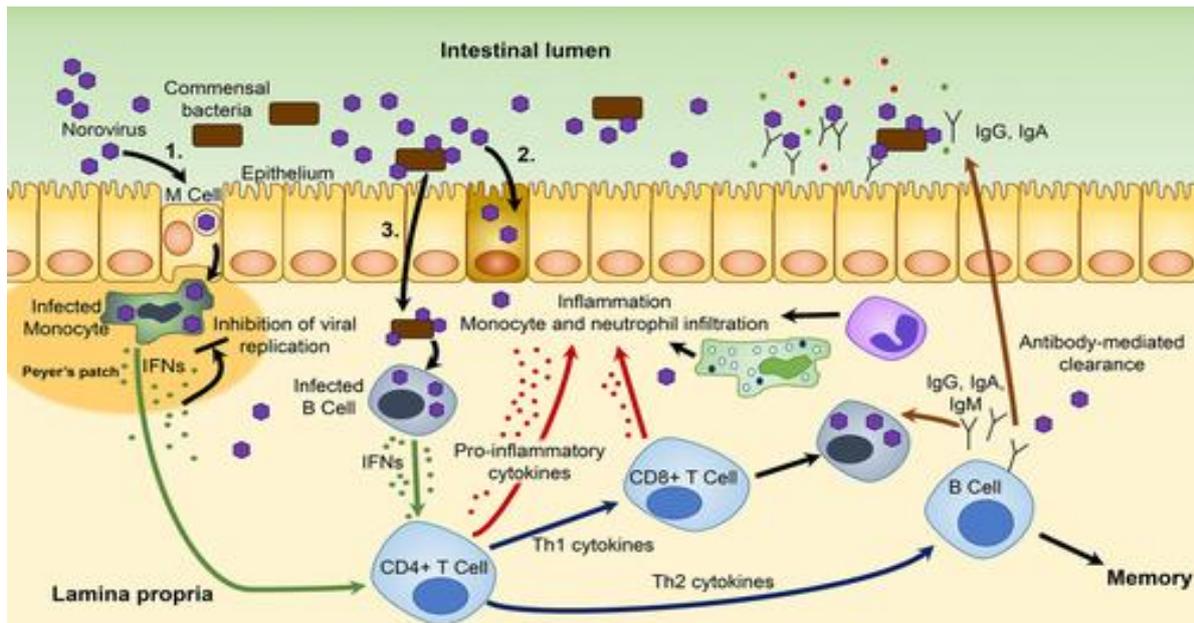


Figure 8 : Schéma de l'infection par les norovirus dans l'intestin et de sa réponse immunitaire (Newman et al., 2015).

Ce schéma montre trois principales voies d'infection hypothétiques. (1) Les norovirus peuvent infecter les monocytes et d'autres cellules associées aux plaques de Peyer d'une manière dépendante des cellules microfold (M), (2) Les norovirus peuvent infecter directement les cellules épithéliales, ou (3) ils peuvent être transporté à travers l'épithélium par le biais d'interactions avec des bactéries intestinales commensales, où elles peuvent infecter les cellules lymphoïdes. Les cellules infectées produisent des interférons (IFN). Les IFN inhibent la réplication virale dans les cellules infectées et peuvent stimuler la différenciation et l'activation des cellules T CD4+, ce qui peut conduire à l'activation des cellules T CD8+ et à la maturation des cellules B. Ce schéma n'est pas destiné à faire des suggestions sur l'emplacement de l'hôte de la différenciation et de l'activation des CD4+ et CD8+ après une infection par les norovirus car ces données sont inconnues. Les cytokines peuvent entraîner une inflammation de l'épithélium intestinal et le recrutement de neutrophiles et de monocytes. Les cellules B produisent des anticorps spécifiques au norovirus qui sont essentiels pour éliminer l'infection. L'infection par les norovirus génère également des cellules B mémoire, qui peuvent protéger contre une infection future par la même souche.

II.2. ETUDE LESIONNEL :

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 monter la présence de lésions histopathologiques correspondant à des lésions villositaires atrophiantes avec une hypertrophie des cryptes intestinales, une infiltration par des cellules mononuclées et présence de vacuoles cellulaires intra cytoplasmiques sans pour autant porter atteinte à l'intégrité cellulaire.

Cette atrophie villositaire a pour conséquence l'apparition d'une malabsorption transitoire avec altération du système enzymatique de la bordure en brosse des entérocytes intestinales qui est à l'origine de la diarrhée.

Il a été également observé une invasion de l'épithélium intestinale par des lymphocytes TCD8⁺ qui serait impliqué dans les altérations morphologiques des villosités et une vacuolisation importante du cytoplasme des entérocytes.

Les muqueuses gastriques et coliques ne présentent aucunes lésions (**Rougemont, 2010**).

CHAPITRE III: EPIDEMIOLOGIE

III.1. FACTEURS INFLUENÇANT L'ÉPIDÉMIE :

Les épidémies à norovirus surviennent tout au long de l'année avec un pic durant la saison hivernale. Elles affectent seulement l'homme, mais la présence du virus est signalée chez l'animal.

Le virus peut persister dans le milieu extérieur (sur les surfaces, dans l'eau potable et le milieu aquatique, aliments souillés consommés crus ou peu cuits), et se maintenir dans un large intervalle de température, de 0 à 60 °C.

Les norovirus se caractérisent par une grande diversité génétique avec absence de protection croisée entre les souches par conséquent une immunité contre une souche de norovirus ne protège pas des autres.

En revanche, Il n'existe pas d'immunité à long terme, un même individu peut subir des infections répétées tout au long de sa vie.

La mutation des norovirus est facile par cassure antigénique et recombinaison, avec apparition de nouvelles souches tous les 2 ou 3 ans. Si la nouvelle variante est découverte au printemps, il est possible de prévoir sa dominance pour l'hiver suivant.

Le virus est aussi très infectieux, avec une faible dose infectieuse : quelques dizaines à quelques centaines de particules virales suffisent à déclencher une infection. Cette infection peut évoluer chez certains patients (surtout immunodéprimés) vers une forme chronique de gastroentérite.

III.2. TRANSMISSION :

Elle se fait par voie directe (principalement (80 % des cas) ou indirecte.

La voie de transmission est oro-fécale, lors des contacts directs, généralement responsables de cas sporadiques (figure n°9). Les cas les plus souvent rapportés concernent, cependant, les contacts indirects lors de l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés, donnant lieu à des épidémies qui peuvent avoir un impact considérable lorsqu'elles ont lieu dans des collectivités (hôpitaux, maisons de repos, écoles, bateaux de croisières).

Les mollusques bivalves sont reconnus comme source importante de toxi-infections alimentaires à norovirus, d'une part, en raison de leur mode d'alimentation ; ces coquillages sont un véritable filtre et concentrent les virus provenant d'une eau contaminée ; et d'autre

part, de par notre mode d'alimentation puisque nous les consommons crus ou peu cuits (Huynen et al., 2019).

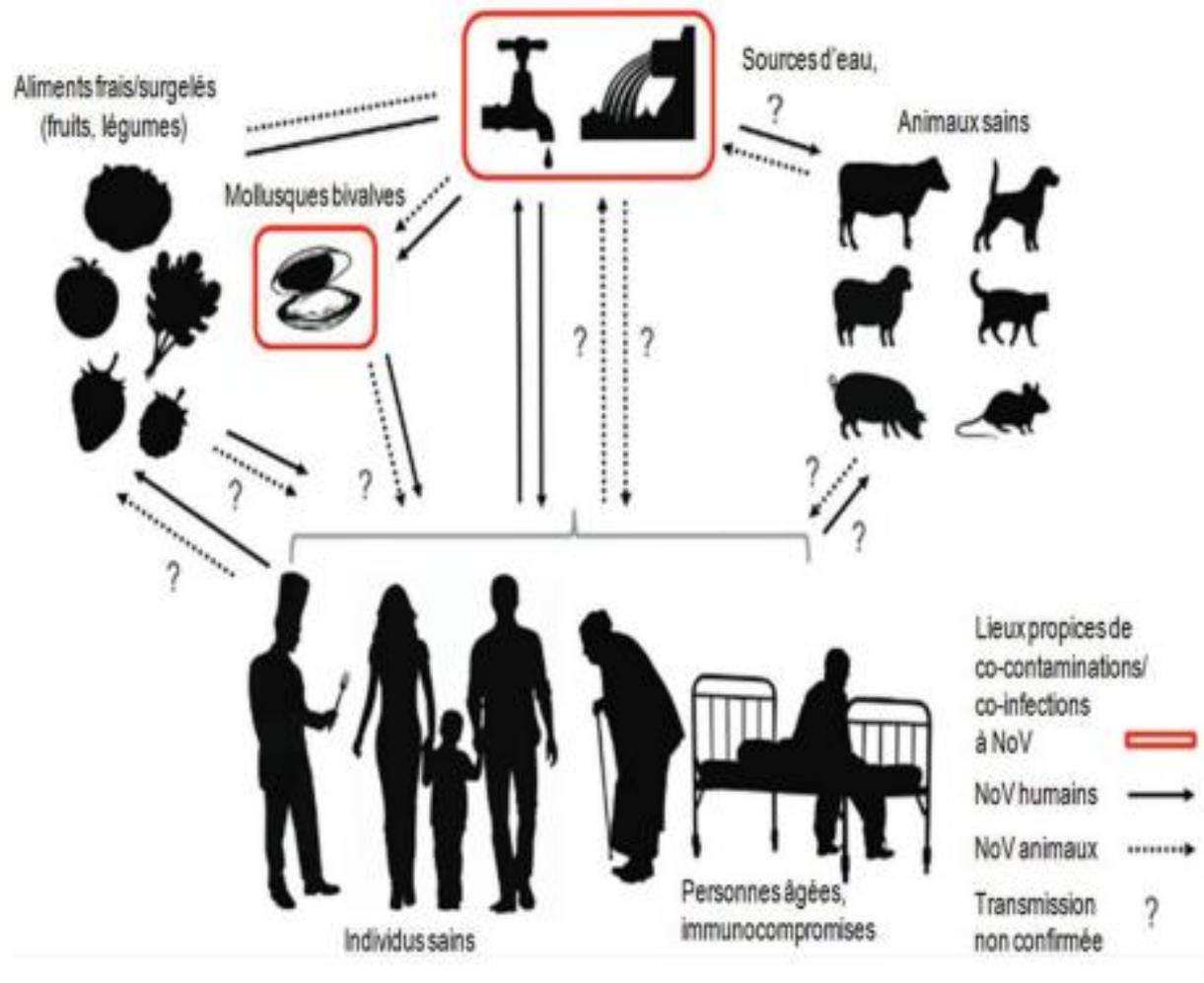


Figure 9 : Voies de transmission des norovirus. Sont encadrés les facteurs propices à la concentration de norovirus (adapté de Ludwig et coll, 2018).

III.3. EVOLUTION :

Dans les norovirus humains GI et GII, les souches GII.4 sont les plus répandues dans le monde. Au cours des deux dernières décennies, plusieurs pics d'épidémie de norovirus GII.4 se sont produits dans le monde en 1996, 2002, 2004 et 2006.

Suivant ces saisons épidémiques et après la pandémie de 1996 avec GII.4, à des périodes de faible activité virale, le norovirus GII.3 est passé d'environ 4% en 1996 à 25% en 1997. En effet ce qui a fait le succès du GII.4 en générant des flambées pandémiques c'est l'existence de norovirus GII.4 avant les années 1980. Déjà dans les années 1970, ils ont

découvert que le norovirus GII.4 était présent dans la population et causait la maladie. Ces anciens norovirus GII.4 partageaient les mêmes propriétés de liaison que le Cluster Camberwell qui aurait apparu au milieu des années 80.

Des études ont suggéré que le norovirus GII.4 évolue par évolution d'époque qui est un processus où des périodes de stase, définies comme aucune différence de phénotype, sont suivies de périodes d'évolution rapide où de nouveaux phénotypes émergent. C'est le même type d'évolution que l'on observe également pour le virus de la grippe.

La souche GII.4 qui a émergé au milieu des années 1980, également appelée grappe de Camberwell. Cette grappe, selon toute vraisemblance, a rencontré une population naïve et avait pu infecter les individus sensibles. L'immunité collective s'est développée dans cette population et pour éviter une extinction totale, le virus a ainsi évolué.

Le Cluster Grimsby est ainsi apparu 6 à 8 ans plus tard et a pu se lier à des antigènes A et B supplémentaires, ce qui a élargi la gamme d'hôtes et l'opportunité d'infecter un nouveau sous-ensemble de la population. Tout récemment, la théorie des épitopes évolutifs a été confirmée et les épitopes évolutifs des norovirus sont très probablement le résultat de mutations dans et autour des sites exposés en surface.

Les différences entre les souches peuvent parfois être dues à un seul changement d'acide aminé, mais cela peut être suffisant pour permettre au virus d'échapper à l'immunité préexistante du troupeau ou de pénétrer dans une population auparavant naïve (**Vildevall, 2011**).

III.4. EPIDEMIOLOGIE :

Les norovirus constituent la première cause de gastroentérites communautaires dans le monde. Ils touchent l'homme tout comme dans les espèces bovine, porcine ou murine. Cependant, peu d'études épidémiologiques ont été menées sur les infections animales aux norovirus (**Sciponie, 2009**).

Outre les animaux domestiques, des norovirus ont également été détectés chez des animaux sauvages, tels que les marsouins communs (*Phocoena phocoena*) et les otaries de Californie (*Zalophus californianus*). Aucun de ces virus n'a pu être attribué à un génogroupe existant (**Villabruna et al., 2019**).

Les norovirus sont responsables des épidémies hivernales (pic entre le mois de décembre et le mois de janvier) qui dépend de plusieurs facteurs tels que la température, l'humidité, l'immunité de la population et l'émergence de nouvelles variantes de norovirus (**Vildevall, 2011**).

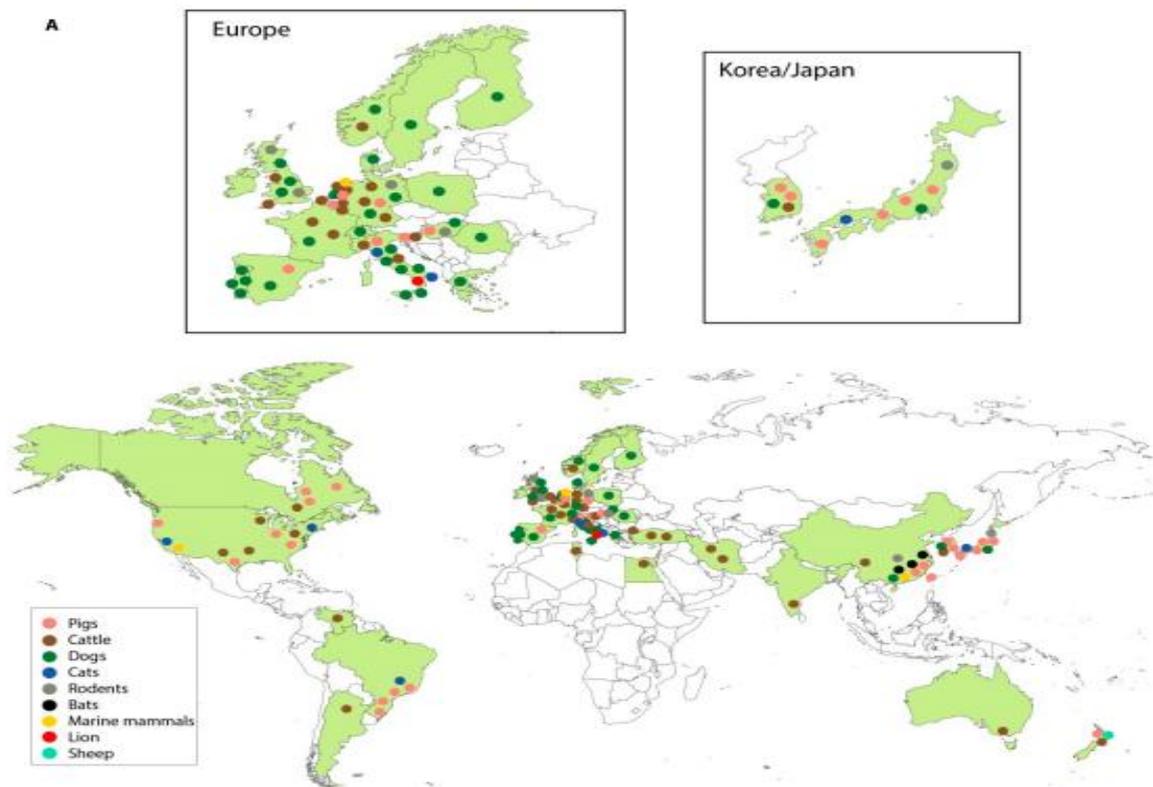


Figure 10 : Distribution des norovirus animaux dans le monde (Villabruna et al., 2019).

(A) Pays dans lesquels les norovirus animaux détectés sont de couleur verte. Chaque point représente une étude et un lieu où les animaux ont été trouvés positifs par RT-PCR, RT-PCR en temps réel ou sérologie. La couleur indique l'hôte.

Ces épidémies sont principalement du au génotype GGII.4, c'est le cas en 2002 avec la souche *Farmington Hills* entraînant une augmentation importante des épidémies dans toutes l'Europe, en 2004 avec la souche *Hunter* qui lui a succédé et en 2006. Or La saison entre 2014 et 2015 était une saison épidémique où le génotype dominant du norovirus humain était le GI.17 dans certains pays asiatiques comme la Chine (**Rougemont, 2010**).

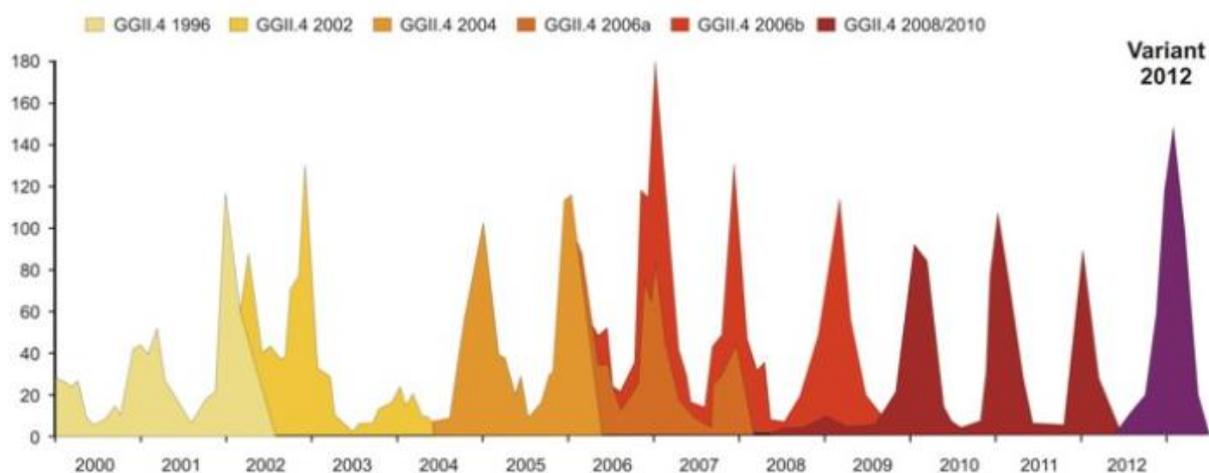


Figure 11: Emergence périodiques des variantes GGII.4 (Rougemont et al., 2010).

Pour la région de MENA il y'a peu d'études sur la prévalence du norovirus, le tableau suivant résume le nombre des études entre 2000 et 2015 :

Pays	Nombre d'études	Taux minimum d'infection	Taux maximum d'infection
Djibouti	1	25,33%	
Egypte	4	13,48%	26,00%
Iran	6	4,14%	32,92%
Iraq	1	30,00%	
Jordan	1	11,41%	
Kuwait	1	8,23%	
Lebanon	1	6,32%	
Libye	2	15,48%	17,50%
Maroc	2	0,82%	16,12%
Qatar	1	28,47%	
Arabie Saoudite	3	3,56%	4,58%
Tunisie	5	8,99%	36,84%
Turquie	8	9,81%	27,70%
Yémen	1	10,35%	
MENA	37	0,82%	36,84%

Tableau 1 : Infection à norovirus dans les pays de la région MENA entre 2000 et 2015 (Kreidieh et al., 2017).

Ces études ont permis de déduire la prévalence globale des norovirus chez des personnes atteintes de gastro-entérite provenant de 14 pays africains qui est de 13.5% (figure n °12).

La prévalence des norovirus est de 14 % dans un environnement en développement et à forte mortalité. Cette prévalence est plus faible par rapport à 20 % dans les pays développés mais sa ne reflète pas une charge de norovirus plus faible, mais plutôt une plus grande diversité et une prévalence plus élevée d'autres agents pathogènes de la gastro-entérite (Mans et al., 2016).

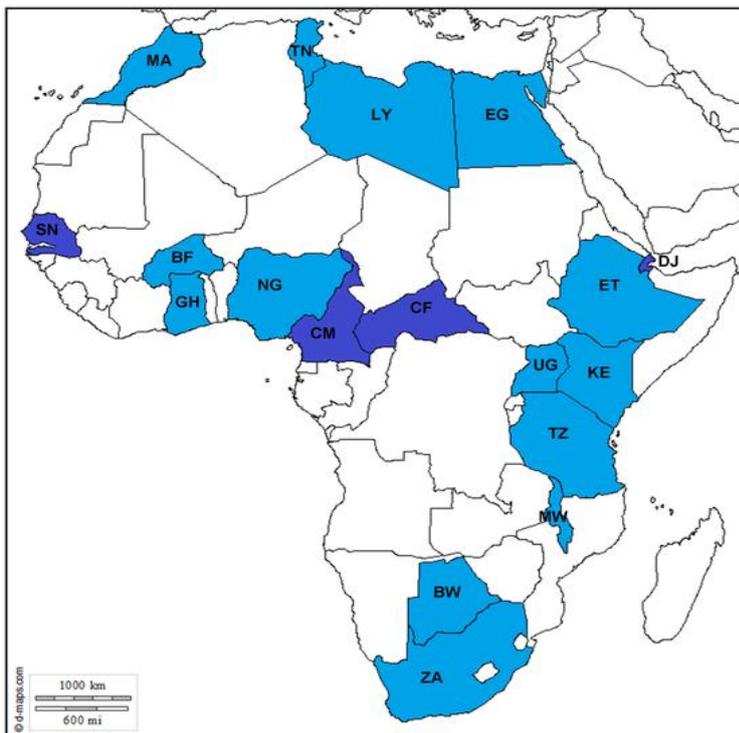


Figure 12 : Carte de l'Afrique indiquant les pays à partir desquels les données de prévalence et de diversité ont été obtenues (bleu clair) et les pays où seules les données de génotype des norovirus étaient disponibles (bleu foncé) (Mans et al., 2016).

BF — Burkina Faso, BW — Botswana, CF — République centrafricaine, CM — Cameroun, DJ — Djibouti, EG — Egypte, ET — Ethiopie, GH — Ghana, KE — Kenya, LY — Libye, MA — Maroc, MW — Malawi, NG - Nigéria, SN - Sénégal, TN - Tunisie, TZ - Tanzanie, ZA - Afrique du Sud.
Réimprimé à partir de d-maps.com sous une licence CC BY, 2007–2015

CHAPITRE IV: DIAGNOSTIC

IV.1. DIAGNOSTIC EPIDEMIO-CLINIQUE :

Le diagnostic épidémioclinique des norovirus est basé sur la forme classique d'une gastroentérite aiguë. Dans un tableau d'une affection sporadique ; les symptômes sont hautement indicatifs dont :

- Une période d'incubation de 15-50 heures.
- Diarrhée et vomissement dans plus de 50 % des cas.
- Durée moyenne des symptômes entre 12-60 heures.
- Haute contagiosité.
- Échantillons fécaux réagissant négativement pour les agents pathogènes bactériens et parasitaires (**Meštrović, 2021**).

Le diagnostic lésionnel des norovirus comprend la présence d'une atrophie villositaire, une hyperplasie de la crypte et un œdème dans la sous-muqueuse dans l'intestin grêle proximal. Les muqueuses gastrique et rectale n'ont pas été affectées.

IV.2. DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL :

Il est basé principalement sur la microscopie électronique à coloration négative (NSEM) et les techniques de biologie moléculaire.

Parmi ces techniques on trouve l'analyse inverse de réaction en chaîne de transcriptase-polymérase (RT-PCR), la RT-PCR en temps réel et l'amplification basée sur la séquence d'acide nucléique (NASBA).

Les méthodes de dosage immunoenzymatique sont aussi utilisées tels que l'ELISA (Dosage immunoenzymatique sur support solide) et l'EIA (Essai immunoenzymatique).

IV.2. A. Échantillons cliniques :

L'échantillonnage est la première étape à appliquer avant chaque test, elle doit se faire idéalement en respectant les normes. Pour les norovirus la récolte peut se faire à partir des selles, vomissements, sérum, de l'eau et de l'environnement.

IV.2.A.a. Les selles :

Les selles sont le spécimen clinique préféré pour le diagnostic en laboratoire de la maladie des norovirus. Il faut prélever au moins des échantillons de 5 sujets malades au cours

des enquêtes. Idéalement, l'échantillonnage se fait pendant la phase aiguë de la maladie (jusqu'à 72 heures après le début des symptômes) alors que les selles sont encore liquides ou semi-solides car à ce stade, le virus est excrété en grande quantité.

Les norovirus peuvent parfois être détectés dans des échantillons de selles qui sont collectés plus tard dans la maladie ou après la disparition des symptômes (jusqu'à 7 à 10 jours après le début). Or le nombre d'échantillons collectés doit être augmenté s'ils sont prélevés après la phase aiguë de la maladie ou pour des flambées importantes ou prolongées. Si les échantillons sont expédiés à un laboratoire pour analyse, chaque échantillon doit être :

- Clairement étiqueté avec un identifiant unique (tel que l'identifiant de l'échantillon).
- Placé dans un récipient en plastique étanche et scellé dans un sac séparé.
- Conservé sur des packs réfrigérants congelés dans un récipient en polystyrène isolé et étanche.

Si le test a lieu dans les 2 à 3 jours suivant le prélèvement pour les échantillons de selles ces derniers doivent être réfrigérés à 4 ° C. Si les tests ont lieu au-delà de ces délais ou doivent être archivés, les échantillons doivent être congelés idéalement à -70 ° C ou à -20 ° C si le stockage à -70 ° C n'est pas disponible.

IV.2.A.b. Les vomissements

Les vomissements peuvent être collectés en plus des échantillons de selles lors d'une enquête épidémiologique. Ces échantillons doivent être collectés et expédiés de la même manière que les échantillons de selles. Par contre ils doivent toujours être conservés congelés à -20 ° C ou à -70 ° C.

IV.2.A.c. Le sérum :

Les échantillons de sérum ne sont pas recommandés pour le diagnostic de routine en laboratoire d'une maladie à norovirus.

Si cela est faisable et justifié pour des études spéciales, des échantillons de sérum en phase aiguë et en phase de convalescence peuvent être prélevés. Les échantillons de sérum doivent être conservés congelés à -20 ° C.

- Les échantillons de sérum en phase aiguë doivent être prélevés au cours des 5 premiers jours suivant le début des symptômes.

- Les échantillons en phase de convalescence doivent être prélevés au cours de la troisième à quatrième semaine après le début des symptômes.

IV.2.A.d. Échantillons de nourriture et d'eau :

Les norovirus peuvent être détectés dans l'eau, les aliments et les échantillons environnementaux. Cependant, le virus doit d'abord être concentré et / ou extrait de l'eau ou de l'échantillon alimentaire.

IV.2.A.e. Spécimens environnementaux :

Des écouvillons d'objets, tels que des poignées de porte et des mains courantes, et des surfaces dures, telles que des comptoirs de cuisine, peuvent également être testés pour le norovirus. Cependant, la quantité de virus sur les surfaces est souvent faible et la détection du virus à partir de prélèvements n'est pas toujours possible (www.cdc.gov, 2021).

IV.2.B. : Microscopie Electronique à Coloration Négative (NESM):

Le principal avantage de cette méthodologie est que ; contrairement aux autres méthodologies ; la NSEM ne dépend d'aucun réactif spécifique aux norovirus. Par conséquent, une attente de détection des norovirus n'est pas une condition préalable à leur identification, ce qui la différencie des autres techniques (Marshall et al., 2006).

Par ailleurs, cette technique est utile pour dépister des virus inconnus ou identifier des infections mixtes mais parce qu'elle est laborieuse, prend du temps et nécessite de l'expérience, un équipement coûteux et une charge virale élevée, elle n'est pas utilisée en routine pour la détection des norovirus.

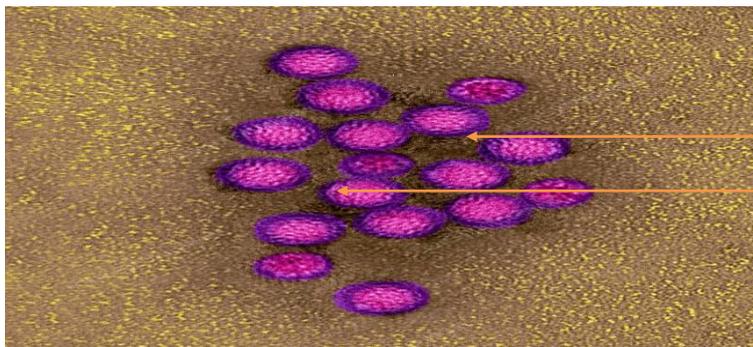
La microscopie électronique a une limite de détection de base de 10⁶ virions par ml de selles. Il est difficile d'observer les particules des norovirus car elles ne possèdent pas de forme caractéristique.

Par conséquent, l'utilisation d'anticorps spécifiques pour enrober et agréger les particules virales dans ce que l'on appelle la microscopie électronique immunitaire (IEM) augmente le taux de détection.

Une échelle de 0 (pas d'enrobage du virus) à +4 (enrobage complet et agrégation) pour décrire la quantité d'interaction virus-anticorps.

Cependant, cette technique ne peut pas détecter un taux élevé de malades. Pour améliorer le taux de détection, la SPIEM (microscopie immunitaire en phase solide) a été développée là où des immunoglobulines ont été utilisées pour recouvrir les grilles et capturer les virions.

Un système automatisé composé d'un WindowsTM TEM, une caméra et un processeur d'image pourraient détecter 95% des particules de type virus qui ont été détectées par un opérateur sur des sélles semi-purifiées (figure n°13). Les norovirus étaient colorés avec 2% d'acétate d'uranyle (pH4) et le paramètre d'image a été réglé à 30 ± 6 nm pour diamètre des particules (Cheetham, 2006).



Virions des norovirus qui présentent un contour irrégulier, plumeux et ne possèdent pas de structures distinctes à leur surface.

Figure13 : Norovirus, technique de micrographie électronique à transmission colorée (TEM) Grossissement: x 21,820 (KUNKEL, 2021).

IV.2.C. L'analyse inverse de réaction en chaîne de transcriptase-polymérase RT-PCR :

La RT-PCR est une technique hautement sensible de détection des norovirus.

Cette technique associe une transcription inverse (RT) suivie d'une PCR. Elle synthétise le brin complémentaire d'un ARN avec des désoxyribonucléotides en utilisant une ADN polymérase ARN dépendante (transcriptase inverse). Ce brin est destiné à être amplifié par PCR.

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est basée sur la répétition des cycles dont chaque cycle comprend 3 étapes. D'abord une dénaturation thermique de l'ADN à 95°C où les deux brins de l'ADN se séparent par rupture des liaisons hydrogènes, nous obtenons alors des matrices simple brin. Ensuite une Hybridation des amorces à 50°C-65°C. Cette température permet aux liaisons hydrogènes de se reformer. Enfin une Elongation à 72°C qui

permet aux polymérase de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice à une température qui leur est optimale. (www.eurofins.fr, 2021)

La RT-PCR est applicable à l'étude des épidémiologies mais la présence d'inhibiteurs de réaction dans les selles, les vomissures, le sérum et l'environnement en plus de la grande diversité génétique des norovirus se traduisent par un grand nombre d'échantillons faux négatifs.

De nombreuses approches ont été adoptées pour détecter plus de souches et réduire le nombre de faux négatifs par RT-PCR:

- Méthodes d'extraction d'acide nucléique qui éliminerait les inhibiteurs.
- l'utilisation d'un contrôle de réaction standard interne pour détecter la présence d'inhibiteurs de réaction.
- Des amorces réactives plus larges qui pourraient détecter autant de souches de différents génogroupes et de norovirus.

IV.2.C.a. Méthodes d'extraction d'ARN :

L'efficacité de cette procédure est similaire à celle des méthodes conventionnelles.

Elle permet de dénaturé la protéine de capsid et libéré l'ARN et inactivé certains inhibiteurs. Les avantages sont la simplicité, le faible coût et la rapidité. On constate aussi la présence d'un instrument d'isolement d'acide nucléique (exemple : MagNa Pure, Roche) capable d'extraire 32 échantillons en parallèle.

IV.2.C.b. Contrôle interne

Il existe de différentes façons d'éviter la réaction des inhibiteurs. Parmi ces techniques on utilise la dilution de l'échantillon, l'utilisation d'une seconde paire d'amorces pour détecter une autre séquence qui est présente dans l'échantillon et l'utilisation d'un contrôle interne.

L'ingénierie du contrôle interne implique le clonage de la séquence cible dans un vecteur avec des amorces spécifiques qui ont des séquences complémentaires avec des suppressions internes alternées. Les contrôles internes sont essentiels lors de l'analyse d'échantillons d'eau où les inhibiteurs de réaction sont concentrés ensemble avec des virus lors du traitement des échantillons.

IV.2.C.b. Les amorces :

Pour un criblage épidémiologique d'un grand nombre d'échantillons avec des souches très divergentes, une paire d'amorces largement réactives est souhaitée, même si cela entraîne une diminution de la sensibilité.

Ces amorces ont été développées pour détecter le génome virale des norovirus de différents génogroupes ainsi que d'autres virus entériques tels que les *Adénovirus*, *Astrovirus*, *Rotavirus* et *Sapovirus*. L'avantage d'une réaction multiplex est le coût et la réduction du temps lors de la détermination de l'agent provoquant une épidémie (Cheetham, 2006).

IV.2.D. L'amplification basée sur la séquence d'acide nucléique (NASBA) :

La NASBA ou d'amplification basée sur la séquence d'acide nucléique est une procédure isotherme qui permet la répllication spécifique des acides nucléiques. Cette réaction prend 90 minutes et utilise 2 amorces spécifiques à la cible.

Les 3 enzymes utilisées sont la rétrotranscriptase (RT), l'ARN polymérase T7 et la ARNase H. La méthode a été utilisée pour la détection des norovirus bien que des travaux supplémentaires soient nécessaires avant que les avantages de cette méthode puissent être pleinement évalués.

La NASBA a permis de détecter le virus Norwalk et a conclu que des améliorations de la spécificité des tests et de la conception des amorces étaient toujours nécessaires. Cette méthode a montré une sensibilité de 100% mais seulement 80% de spécificité par rapport à la RT-PCR standard.

IV.2.E. RT-PCR en temps réel :

la RT-PCR en temps réel autrement dite la PCR quantitative (RT-qPCR) a été appliquée à l'étude des calicivirus. Les avantages de l'utilisation de la technologie de cyclage léger sont la vitesse, la sensibilité et la spécificité qui ont une grande importance lors d'une épidémie.

Cette technique utilise différents ensembles d'amorces oligonucléotidiques pour détecter les norovirus du génogroupe I, du génogroupe II, du génogroupe VIII et du GIX. Les dosages RT-qPCR peuvent également fournir des estimations de la charge virale (www.cdc.gov, 2021).

IV.2.F. Essai immunoenzymatique (EIA):

La méthode d'essai immunoenzymatique est décrite comme un supplément pour la PCR du a sa simplicité et sa rapidité.

Elle permet la détection des norovirus dans un échantillon de selles, cependant ces kits ont une faible sensibilité (50 à 75%) et ne sont généralement pas recommandés pour tester des échantillons uniques provenant de cas sporadiques de gastro-entérite.

Ces tests sont spécifiques mais manquent de sensibilité. Ils sont néanmoins utiles pour une première approche mais les résultats négatifs doivent être vérifiés par RT-PCR. .

Ainsi, les kits EIA ne doivent pas remplacer la RT-qPCR lors des enquêtes épidémiologiques (www.bio67.fr , 2011).

IV.2.G. Dosage immunoenzymatique sur support solide (ELISA) :

Des tests ELISA d'anticorps utilisant des VLP comme antigènes ont été développés pour détecter la spécificité totale, de classe et de sous-classe d'immunoglobulines (Ig) dans le sérum ainsi que les anticorps IgA fécaux spécifiques à la souche (virus Norwalk).

Pour les norovirus bovins et porcins, des ELISA d'anticorps et d'antigènes ont été décrits (**Le journal vétérinaire, 2008**).

À l'heure actuelle, trois kits commerciaux d'analyse immunoenzymatique (ELISA) sont disponibles, le kit IDEIATM (ELISA; Dako Cytomation, Ely, Royaume-Uni), le kit SRSV II -AD (Denka Seiken Co. Ltd., Tokyo, Japon) et le norovirus RIDASCREEN.

Selon les évaluations précédentes des kits ELISA, les deux premiers kits ne peuvent remplacer efficacement la RT-PCR pour la détection des norovirus en raison de leurs faibles sensibilités et / ou spécificités (**Journal de microbiologie clinique, 2006**).

IV.3. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL :

L'infection à norovirus est à différencier majoritairement avec les autres gastroentérites aiguës qui peuvent être d'origine bactérienne ; virale ou même parasitaire (Tableau 3).

Les symptômes communs sont la présence de diarrhée et de vomissement.

Agent Responsable De La gastroentérite Aigue	Epidémiologie	Clinique	Diagnostic
Norovirus	Répartition mondiale. Atteinte de toutes les tranches d'âge. Prédominance hivernale.	Diarrhée aqueuse chez l'adulte. Vomissement chez le jeune. Faible fièvre. (Gastro de 24 heures). Selles molles, aqueuses quine contiennent ni de sang ni de mucus.	EM. ELISA. RT-PCR. QPCR.
Rotavirus	Première cause de diarrhée dans le monde. Touche beaucoup plus les jeunes. (Gastroentérite infantile) Epidémie hivernale	Diarrhée aqueuse importante qui dure une semaine. Vomissement. Déshydratation. Forte fièvre. Asymptomatique chez les adultes, cause des gastroentérites chez les jeunes et des diarrhées chroniques chez les hôtes immunisés.	EM. ELISA. RT-PCR. Culture cellulaire.
Astrovirus	Epidémie chez les jeunes, âgées et les immunodéprimés.	Symptômes semblables à ceux d'une légère infection à Rotavirus.	ELISA. RT-PCR.
Adénovirus	Endémique. Pas de caractère saisonnier. Touche beaucoup plus les jeunes.	Diarrhée qui dure jusqu'à 2 semaines. Léger vomissement. Légère fièvre.	ELISA. PCR.
Gastroentérite d'origine bactérienne	Taux de morbidité élevé. Taux de mortalité élevé. E.coli et Salmonelle sont les agents les plus impliqués.	Fièvre élevée. Selles hémorragiques avec une odeur caractéristique plaident en faveur d'une origine bactérienne. Douleurs abdominales.	Coproculture.
Parasite : Cryptosporidium	Maladie cosmopolite. Touche toutes les tranches d'âge pour les humains. Atteinte des jeunes beaucoup plus pour les animaux (bovin, ovin, oiseaux).	Diarrhée glaireuse ou purulente et/ou sanglante. Douleurs abdominales possibles. Fièvre. Risque de surinfection.	Coprologie.

Tableau 2 : Diagnostique différentiel entre les agents causant les gastroentérites chez l'homme.

CHAPITRE V:
**CHAPITRE V:
TRAITEMENT
&
PROPHYLAXIE**

V.1. TRAITEMENT :

Les norovirus sont responsables des gastro-entérites ; 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 (**Rougemont, 2010**).

V.1.A. AGENTS ANTI-GASTRO-ENTERITE :

Les soins de support sont la règle pour traiter les gastro-entérites associées aux norovirus. Ces soins sont réalisés par rapport à l'état du malade et les conditions qui l'entourent.

- Une solution de réhydratation orale (SRO) contenant des électrolytes est généralement suffisante pour compenser la perte de liquide avec la diarrhée et les vomissements.
- La voie intraveineuse est recommandée lors d'une déshydratation sévère malgré que celle-ci soit rare.
- Lors d'échec de traitement des vomissements, l'administration de SRO en petites quantités est recommandée.
- Pour un enfant qui vomit, une perfusion nasogastrique continue et lente de SRO via une sonde d'alimentation peut être utile.
- Pour les jeunes enfants infectés de moins de 5 ans, qui présentent au moins 2 des signes suivants: agité, irritable; yeux enfoncés; boit avidement et soif; le pincement cutané remonte lentement, indique que la déshydratation et les soins peuvent être fournis à la maison.
- Si un enfant présente au moins 2 de ces signes: léthargique ou inconscient; yeux enfoncés; incapable de boire ou de boire mal; le pincement cutané remonte très lentement, il est considéré comme une déshydratation sévère et des soins d'urgence hospitaliers sont nécessaires. Si l'enfant encore peut boire, des gorgées de SRO doivent être administrées sur le chemin de l'hôpital (**Wang, 2005**).

V.1.B. ANTIVIRAUX :

Actuellement, il n'y a pas de traitement spécifique pour la gastro-entérite à norovirus et seule la réhydratation palliative est recommandée.

En vue de la recherche des médicaments antiviraux, il a été démontré que l'interféron alpha ; 24 heures après son application ; a une activité antivirale contre l'infection par le calicivirus félin des cultures cellulaires en induisant le gène Mx félin. La fonction est bien connue bien que son mécanisme ne soit pas clair. Cela est expliqué par l'activité GTPase89 du gène Mx qui peut réguler le trafic ou la transcription des complexes de ribonucléoprotéines virales (**Cheetham, 2006**).

En revanche, l'histone H1 non cytotoxique était un réactif antivirus potentiel et une protéine de liaison des norovirus extrêmement puissante. Il interagit avec les particules de norovirus et aussi avec la surface cellulaire, et empêchait l'attachement des norovirus seulement aux cellules intestinales.

D'autre part les particules virales de synthèse (VLP) du virus Norwalk se fixent aux antigènes du groupe histo-sanguins (HBGA) à la surface des cellules épithéliales de la jonction gastroduodénale, ces attachements ont été supprimés par l' α -1, 2-fucosidase et inhibés par les trisaccharides H types 1 et 3 ou par des anticorps anti-H type 1 et anti-H type 3/4. La liaison du virus à des cellules spécifiques étant la première étape de l'infection virale, l'histone H1, l' α -1, 2-fucosidase et les polysaccharides sont des réactifs potentiels de réplication anti-norovirus.

Une autre technique était démontrée c'est la technologie anti sens utilisant des oligomères phosphorodiamidates morpholino (PMO) qui est une approche prometteuse pour surmonter les problèmes diagnostiques et thérapeutiques actuels inhérents aux maladies virales émergentes.

Cette stratégie est basée sur le principe selon lequel l'ARN double brin est dégradé dans les cellules eucaryotes en tant que mécanisme de défense de l'hôte (**Wang, 2005**).

Il existe de nombreuses études dans lesquelles des oligomères phosphorodiamidates morpholino ont été administrés localement (intra-tumeur), par voie parentérale, orale, intraveineuse, intrapéritonéale ou transdermique dans divers modèles animaux tels que les rats, les souris, les lapins, les porcs, les poissons et les grenouilles pour un certain nombre de pathologies différentes y compris le cancer et les maladies infectieuses.

Il existe également des (PMO 90) qui sont actuellement testés dans des essais sur l'homme. Les oligomères phosphorodiamidates morpholino sont stables dans le plasma mais sont sensibles à la dégradation après une exposition prolongée à un pH bas.

V.2. PROPHYLAXIE :

V.2.A PROPHYLAXIE SANITAIRE :

La prévention et le contrôle des norovirus sont basés sur la lutte contre leur transmission qui est difficile à gérer en conséquence de plusieurs facteurs qui la favorise.

Le respect des règles d'hygiène constitue la principale mesure préventive contre la transmission des norovirus.

Comme pour bon nombre d'agents infectieux, le manuportage est le principal mode de transmission des norovirus entre individus d'où :

- 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'hygiènes alimentaires, à savoir :

- Ne consommer que l'eau en bouteille capsulée ou rendue potable,
- Eviter 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 (**Rougemont, 2010**).

V.2.B. PROPHYLAXIE MEDICALE :

La vaccination est la stratégie la plus efficace pour la protection contre les maladies infectieuses.

Cependant, aucun vaccin n'est actuellement disponible contre les norovirus humains ou animaux (**Yang, 2014**).

Étant donné que les norovirus causent des fardeaux sanitaires, économiques et émotionnels importants aux humains, la préparation d'un vaccin efficace contre les norovirus humains est devenue une urgence.

L'exposition au virus Norwalk induit au moins une immunité protectrice à court terme, ce qui confirme qu'une approche vaccinale pour contrôler l'infection humaine par le norovirus est faisable.

En raison de la diversité antigénique des norovirus humains, un vaccin efficace doit protéger contre la plupart, sinon la totalité, des principales souches en circulation.

V.2.B.a. LES VACCINS A PARTIR DES VLP

Or que, la vaccination de la population générale peut ne pas être efficace ou rentable. Des vaccins ont été élaboré à partir de particules virales de synthèse (VLP), ces particules sont utilisées comme matériel antigénique et présentant les mêmes propriétés antigéniques et structurales que les virions sans le génome (**Rougemont, 2010**).

La plupart des études sur les vaccins contre les norovirus humains se sont concentrées sur les VLP en raison de ces propriétés uniques qui pourraient contribuer à l'immunogénicité des norovirus VLP :

Les particules virales de synthèse sont stables à faible pH et sont particulières, ciblant éventuellement les plaques de Peyer dans le tractus gastro-intestinal. Ainsi, les norovirus VLP sont un candidat vaccinal potentiel pour prévenir les infections au norovirus.

Sauf que la préparation des VLP prend du temps et est coûteuse, elle nécessite généralement une dose élevée de VLP et de multiples rappels pour l'immunisation. De plus, comme les VLP sont en fait des protéines, la durée de la stimulation antigénique peut être limitée (**Cheetham, 2006**).

Ce vaccin est administré par voie nasale vu qu'il présente plusieurs avantages tels que :

- La facilité d'administration,
- La stimulation des réponses immunitaires à la fois locales et systémiques.
- La facilité de stockage à température ambiante (**Vildevall, 2011**).

V.2.B.b. LES VACCINS A ADN

Un autre domaine à explorer est l'utilisation de vaccins à ADN.

Ce vaccin est construit à partir d'un vecteur plasmidique portant le gène de la capsidie du calicivirus félin et inoculé en 3 doses de 100 microgrammes à 2 semaines d'intervalle par injection intramusculaire.

Les résultats n'ont détecté aucune réponse d'anticorps avant la provocation avec le calicivirus félin virulent, mais après la provocation, les chats vaccinés avaient des titres d'anticorps plus élevés que les chats témoins.

Une protection partielle a été suggérée chez les chats vaccinés en se basant sur les signes qui étaient plus doux dans le groupe vacciné (**Cheetham, 2006**).

En plus, les plantes transgéniques représentent un système nouveau et potentiellement économique pour la production d'antigènes vaccinaux et les plantes comestibles elles-mêmes peuvent servir de systèmes d'administration orale.

Conclusion

Le genre *Norovirus* représente une catégorie d'agents infectieux qui appartient à la famille des *Caliciviridae*.

Ces micro-organismes peuvent infecter plusieurs espèces dont l'homme, le porc, les bovins, les souris et les carnivores (chiens, chats). Leurs capacités de multiplication et la résistance à l'environnement favorise leur transmission.

Ces virus sont fortement impliqués dans les gastroentérites aiguës liées aux épidémies hivernales. Généralement les signes cliniques s'expriment après 12 à 48 heures suite à l'exposition à une faible dose de norovirus.

Les symptômes sont dominés par des diarrhées non sanguinolentes, des vomissements, des douleurs abdominales et des nausées. Ils sont généralement de durée de 24 heures, résolutifs et ne provoquent pas de dégâts chez les sujets normaux par contre ils peuvent nécessiter une hospitalisation des sujets âgés ou immunodéprimés.

Le traitement des gastroentérites provoquées par les norovirus n'est pas spécifique et seule la réhydratation est possible. En revanche il n'existe pas de vaccins contre les norovirus et seul le respect des mesures d'hygiène peut prévenir l'infection.

Cette étude consiste en une étude bibliographique sur les norovirus, elle nous a permis une meilleure compréhension de l'infection à ces agents pathogènes. Elle nous a aidés à souligner l'importance des gastroentérites virales sur le plan sanitaire, économique et zoonotique. Elle nous a permis aussi de mieux connaître la structure de ce virus, de comprendre sa pathogénie, sa répartition et les différents moyens de diagnostic.

Références bibliographiques

- ❖ **CHEETHAM SONIA M, DVM** (2006). PATHOGENESIS OF HUMAN NOROVIRUS IN GNOTOBIOTIC PIGS. Doctorat. The Ohio State University : Graduate School of The Ohio State University, 324 p
- ❖ **CHHABRA et al.**, Introduction. *Journal of General Virology* 2019;100:1393–1406
- ❖ **CHRISTIANE E. WOBUS, LARISSA B. THACKRAY, AND HERBERT W. VIRGIN IV**(2006). Murine Norovirus: a Model System To Study Norovirus Biology and Pathogenesis. *JOURNAL OF VIROLOGY* , 80(11) ; pp. 5104–5112
- ❖ **DICAPRIO ERIN LEIGH, B.S.**(2012). Attachment, Internalization, and Dissemination of Human Norovirus and Animal Caliciviruses in Fresh Produce. Master. The Ohio State University : Graduate School of The Ohio State University. 146
- ❖ **DONALDSON E-F., LINDERSMITH L-C., LOBUS A-D., BARIC R-S**(2010). Viral shapeshifting: Norovirus evasion of the human immune system. *Nature review microbiology*. Vol. 8, 231-241.
- ❖ **GRAZIANO VINCENT R, WEI JIN, WILE CRAIG B** (2019). Norovirus Attachment and Entry. *Viruses* , 495(11) ;pp. 1-14
- ❖ **HUYNEN P, MAUROY, MELIN P, THIRY E** (2019). Les Norovirus Ces Entéropathogènes épidémiques mondiaux méconnus, 74(1), pp53-58
- ❖ **INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE DU QUEBEC** (2005). 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, pp 1-3
- ❖ **JOHN WILEY, SONS A/S** (2001). Norovirus, gastroenteritis, and indoor environmental quality. *Wileyonlinelibrary*, 356(21), pp. 353–356 .
- ❖ **KREIDIEH KHALIL, CHARIDE RANA, DBAIBO GHASSAN, MELHEM NADA M.** (2017). The epidemiology of Norovirus in the Middle East and North Africa (MENA) region: a systematic review. *Virology Journal* ; 220 ; pp 1-10
- ❖ **LAMPINEN VILI, HEINIMÄKI SUVI, LAITINEN1 OLLI H, PESU1 MARKO, HANKANIEMI1 MINNA M, BLAZEVIC VESNA, HYTÖNEN VESA P** (2021). Modular vaccine platform based on the norovirus-like particle. *Journal of Nanobiotechnology*, 15 ; pp. 1-14
- ❖ **LUDWING –BEGALL L, MAUROY A, THIRY E ET al.** Norovirus recombinants : recurrent in the field , recalcitrant in the lab—a scoping review of recombination and recombinant types of noroviruses. *J Gen Virol*. 2018, 99, 970-988
- ❖ **MESQUITA JR, COSTANTINI VP, CANNON JL, LIN SC, NASCIMENTO MS, VINJE J**(2013). Présence d'anticorps contre le norovirus du génogroupe VI chez l'homme. *Virol J* ; 10 :176.

- ❖ **MULLER CECILE** (2015). Connaissances actuelles et place du Norovirus parmi les agents de diarrhées infectieuses virales. Serait-il un agent pathogène émergent parfait?. Docteur en Pharmacie. Université de LORRAINE : Faculté de pharmacie, 190p
- ❖ **ROUGEMONT ALEXIS , AMBERT-BELAY KATIA , BELLIOU GAEL , POTHIER PIERRE, FLORI FRANÇOIS** (2010). Actualités sur les norovirus In : Martine Krief-Fajnzylberg (dir.) Revue internationale de biologie et de médecine. France : Edition EDK , pp. 73-77.
- ❖ **ROUGEMONT ALEXIS**. Norovirus. N° 172. Diarrhées infectieuses de l'adulte et de l'enfant, 10(172) ; pp.1-10
- ❖ **SCIPIONI ALEXANDRA** (2009). Etude génotypique de norovirus humains et bovins contemporains et mise au point de méthodes rapides de détection et de quantification. Docteur en Sciences Vétérinaires. Université de Liège. Faculté de Médecine Vétérinaire, 93p
- ❖ **SCIPIONI, A; MAUROY, A; VINJE, J; THIRY E.** (2008). Animal noroviruses. The Veterinary Journal 178(1) , pp. 32–45
- ❖ **STEELE MOLLY K, WIKSWO MARY E, HALL ARON J, KOELLE KATIA, HANDEL ANDREAS, LEVY KAREN, WALLER LANCE A, LOPMAN BEN A** (2020). Characterizing Norovirus Transmission from Outbreak Data, United States . Emerging Infectious Diseases , 26(8) ; pp. 1818-1823
- ❖ **VILDEVALL MALIN** (2011). The Norovirus Puzzle Characterization of human and bovine norovirus susceptibility patterns , 78, pp. 31-42.
- ❖ **VILLABRUNA NELE, RAY W IZQUIERDO LARA, SZARVAS JUDIT, KOOPMANS MARION P. G, GRAAF MIRANDA** (2020). Phylogenetic Investigation of Norovirus Transmission between Humans and Animals. Viruses, 12(12) ; pp. 2-13
- ❖ **WANG QIUHONG, BACHELOR OF MEDICINE, M.S** (2005). Detection and molecular characterization of porcine noroviruses and sapoviruses.. Doctorat. The Ohio State University : Graduate School of The Ohio State University, 268p
- ❖ **YANG ZHU, B.S.**(2014). Efficient production of human norovirus-specific IgY in egg yolks by vaccination of hens with a recombinant vesicular stomatitis virus expressing VP1 protein. Master of Science. The Ohio State University : Graduate School of The Ohio State University. 123p
- ❖ Sites consultés :
 - **BUCARDO FILEMON** (2008). PEDIATRIC ROTAVIRUS AND NOROVIRUS DIARRHEA IN NICARAGUA [en ligne]. Disponible sur URL : https://www.researchgate.net/figure/Schematic-classification-of-the-Norovirus-based-on-phylogenetic-analysis-of-the-capsid_fig6_266422483 [consulté le 26 juin 2021]
 - **BURKE RACHEL M, SHAH MINESH P, WIKSWO MARY E, BARCLAY LESLIE, KAMBHAMPATI ANITA, MARSH ZACHARY, CANNON JENNIFER**

- L, PARASHAR UMESH D, VINJÉ JAN, HALL ARON J** (2018). Te Norovirus Epidemiologic Triad: Predictors of Severe Outcomes in US Norovirus Outbreaks, 2009–2016. [en ligne], pp. 1364-1372. Disponible sur: <https://www.researchgate.net/publication/329027904> [consulté le 27 mai 2021]
- **CAMPILLAY-VELIZ CLAUDIA P, CARVAJAL JONATAN J, AVELLANEDA ANDREA M, ESCOBAR DARLING, COVIAN CAMILA, KALERGIS ALEXIS M, LAY MARGARITA K** (2020). Human Norovirus Proteins: Implications in the Replicative Cycle, Pathogenesis, and the Host Immune Response [en ligne]. Disponible sur URL : <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.00961/full> [consulté le 29 juin 2021]
 - **CHERKAoui ABDESSALAM , EMONET STEPHANE , RENZI GESUELE , SCHRENZEL JACQUES** . Diagnostic de la gastroentérite bactérienne [en ligne] : URL: <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2015/revue-medicale-suisse-470/diagnostic-de-la-gastroenterite-bacterienne> [consulté le 19 mai 2021]
 - **CHHABRA PREETI, GRAAF MIRANDA, PARRA GABRIEL I, CHI-WAI CHAN MARTIN, GREEN KIM, MARTELLA VITO, WANG QIUHONG, WHITE PETER A, KATAYAMA KAZUHIKO, VENNEMA HARRY, KOOPMANS MARION P.G, VINJE JAN**. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes[en ligne]. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7011714/> [consulté le 25 mai 2021]
 - **ECOLAB** : Norovirus [en ligne]. URL : <https://www.ecolab.com/expertise-and-innovation/resources/microbial-risks/norovirus> [consulté le 24 mai 2021]
 - **EL-HAZMI MALAK M.** (2013). VIRAL GASTROENTERITIS [en ligne] : URL : <https://slidetodoc.com/viral-gastroenteritis-gi-t-block-microbiology-2013-by/> [consulté le 19 mai 2021]
 - **GUADAGNUCCI MORILLO SIMONE, DO CARMO SAMPAIO MARIA, TIMENETSKY TAVARES** (2001). Norovirus: an overview [en ligne] : URL : <https://www.scielo.br/j/ramb/a/cHgR8Gb9W9Rh89kjGJbSnMz/?lang=en> [consulté le 25 mai 2021]
 - **HARDY M E**(2005) .Norovirus protein structure and function [en ligne]. FEMS Microbiology Letters, 253, pp. 1-8. Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16168575/> [consulté le 24 mai 2021]
 - **HSU C C, PIOTROWSKI S L, MEEKER S M, SMITH K D, MAGGIO-PRICE L, TREUTING P M.** Histologic Lesions Induced by Murine Norovirus Infection in Laboratory Mice [en ligne] : URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26792844/> [consulté le 24 mai 2021]
 - <https://en.wikipedia.org/wiki/Lagovirus> [consulté le 21 mai 2021]
 - https://en.wikipedia.org/wiki/Murine_norovirus [consulté le 25 mai 2021]
 - <https://en.wikipedia.org/wiki/Nebovirus> [consulté le 21 mai 2021]
 - <https://en.wikipedia.org/wiki/Sapovirus> [consulté le 21 mai 2021]
 - <https://en.wikipedia.org/wiki/Vesivirus> [consulté le 21 mai 2021]
 - https://fr.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9action_en_cha%C3%A9ne_par_polym%C3%A9rase#RT-PCR [consulté le 29 juin 2021]

- <https://ressourcessante.salutbonjour.ca/condition/getcondition/gastro-enterite> [consulté le 19 mai 2021]
- https://www.bio67.fr/sites/default/files/fiche_9-les_norovirus.pdf [consulté le 17 mai 2021] . Laboratoire BIO67-BIOSPHERE . LES NOROVIRUS .Lettre d'information n°9 Mai 2011 .
- <https://www.cdc.gov/norovirus/lab/diagnosis.html> [consulté le 18 mai 2021]
- <https://www.cdc.gov/norovirus/lab/specimen-collection.html> [consulté le 18 mai 2021]
- <https://www.eurofins.fr/agroalimentaire/solutions-par-analyses/ogm-et-g%C3%A9notypage/ogm/analyses-g%C3%A9n%C3%A9tiques-par-pcr/> [consulté le 29 juin 2021]
- **KUNKEL DENNIS** (2021). MICROSCOPY . SCIENCE PHOTO LIBRARY [en ligne]. Disponible sur URL : <https://www.sciencephoto.com/media/797122/view/norovirus-tem> [consulté le 27 juin 2021]
- **LYOO KWANG-SOO , JUNG MIN CHUL, YOON SUN-WOO, KIM HYE KWON, JEONG DAE GWIN** (2018). Identification of canine norovirus in dogs in South Korea[en ligne] : URL : <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1723-6> [consulté le 25 mai 2021]
- **MANS J, ARMAH GE, STEELE AD, TAYLOR MB** (2016) Norovirus Epidemiology in Africa: A Review. [en ligne] : URL : <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0146280> [consulté le 27 juin 2021]
- **MANS JANET, GEORGE E. ARMAH, A. DUNCAN STEELE, MAUREEN B. TAYLOR** (2016). Norovirus Epidemiology in Africa: A Review [en ligne] : URL : file:///C:/Users/Houda/Desktop/noro/Norovirus%20Epidemiology%20in%20Africa_%200A%20Review.mhtml [consulté le 24 mai 2021]
- **MARSHALL JOHN A, BRUGGINK LEESA D** (2006).Laboratory diagnosis of norovirus. [en ligne], pp. 571-581. Disponible sur : https://www.researchgate.net/profile/LeesaBruggink/publication/6624042_Laboratory_diagnosis_of_norovirus/links/572965bf08ae057b0a0343e8/Laboratory-diagnosis-of-norovirus.pdf [consulté le 17 mai 2021]
- **Meštrović Tomislav**(2021). Diagnostic de Norovirus [en ligne] : URL [https://www.news-medical.net/health/Norovirus-Diagnosis-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Norovirus-Diagnosis-(French).aspx) [consulté le 17 mai 2021]
- **NEWMAN KIRA.L, LEON JUAN. S** (2015). Norovirus immunology :of mice and mechanisms. European journal of immunology, 45: 2742–2757 [en ligne] : URL : <https://onlineibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/eji.201545512> [consulté le 27 mai 2021]
- **OKA TOMOICHIRO, STOLTZFUS GARRETT T, ZHU CHELSEA, JUNG KWONIL, WANG QIUHONG, SAIF LINDA J** (2017). Attempts to grow human noroviruses, a sapovirus, and a bovine norovirus in vitro [en ligne]. Disponible sur URL : <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0178157> [consulté le 24 mai 2021]

- **OKITSU-NEGISHI SHOKO, OKAME MICHIO, SHIMIZU YUKO, PHAN TUNG GIA, TOMARU TAKESHI, KAMIJO SHIGENORI, SATO TAKASHI, YAGYU FUMIHIRO, MÜLLER WERNER E. G, USHIJIMA HIROSHI** (2006). Detection of Norovirus Antigens from Recombinant Virus-Like Particles and Stool Samples by a Commercial Norovirus Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit [en ligne] : URL : <https://jcm.asm.org/content/44/10/3784> [consulté le 19 mai 2021]
- **POTHIER PIERRE, AGNELLO DAVIDE**. Cours de Virologie Grands Syndromes [en ligne] : URL: <http://www.microbes-edu.org/etudiant/gastro-enterites.html> [consulté le 19 mai 2021]
- **VILLABRUNA NELE, KOOPMANS MARION P. G, GRAAF MIRANDA** (2019). Animals as Reservoir for Human Norovirus [en ligne] : URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31130647/#:~:text=The%20increasing%20norovirus%20diversity%20is,e.g.%2C%20marine%20mammals%20and%20bats> [consulté le 25 mai 2021]