



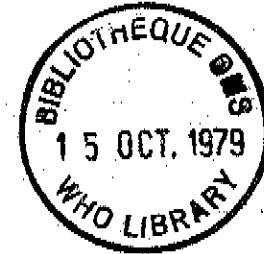
WORLD HEALTH ORGANIZATION
ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

WHO/DDC/EPE/79.2

ORIGINAL : ANGLAIS

PROGRAMME DE LUTTE CONTRE LES MALADIES DIARRHEIQUES

INDEXED



DIARRHEES A ROTAVIRUS ET AUTRES DIARRHEES VIRALES

Rapport d'un sous-groupe du
groupe de travail scientifique sur l'épidémiologie et l'étiologie
(Washington, D.C., 27-28 mars 1979)

Ce rapport exprime les vues collectives d'un groupe international d'experts
et ne représente pas nécessairement les décisions ou la politique
officiellement adoptées par l'Organisation mondiale de la Santé

The issue of this document does not constitute formal publication. It should not be reviewed, abstracted or quoted without the agreement of the World Health Organization. Authors alone are responsible for views expressed in signed articles.

Ce document ne constitue pas une publication. Il ne doit faire l'objet d'aucun compte rendu ou résumé ni d'aucune citation sans l'autorisation de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les opinions exprimées dans les articles signés n'engagent que leurs auteurs.

Tables des matières

	<u>Pages</u>
LISTE DES PARTICIPANTS	3
1. INTRODUCTION	4
2. ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES	4
2.1 Diarrhée à rotavirus	4
2.1.1 Diarrhée à rotavirus chez l'homme	4
2.1.2 Diarrhée à rotavirus chez les animaux	8
2.1.3 Mise au point de vaccins	10
2.1.4 Diagnostic de laboratoire	12
2.2 Diarrhée due aux agents Norwalk et de type Norwalk	14
2.2.1 Description et caractéristiques des agents de type Norwalk	14
2.2.2 Caractéristiques cliniques et épidémiologiques	15
2.2.3 Diagnostic de laboratoire	16
2.3 Diarrhées virales	17
2.3.1 Adénovirus	17
2.3.2 Astrovirus	18
2.3.3 Calicivirus	18
2.3.4 Coronavirus	18
2.3.5 Entérovirus	19
2.3.6 Autres petits objets ronds analogues au virus (SRV)	19
3. RECHERCHES RECOMMANDEES	19
3.1 Diarrhée à rotavirus	19
3.2 Diarrhée due aux agents Norwalk et de type Norwalk	21
3.3 Autres diarrhées virales	21
4. ETUDES COLLECTIVES DE L'OMS VISANT A DETERMINER LE ROLE DES ROTAVIRUS ET AUTRES VIRUS DANS LES MALADIES DIARRHEIQUES SURVENANT EN DIVERS LIEUX GEOGRAPHIQUES	22

LISTE DES PARTICIPANTS

Membres :

- Dr A. Z. Kapikian, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD, Etats-Unis d'Amérique (Président)
- Dr S. K. Lam, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaisie
- Dr C. R. Madeley, Department of Infectious Diseases, University of Glasgow, Glasgow, Ecosse
- Dr Minnie Mathan, Department of Pathology, Christian Medical College and Hospital, Vellore, Inde
- Dr P. K. Middleton, Département de Virologie, Hôpital des Enfants malades, Toronto, Ontario, Canada (Rapporteur)
- Dr G. N. Woode, College of Veterinary Medicine, Iowa State University of Science and Technology, Ames, Iowa, Etats-Unis d'Amérique

Secrétariat :

- Dr J. Bond, Maladies transmissibles, Bureau régional de l'OMS pour les Amériques, Washington, D.C., Etats-Unis d'Amérique
- Dr M. H. Merson, Programme de lutte contre les maladies diarrhéiques, Division des Maladies transmissibles, OMS, Genève, Suisse (Cosecrétaire)
- Dr J. Rust, Maladies transmissibles, Bureau régional de l'OMS pour les Amériques, Washington, D.C., Etats-Unis d'Amérique
- Dr O. Sobeslavsky, Maladies virales, Division des Maladies transmissibles, OMS, Genève, Suisse (Cosecrétaire)
- Dr K. Western, Maladies transmissibles, Bureau régional de l'OMS pour les Amériques, Washington, D.C., Etats-Unis d'Amérique

1. INTRODUCTION

Il y a longtemps que les maladies diarrhéiques aiguës sont considérées comme un problème majeur de santé publique mais ce n'est que récemment que, grâce au progrès technologique, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a pu mettre sur pied un programme de lutte contre les maladies diarrhéiques orienté vers l'action. Dans le cas de la Région des Amériques, les nouvelles approches se sont révélées bien adaptées aux grands programmes de services de santé complets, de lutte contre la maladie, d'hygiène de l'environnement et de développement des personnels de santé de l'Organisation panaméricaine de la Santé (OPS). Des efforts importants sont actuellement déployés pour que ces nouvelles réalisations s'inscrivent dans le concept et l'approche des soins de santé primaires.

Toutefois, la connaissance et la compréhension de nombreux aspects des maladies diarrhéiques comportent encore d'importantes lacunes et il est nécessaire d'entreprendre des recherches plus poussées. Il importe tout particulièrement de concevoir des techniques simples et rentables pouvant être rapidement incorporées dans des programmes de lutte orientés vers l'action, notamment en vue de réduire la morbidité. L'importance accrue de la coopération technique entre pays en développement oblige de plus en plus les Comités consultatifs scientifiques de l'OMS à mettre au point des technologies appropriées qu'il soit possible d'adapter efficacement aux besoins des pays avec les moyens disponibles.

Le problème des diarrhées virales est d'autant plus important que, selon des observations récentes, les virus sont responsables de la majorité des épisodes diarrhéiques du nourrisson et du jeune enfant, tant dans les pays développés que dans les pays en développement, et pourraient être dans une large mesure à l'origine de la malnutrition due à une malabsorption associée. Pour prévenir la transmission de ces maladies et, notamment, mettre au point des vaccins appropriés, il est nécessaire d'identifier et de caractériser ces virus et de bien comprendre leur épidémiologie.

Dès lors, il incombait au sous-groupe de déterminer et recommander les recherches prioritaires concernant les virus ci-après : a) rotavirus de l'homme et de l'animal; b) agent Norwalk et type Norwalk; et c) autres agents viraux, y compris les petites particules récemment identifiées qui pourraient aussi se révéler être d'importantes causes de diarrhée. Le groupe a décidé en outre de faire le point des études collectives de l'OMS sur les diarrhées virales actuellement en cours.

2. ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES

2.1 Diarrhée à rotavirus

2.1.1 Diarrhée à rotavirus chez l'homme

2.1.1.1 Le virus

C'est en Australie en 1973 que l'on a décelé pour la première fois des rotavirus lors de l'examen électronique de biopsies duodénales en coupes minces provenant d'enfants atteints de diarrhée aiguë; peu après, on en observa en Angleterre, en Australie, au Canada et aux États-Unis en examinant des spécimens de selles diarrhéiques au microscope électronique. Ce virus, long de 70 nm, contient du RNA et possède une capside interne et externe. Son nom, dérivé du latin "rota" (roue), lui a été donné en raison de son apparence. Au début, on l'appelait aussi "orbivirus", "duovirus", "agent du type réovirus" et "virus de la gastro-entérite infantile".

Les rotavirus humains sont morphologiquement similaires et ont certains antigènes communs avec les rotavirus animaux. Grâce à la fixation du complément (FC), on a pu montrer que les rotavirus humains sont étroitement apparentés au moins à quatre rotavirus animaux : le virus de la diarrhée du veau du Nebraska (NCDV), le virus de la diarrhée épizootique du souriceau (EDIM), l'agent simien (SA)-11, et l'agent des abats de mouton et de veau (O). Ces quatre antigènes animaux peuvent d'ailleurs servir d'antigènes de fixation du complément pour détecter

les indices sérologiques d'une infection à rotavirus chez l'homme; ce procédé a été utile au cours des études épidémiologiques car les réserves de rotavirus humains sont limitées du fait que l'on n'est pas parvenu à propager efficacement cet organisme en culture cellulaire. (La relation entre les rotavirus animaux et humains est examinée plus avant à la section 2.1.2 ci-après.)

2.1.1.2 Tableau clinique

La période d'incubation de l'entérite à rotavirus qui va de un à sept jours est généralement inférieure à 48 heures. Au cours d'une étude chez des volontaires, la diarrhée est survenue deux à quatre jours après l'administration par voie orale d'un inoculum contenant des rotavirus. Dans les cas habituels d'entérite à rotavirus, le vomissement est l'un des principaux symptômes précoces et précède souvent la diarrhée liquide. Les selles sont glaireuses dans 25 % des cas au plus et rarement sanguinolentes. Une légère élévation de la température se produit dans 30 à 50 % des cas. Des symptômes respiratoires ont été signalés sans que l'on ait pu prouver qu'ils étaient dus au virus. Comme pour les autres infections entériques, le degré de gravité est variable. La durée moyenne de la maladie est de cinq à sept jours et il n'est pas rare que le virus continue d'être excrété pendant un maximum de dix jours. Dans les cas les plus graves qu'il ait été donné d'observer dans les centres de traitement, on constate une forte déshydratation ainsi qu'un déséquilibre électrolytique. S'il a été signalé des décès dus aux diarrhées à rotavirus, l'incidence de ces maladies sur la mortalité infantile dans les pays en développement reste à déterminer.

Les adultes infectés par un rotavirus ne présentent qu'une diarrhée légère ou, plus fréquemment encore, une infection infraclinique sans doute en raison d'une immunité active (voir à la section 2.1.1.3). On ignore cependant pourquoi il en va de même pour les nouveau-nés.

Les maladies à rotavirus commandent généralement le traitement par réhydratation courant. Celui-ci est le plus souvent administré oralement sauf dans les cas de déshydratation très grave où le sujet est incapable de boire et les cas de vomissements persistants. La solution glucosée d'électrolyte pour réhydratation orale initialement destinée au traitement du choléra a été utilisée avec succès dans un certain nombre de pays en développement pour la réhydratation des cas de diarrhée à rotavirus.¹

Une étude portant sur des séries de biopsies provenant de veaux gnotobiotiques privés de colostrum auxquels on avait inoculé le rotavirus humain a permis de comprendre la pathophysiologie des diarrhées à rotavirus. Cette étude a révélé une suite d'événements dans l'intestin grêle : infection des entérocytes de l'épithélium, remplacement des entérocytes prismatiques hauts par des entérocytes cubiques, raccourcissement des microvilosités, infiltration lymphocytaire du tissu conjonctif sous-jacent et restauration. Ces changements qui se sont produits dans le sens céphalocaudal donnent à penser que nombre de diarrhées pourraient être liées à une perte de la capacité d'absorption de l'intestin grêle. Des observations morphologiques similaires ont été faites au cours d'études relatives à des petites biopsies de l'intestin grêle du nourrisson étudiées isolément.

Il serait très intéressant de déterminer si les rotavirus peuvent causer des diarrhées chroniques mais aucune étude n'a été entreprise pour vérifier une telle hypothèse. Les malades souffrant de diarrhées aiguës à rotavirus présentent généralement dans leurs selles des quantités accrues de réducteur, indice d'une absorption et d'une digestion défectueuses des glucides. Il n'y a là rien de surprenant étant donné la pathophysiologie de la maladie mais ces anomalies n'empêchent pas la réhydratation à l'aide de solutions orales glucose-électrolyte.

¹ Rapport du groupe de travail scientifique sur la prise en charge clinique de la diarrhée aiguë (1978) : document non publié OMS/DDC/79.3.

Outre les vcaux, d'autres animaux nouveau-nés privés de colostrum tels que le porcelet gnotobiotique ou ordinaire, le singe rhésus et l'agneau gnotobiotique peuvent présenter des maladies diarrhéiques induites par le rotavirus humain, lequel infecte aussi le chiot nouveau-né sans toutefois provoquer de maladie. Cette sensibilité au rotavirus humain des seuls animaux nouveau-nés demeure encore inexplicée. On a émis l'hypothèse qu'elle pouvait résulter des fortes concentrations de la lactase chez le très jeune animal, cette enzyme jouant le rôle de réceptrice et de déshabilleuse à l'égard du rotavirus.

2.1.1.3 Incidence

L'entérite à rotavirus, qui atteint généralement les nourrissons et les jeunes enfants, sévit dans le monde entier. Le virus en question est celui que l'on a trouvé le plus fréquemment dans les selles des nourrissons et des jeunes enfants atteints de diarrhée dans presque toutes les régions où l'on a cherché à le mettre en évidence. Les malades sont dans la plupart des cas des enfants de six à 24 mois et l'incidence maximale se situe entre neuf et douze mois. Des études hospitalières portant sur des nourrissons et jeunes enfants des pays développés et en développement ont permis de déceler des rotavirus chez environ 50 % des cas de diarrhées, parfois avec des variations saisonnières (voir à la section 2.1.1.4). Certaines font apparaître un nombre de sujets masculins supérieur de 20 % à celui des sujets féminins mais on ne sait pas si cela est dû à une sensibilité ou à une exposition supérieures des enfants de sexe masculin ou bien simplement au fait que ce sont les garçons que l'on présente le plus souvent aux consultations. Les données fournies par des études communautaires sont beaucoup plus restreintes mais deux études de ce type entreprises respectivement au Guatemala et au Bangladesh donnent à penser que les rotavirus sont responsables d'environ 10 à 20 % de tous les cas de diarrhées des communautés.

Des enquêtes sérologiques ont été faites pour déterminer la fréquence des infections à rotavirus au premier stade de l'existence. En étudiant des personnes habitant dans la zone de Washington D.C., on a décelé des anticorps antirotavirus au moyen de la réaction de fixation du complément ainsi que de l'immunofluorescence chez plus de 90 % des enfants âgés de moins de trois ans; à Melbourne (Australie), 40 % des nourrissons âgés de deux mois ou moins présentaient des anticorps FC antirotavirus; vers l'âge de trois à cinq mois, ce pourcentage augmentait pour atteindre près de 70 % à trois ans. Soixante-dix pour cent environ des adultes étaient également porteurs de l'anticorps. A Toronto, des chercheurs ont communiqué des résultats similaires. Lors d'une enquête sérologique à Vellore (Inde) où l'on a cherché à mettre en évidence des anticorps antirotavirus par la technique de l'électrosynérèse, il a été constaté que ces anticorps étaient présents chez 85 % des nouveau-nés; à cinq mois la proportion était de 30 % et lorsqu'ils atteignaient leur troisième année, près de 90 % des enfants présentaient les signes d'une infection antérieure. Avec l'épreuve plus sensible du titrage avec immuno-absorbant lié à une enzyme (ELISA), on a trouvé des anticorps antirotavirus chez 100 % des sujets européens et aborigènes de deux à 60 ans résidant dans la même région d'Australie ainsi que chez les adultes et les enfants d'une zone de l'Inde méridionale. D'autres enquêtes utilisant diverses techniques sérologiques ont été entreprises dans d'autres zones géographiques; elles ont donné des résultats semblables en faisant apparaître que la prévalence des anticorps antirotavirus est élevée chez les nouveau-nés du fait du transfert d'anticorps passifs de la mère et diminue au cours des premiers mois de l'existence puis, de nouveau, est très élevée vers l'âge de deux à trois ans pour se maintenir ensuite pendant toute la vie. Ce schéma d'acquisition rapide des anticorps est comparable à celui que l'on observe avec les virus syncytial et para-influenza 3.

La forte prévalence des anticorps vers la fin de l'enfance et à l'âge adulte s'explique si l'on considère les résultats d'études familiales entreprises aux Etats-Unis, au Canada et en Norvège au cours desquelles on a constaté que jusqu'à 55 % des aînés des fratries et des contacts domestiques des enfants atteints de gastro-entérite à rotavirus présentaient des signes sérologiques d'infection. La plupart des cas sont asymptomatiques et il s'agit probablement de réinfections. On ne sait pas qui, du jeune enfant infecté ou de l'adulte généralement asymptomatique, est le plus susceptible d'introduire le rotavirus dans le milieu familial.

Des observations récentes ont révélé l'existence de plusieurs sérotypes du rotavirus humain. Des recherches basées sur la fixation du complément et l'immunofluorescence électronique (Belgique), la neutralisation des foyers immunofluorescents (Angleterre) et le titrage ELISA (Etats-Unis d'Amérique) ont mis en évidence deux types distincts de sérotypes apparemment très dispersés. Si, dans l'agglomération de Washington D.C., le sérum de la plupart des enfants de deux ans contenait des anticorps correspondant aux deux sérotypes, chez les malades hospitalisés, le rotavirus type 2 était le plus fréquent. En outre, des études concernant des malades ayant subi des infections successives ont révélé que la maladie causée par l'un des sérotypes ne confère aucune protection contre l'autre. En Angleterre, des chercheurs utilisant une épreuve de neutralisation des foyers fluorescents prétendent avoir découvert deux autres sérotypes mais leur existence reste à démontrer.

2.1.1.4 Caractère saisonnier de la maladie

Des études réalisées en Amérique du Nord, en Angleterre et en Australie ont clairement établi que dans les pays à climat tempéré, les maladies à rotavirus sont beaucoup plus fréquentes en hiver. L'affection des nouveau-nés pourrait constituer une exception; à Sydney (Australie), aucune variation saisonnière n'a été observée lors d'une étude de l'infection à rotavirus dans les maternités. On n'est pas encore parvenu à déterminer si ces variations saisonnières se produisent dans les pays en développement à climat tropical. La variation saisonnière constatée lors d'études faites au Venezuela et au Costa Rica était faible, voire nulle; toutefois, à Vellore et Calicut (Inde) ainsi qu'au Bangladesh, les rotavirus ont été le plus souvent mis en évidence dans des échantillons de selles diarrhéiques recueillies entre novembre et mars, c'est-à-dire pendant les mois les plus frais de l'année. En ce qui concerne l'étude de Vellore, les rotavirus étaient présents dans la maternité pendant toute l'année conformément aux observations de l'étude australienne susmentionnée. Une petite étude organisée à Mexico, où il n'existe pratiquement pas de différence saisonnière de température, a montré que l'incidence marquait un pic en automne.

2.1.1.5 Transmission

Les observations recueillies jusqu'ici portent à croire que l'infection à rotavirus se transmet par l'ingestion de matières fécales, ce qui a été confirmé par des expériences sur des volontaires et sur des animaux. Rien ne permet encore de penser que le rotavirus se multiplie avec production de particules infectieuses ailleurs que dans les entérocytes de l'intestin grêle.

Si, dans un certain nombre de pays, des anticorps IgA spécifiques ont été décelés dans le colostrum et le lait de femmes allaitantes, on ne sait pas très bien quel est le rôle du lait maternel dans la protection contre les maladies à rotavirus, notamment dans les pays en développement où l'allaitement au sein se poursuit fréquemment au-delà du sixième mois, âge auquel la maladie à rotavirus est fréquente.

Des poussées de diarrhées à rotavirus ont été observées dans des crèches, notamment celles qui dispensent des soins spéciaux, et dans un certain nombre de services de pédiatrie des hôpitaux. Cette transmission nosocomiale de la maladie pose un problème difficile à maîtriser.

2.1.1.6 Rôle des rotavirus dans des maladies autres que l'entérite aiguë

L'infection à rotavirus a été décrite chez des enfants souffrant d'invagination et chez d'autres atteints de gastro-entérite et d'hémorragie gastro-intestinale évoluant vers la guérison spontanée. Un de ces derniers présentait des signes cliniques compatibles avec le syndrome de Schönlein-Henoch. Dans un autre rapport, on lit qu'un enfant ayant une gastro-entérite associée aux rotavirus a été atteint de troubles graves du système nerveux central et a succombé au syndrome de Reye. Chez un autre enfant, on a signalé une encéphalite. Plusieurs enfants souffrant d'une infection à rotavirus ont présenté de syndrome hémolytique et urémique ou une coagulation intravasculaire disséminée. Dans certains cas, on a aussi rapporté des taux élevés de SGPT et de SGOT. En outre, certains rapports ont signalé l'isolement du rotavirus sur des tissus intestinaux de sujets atteints de la maladie de Crohn. Un de ces rapports n'a pas pu être confirmé dans un autre laboratoire où l'on a détecté, chez un tel malade, un

mycoplasme infectieux et de culture difficile. On a décrit récemment l'isolement en culture cellulaire d'un rotavirus provenant d'extraits de ganglions lymphatiques mésentériques prélevés sur une personne ayant la maladie de Crohn. Le rôle du rotavirus dans ces maladies n'est pas très clair et doit faire l'objet d'études plus poussées.

2.1.2 Diarrhée à rotavirus chez les animaux

2.1.2.1 Tableau épidémiologique

Il a été montré que l'infection intestinale à rotavirus est une maladie animale courante qui provoque la diarrhée chez la souris, le veau, le porcelet, le poulain, le jeune lapin, le cerf, l'antilopre, le poulet, le dindon, la chèvre, le chaton, le chimpanzé et le gorille. Il semble également qu'elle puisse atteindre d'autres animaux ainsi qu'en témoignent des études d'isolement du virus chez le singe et le chien ainsi que des études sérologiques concernant la chèvre, le chien et le cobaye. Il ressort d'études virologiques et sérologiques que l'infection se produit au début de l'existence chez 90 à 100 % des porcelets et des veaux, comme dans le cas de l'homme, mais dans une moindre mesure (38 % des cas selon une étude) chez le mouton. Ce taux d'atteinte inférieur pour le mouton est peut-être dû à des méthodes d'élevage différentes; les moutons étudiés disposaient en effet de plus d'espace que les autres animaux, ce qui a pu réduire la probabilité de transmission. Parmi les colonies de lapins et de cobayes élevés en laboratoire la proportion d'animaux présentant des anticorps antirotavirus varie largement (de 0 à 100 %). Toutefois, dans les conditions normales d'élevage, en cas de population urbaine ou lorsque de nombreux jeunes sont ensemble, l'incidence chez ces espèces de l'infection à rotavirus atteint fréquemment 100 %.

Chez le porc et le veau, la gravité de l'infection à rotavirus, basée sur la mortalité, est généralement inférieure à celle des infections à Escherichia coli ou à coronavirus, encore que l'on ait mentionné, pour la maladie épizootique, des taux de létalité atteignant 90 %. Toutefois, il faut bien considérer que si l'on peut diagnostiquer efficacement les infections à E. coli et à coronavirus en colorant le tissu intestinal prélevé à l'autopsie, cela n'est pas possible dans le cas des infections rotavirus qui ne peuvent souvent être décelées que par la microscopie électronique. Certains vétérinaires ont observé une association apparente entre la gravité croissante de la maladie au cours des épizooties naturelles et d'autres agents, dont des bactéries et des virus, ainsi que des stress dus à l'environnement.

L'épidémiologie de l'affection à rotavirus chez l'animal n'est pas bien élucidée. La maladie frappe généralement l'animal à la mamelle ou nouveau-né, mais des diarrhées ont été notées chez des animaux adultes dont les taux sériques d'anticorps antirotavirus étaient faibles ou nuls; il arrive souvent que la mère et son petit soient atteints simultanément. On peut considérer qu'une immunité intestinale suffisante pour prévenir la réinfection des intestins ne dure pas plus de six mois après l'infection et que le virus peut donc circuler constamment parmi les jeunes et les adultes. En outre, la grande stabilité du rotavirus dans les selles et sa résistance aux changements de pH (de pH₂ à pH_{9,5}), à la température (60°C) et à un certain nombre de désinfectants communément utilisés lui permettent de survivre longtemps dans les immeubles et distributions d'eau contaminés.

On a avancé que le rotavirus pouvait traverser le placenta et infecter le fœtus de sorte que le nouveau-né viendrait alors au monde soit avec l'infection, soit avec une immunité active. Cette hypothèse se fonde sur des rapports, généralement non publiés, faisant état de la découverte de l'anticorps antirotavirus sur des fœtus et de maladies survenant fréquemment chez le veau 48 heures après la naissance. Toutefois, parmi les nombreuses centaines de fœtus de veau et de porcelet obtenus par césarienne pour rechercher le rotavirus dans les troupeaux où l'infection était répandue, il n'y en a eu aucun qui possédât l'anticorps sérique qui fût immunisé contre l'infection expérimentale ou qui excrétât activement le virus. Etant donné la brève période d'incubation de l'infection à rotavirus (un à deux jours), il est plus probable que la plupart des infections se produisant au début de l'existence soient dues à un contact post-partum avec une personne contagieuse ou un environnement contaminé.

2.1.2.2 Considérations immunologiques

Les données préliminaires dont on dispose donnent à penser que si tous les rotavirus ont un antigène commun, il existe une gamme étendue de sous-types antigéniques qui peuvent être différenciés par des épreuves de laboratoire (voir la section 2.1.4.3). Actuellement, ces sous-types ont été principalement déterminés parmi des isolats provenant de diverses espèces de mammifères mais deux au moins ont été signalés chez le rotavirus humain (voir section 2.1.1.3). La plupart des souches de rotavirus éprouvées expérimentalement montrent qu'il peut y avoir une infection croisée entre des espèces animales différentes (par exemple les rotavirus humain, bovin, équin, porc et ovin peuvent infecter le porcelet, le rotavirus humain, le singe et le rotavirus humain et équin, le veau). Certaines de ces infections croisées (mais pas toutes) peuvent provoquer une diarrhée (voir à la section 2.1.1.2). Rien ne permet cependant d'affirmer que, dans les conditions naturelles, les rotavirus passent d'une espèce à l'autre encore qu'en Angleterre, on ait isolé chez un enfant un rotavirus humain qui s'est révélé être sérologiquement proche d'une espèce bovine et qu'un rotavirus isolé chez le porc se soit davantage apparenté sérologiquement à une souche bovine qu'à une souche porcine. Il existe donc plusieurs souches de rotavirus ayant des spécificités antigéniques différentes. On ignore si ces différences entre les spécifications antigéniques risquent de créer des difficultés lors de l'exécution d'un programme de vaccination mais dans le cas d'un virus étroitement apparenté, celui de la fièvre catarrhale maligne du mouton, il y a au moins 22 souches qui, si elles ont un antigène commun, ne confèrent néanmoins qu'un assez faible degré de protection croisée. Cette infection virale est limitée au mouton (infection virulente), aux bovins (essentiellement infraclinique) et peut-être aussi aux ongulés sauvages. Or les rotavirus sont relativement plus répandus dans le monde animal et l'on peut donc s'attendre à ce qu'ils présentent des variations antigéniques du même ordre, voire supérieures.

Les études sur la protection croisée entre espèces animales qui ont été menées dans différents laboratoires ont donné des résultats contradictoires. Dans l'une d'elles, on a inoculé du rotavirus de poulain à trois veaux gnotobiotiques et du rotavirus humain à trois autres dans les trois jours qui ont suivi leur naissance sans qu'aucun de ces animaux ne présente une maladie diarrhéique. Toutefois, après administration d'une dose d'épreuve de rotavirus bovin 21 jours après l'inoculation initiale, deux des trois animaux de chaque groupe ont eu une maladie diarrhéique ce qui donne à penser que si l'inoculum initial a conféré une quelconque protection, celle-ci fut limitée. Au cours de deux études plus récentes sur le porc, des doses de rotavirus bovin et humain n'ont pas permis de protéger efficacement des porcelets contre une dose d'épreuve de rotavirus porcine virulent administrée ultérieurement. Dans une autre étude sur la relation, chez le porc, entre les rotavirus humain, ovin, équin et porcine qui peuvent tous être différenciés par l'épreuve de neutralisation, on n'a guère observé d'indice d'une protection croisée. En revanche, d'autres chercheurs ont apporté des preuves convaincantes d'une protection croisée, y compris la mise en évidence des phénomènes suivants : a) le colostrum bovin peut protéger les porcs contre une dose d'épreuve d'isolat de rotavirus porcine; b) le vaccin antirotavirus bovin peut induire chez le veau une protection contre le rotavirus humain type 2; c) des porcs infectés par le rotavirus humain type 2 sont protégés lors de l'administration ultérieure d'une dose d'épreuve de rotavirus porcine. Dans toutes ces études, les isolats utilisés étaient d'origines différentes et l'on n'a pas déterminé la DI_{50} du virus d'épreuve.

Il est donc évident que des études plus poussées sont nécessaires pour déterminer le degré de protection croisée que confèrent les souches de rotavirus de différentes espèces. Même si une telle protection est établie expérimentalement, son efficacité risque d'être moindre en situation réelle étant donné que la plupart des rapports relatifs à des expériences font état, pour les infections à rotavirus, d'une mortalité inférieure à celle des poussées épidémiques naturelles, sauf chez le porcelet nouveau-né.

Par contraste avec les résultats contradictoires des épreuves de protection croisée, il est bien établi expérimentalement que des animaux peuvent être efficacement immunisés contre la maladie induite par le rotavirus de leur propre espèce. Tous les travaux, certes limités, qui ont été publiés à ce jour, montrent que des animaux auxquels on a inoculé le rotavirus sont, une fois guéris, protégés contre le risque de maladie et d'excrétion si on leur inocule

une dose d'épreuve trois semaines plus tard. De même, des veaux vaccinés au moyen d'un rotavirus vivant atténué sont immunisés contre une dose d'épreuve d'une souche parentale virulente ou d'un autre rotavirus bovin virulent étroitement apparenté du point de vue antigénique. Enfin, en présence d'un anticorps colostral de l'intestin, le virus virulent induit une infection infraclinique qui immunise les animaux contre la maladie et l'excrétion du rotavirus, du moins pendant une période limitée. On peut donc conclure, sur la base de ces observations, que l'infection à rotavirus développe chez les mammifères l'immunité à la maladie et à l'excrétion du rotavirus et que, pour être efficaces, les vaccins devront très probablement conférer une protection contre chacun des sérotypes pouvant infecter l'espèce de mammifère considérée.

2.1.3 Mise au point de vaccins

2.1.3.1 Mise au point d'un vaccin antirotavirus bovin

Un travail considérable a été fait pour mettre au point un vaccin antirotavirus utilisable chez le veau. Pour atténuer le virus, on l'a soumis à environ 200 passages dans des cellules fœtales de rein de bovidé en le faisant incuber pendant les 60 derniers passages à 29-30°C. Pour la production du vaccin, on a alors propagé le virus dans des cellules diploïdes de rein de bovidé. Une fois lyophilisé, le virus a été reconstitué à 4 ml, immédiatement avant l'inoculation. On a alors testé le vaccin sur des veaux gnotobiotiques pour déterminer son innocuité et son activité ainsi que la réponse sérologique et l'immunité au virus d'épreuve résultant de son administration; 24 veaux âgés de 6 à 7 heures ont été inoculés par voie orale; 20 d'entre eux ont été observés pendant 48 à 72 heures puis soumis à une dose d'épreuve de virus virulent. On avait recueilli des échantillons de sang, par le cordon ombilical lors de la mise bas, et l'on a recommencé l'opération à 30 jours. Du virus virulent a été inoculé à cinq veaux non vaccinés âgés de 4 à 8 heures. Les veaux vaccinés non soumis au virus d'épreuve et 19 des 20 veaux vaccinés soumis à ce virus sont demeurés cliniquement normaux et ont présenté une séroconversion vis-à-vis du rotavirus. L'un des veaux vaccinés a eu une légère diarrhée. Il n'a pas été indiqué si l'on avait testé le virus vaccinal pour déterminer la stabilité du produit atténué par une série de passages chez des veaux.

Il y a eu deux études sur l'efficacité du vaccin administré dans les conditions en vigueur à la ferme et selon un schéma similaire. Dans la première, on a enregistré l'incidence de toutes les diarrhées enregistrées dans 14 troupeaux au cours des deux années qui ont précédé la vaccination, et pendant l'année qui l'a suivie. Les chercheurs ont rapporté que la vaccination avait réduit de façon significative l'incidence de la diarrhée et la mortalité qu'elle entraîne dans tous les troupeaux sauf deux ou peut-être trois. Dans la deuxième étude, on a établi des comparaisons entre a) un groupe de veaux vaccinés dont on a étudié les manifestations diarrhéiques pendant une période déterminée et un groupe différent de veaux non vaccinés observés au cours d'une période ultérieure (épreuve séquentielle); b) des groupes de veaux vaccinés et non vaccinés observés au cours de la même période (c'est-à-dire selon l'approche classique de l'épreuve en double aveugle). Une baisse significative de la morbidité et de la mortalité diarrhéiques ($p = <0,01$) a été notée dans le groupe vacciné lors de l'épreuve séquentielle mais pas au cours de l'épreuve en double aveugle. L'une des causes de cette absence de protection dans l'épreuve en double aveugle pourrait être le fait que les animaux non vaccinés ont, en excrétaut de grandes quantités de virus, soumis les animaux vaccinés à des doses d'épreuve excessives, ce qui a été évité dans l'épreuve séquentielle. En analysant toutefois les résultats de ces deux études, il ne faut pas oublier que l'incidence de la diarrhée chez le veau n'est pas prévisible d'un mois ou d'une année à l'autre. Une troisième épreuve, réalisée par un autre laboratoire, n'a pas non plus permis de mettre en évidence une réduction significative de la diarrhée chez les veaux vaccinés contre le rotavirus. Malheureusement, aucune de ces études n'indique s'il y a eu ou non réduction des infections à rotavirus proprement dites.

Il est donc difficile de déterminer si les vaccins contre le rotavirus bovin peuvent, en situation réelle, influencer sur la maladie de façon significative. D'ailleurs, certains éleveurs ont cessé d'utiliser ce vaccin alors que d'autres le prétendent efficace. En outre, il est possible d'apporter trois explications théoriques au défaut de protection observé dans les études susmentionnées : a) les autres causes de diarrhées sont suffisamment fréquentes pour qu'il soit difficile de démontrer une baisse d'incidence des diarrhées à rotavirus, b) il circule d'autres souches de rotavirus qui sont antigéniquement différentes de celles du vaccin

et c) l'anticorps colostral antirotavirus neutralise le virus vaccinal. Cette dernière possibilité est considérée comme l'explication la plus probable étant donné que le vaccin est administré oralement au veau pendant les premières heures de son existence, c'est-à-dire à un moment où il reçoit également du colostrum. Cette observation pourrait devoir être prise en compte si l'on songe à administrer du vaccin antirotavirus à des enfants allaités au sein.

Dès lors, les connaissances acquises au cours de ces importantes études sur le vaccin contre le rotavirus bovin ne se sont guère révélées très utiles pour orienter les recherches concernant un vaccin utilisable chez l'homme.

2.1.3.2 Mise au point d'un vaccin pour l'homme

Le développement d'un vaccin antirotavirus utilisable chez l'homme devrait occuper un rang de priorité élevé dans toute stratégie de l'immunoprophylaxie des maladies diarrhéiques chez le nouveau-né et le jeune enfant. Toutefois, il faut d'abord comprendre les mécanismes de l'immunité contre l'infection à rotavirus. Des études faites sur des veaux, des porcelets et des agneaux ont montré l'importance des anticorps intestinaux dans la prévention ou l'amélioration des maladies dues au rotavirus. Lors d'études particulièrement pertinentes sur l'agneau, des anticorps antirotavirus administrés avec les aliments ont induit une résistance efficace au rotavirus d'épreuve administré par voie orale alors que les anticorps circulants ne conféraient seuls aucune protection. En outre, des études sur volontaires ont montré qu'il existe une meilleure corrélation entre les anticorps antirotavirus intestinaux IgA spécifiques du type et la résistance au rotavirus d'épreuve qu'entre celle-ci et les taux d'anticorps sériques IgG spécifiques du type mesurés à l'aide de l'épreuve ELISA. Il semble donc que les anticorps présents à la surface de l'épithélium de l'intestin grêle jouent un rôle majeur dans la résistance aux maladies à rotavirus. Dès lors, l'immunoprophylaxie de l'infection à rotavirus pourrait passer par la mise au point d'un vaccin oral antirotavirus capable de stimuler une quantité suffisante d'anticorps IgA antirotavirus intestinaux locaux comme on a tenté de le faire pour le veau (voir à la section 2.1.3.1).

La poursuite de cet objectif s'est cependant heurtée à plusieurs difficultés. L'impossibilité de propager efficacement le rotavirus humain en culture cellulaire est un problème majeur qui n'a pas permis jusqu'ici de produire suffisamment d'antigène humain pour les études sur les vaccins. La durée de l'immunité intestinale est un autre problème qui s'est posé lors d'une étude sur l'agent Norwalk au cours de laquelle un groupe de volontaires adultes ayant contracté la maladie après une inoculation initiale de virus d'épreuve est de nouveau tombé malade sous l'effet d'une nouvelle dose de la même souche Norwalk administrée 27 à 42 mois plus tard tandis qu'un autre groupe de volontaires résistait en ces deux occasions à l'infection et à la maladie. L'existence de deux sérotypes de rotavirus humains rend le problème de l'immunoprophylaxie encore plus complexe car à en juger du moins par les données préliminaires, il ne semble y avoir entre eux aucune protection croisée. Ainsi, un vaccin antirotavirus devra contenir au moins ces deux antigènes et l'on ne peut pas exclure l'éventualité d'autres sérotypes (voir à la section 2.1.3.3).

Il est jugé que plusieurs approches sont possibles pour la mise au point d'un vaccin antirotavirus. L'une, activement explorée, consiste à utiliser un rotavirus du veau pour tenter d'immuniser l'homme et de provoquer l'apparition d'anticorps protecteurs sans déclencher la maladie. Le caractère prometteur de cette approche a été mis en évidence chez un veau auquel l'inoculation in utero d'un rotavirus de veau a conféré une protection contre le rotavirus humain administré le jour de la naissance ou le jour suivant. Il faudrait tester soigneusement ce vaccin sur divers modèles animaux pour en déterminer la sécurité et l'efficacité et, une fois celles-ci établies, on pourrait entreprendre une expérimentation initiale sur des volontaires possédant au départ des taux élevés d'anticorps antirotavirus (de préférence IgA, dans le liquide intestinal).

Etant donné que le virus humain ne se propage pas assez efficacement en culture cellulaire pour que l'on puisse ne serait-ce que tenter la mise au point d'un vaccin à partir d'une souche humaine, on explore activement une autre approche consistant à produire un hybride par recombinaison génétique avec un rotavirus de veau qui se développe efficacement en culture cellulaire. Dans l'idéal, cet hybride devrait se multiplier aisément en culture cellulaire tout en ayant les antigènes de la capsid externe du rotavirus humain.

Dans chacune de ces approches, il faut tenir compte du fait que des souches de virus légèrement ou non virulentes pour le porc et le veau sont par contre virulentes pour d'autres espèces de mammifères. On a signalé en outre qu'un rotavirus humain n'ayant produit aucun effet pathologique au cours d'un premier passage expérimental chez le veau avait entraîné la maladie au cours d'un second passage. Ainsi, des études détaillées seront nécessaires pour s'assurer de l'avirulence d'une souche vaccinale de rotavirus et l'on devra notamment établir, par des séries de transmission du virus vaccinal à l'homme, qu'il n'y a aucune tendance au retour de la virulence.

Une autre approche, qui a fait l'objet d'une étude initiale, consiste à utiliser du lait maternel contenant des anticorps IgA antirotavirus spécifiques pour prévenir ou modifier l'infection à rotavirus. Dans une petite étude clinique, effectuée aux Etats-Unis d'Amérique, des enfants présentant une carence d'immunoglobuline et une infection chronique à rotavirus ont été guéris de cette infection peu après avoir été traités au lait maternel "hyperimmun".

2.1.4 Diagnostic de laboratoire

2.1.4.1 Méthodes de détection des rotavirus dans les selles

Au cours des infections humaines, de grandes quantités de particules de rotavirus sont excrétées dans les selles. La période optimale pour la détection du virus se situe dans les trois à cinq jours qui suivent l'apparition des symptômes. Les particules virales peuvent généralement être décelées par la microscopie électronique (ME) en coloration négative après une centrifugation différentielle; dans de nombreux cas, on peut d'ailleurs les observer sans centrifugation. On reconnaît aisément les particules d'après leurs dimensions et leur structure caractéristique à double capsid. Dans des selles contenant peu de particules virales, le recours à l'immunomicroscopie électronique (IME), c'est-à-dire l'adjonction d'antisérum spécifique à l'extrait de selles pour obtenir une agrégation des particules, peut parfois faciliter l'identification.

Le microscope électronique est un détecteur assez efficace de l'infection à rotavirus. Toutefois, la détection par microscopie électronique ou immunomicroscopie électronique prend du temps et nécessite un matériel coûteux dont la plupart des pays en développement sont démunis. On a donc étudié les possibilités offertes par d'autres méthodes de détection des particules virales.

L'une de ces méthodes est l'immunoélectroosmophorèse; rapide et économique, elle n'est toutefois sensible que si l'on utilise un sérum antiviral de qualité. Si certains chercheurs la considèrent plus sensible que la microscopie électronique, la plupart la jugent soit aussi sensible, soit un peu moins.

On a également signalé l'utilisation d'une version modifiée de la réaction de fixation de complément (FC) qui s'est révélée presque aussi sensible que la microscopie électronique pour la détection des rotavirus dans les suspensions de selles. Le fait que de nombreux extraits de selles sont anticomplémentaires pose un problème majeur que l'adjonction de sérum foetal de veau permet parfois de surmonter. Avec cette méthode, on a constaté que des sérums humains à titre élevé étaient préférables aux sérums de lapin pour la détection du rotavirus humain.

Le radioimmunosorpage (RIA) et le titrage avec immunoabsorbant lié à une enzyme (ELISA) ont été appliqués avec succès à la détection des rotavirus humain et de veau. On assure que ces méthodes sont aussi sensibles que la microscopie électronique et probablement plus sensibles encore. Avec l'épreuve ELISA, il faut déterminer la spécificité de spécimens positifs avec des réactifs "bloquants" appropriés. L'inconvénient du RIA est qu'il nécessite un matériel très perfectionné et que les matières radioactives risquent d'être dangereuses. A cet égard l'épreuve ELISA est plus prometteuse, notamment parce qu'elle peut être utilisée sur le terrain pour examiner un grand nombre de spécimens de selles.

L'immunofluorescence (IF) sert à colorer des cellules ou débris de cellules excrétés dans les déjections de veaux infectés. Le problème de la fluorescence non spécifique a empêché d'appliquer cette technique sur une grande échelle à l'analyse des selles humaines. On peut remédier à cet inconvénient en séparant au préalable l'antigène viral par immunoprécipitation,

avant la coloration. Toutefois, c'est là un procédé long et laborieux lorsqu'on l'utilise à grande échelle. Pour que l'immunofluorescence soit plus acceptable, il faudrait mettre au point une méthode moins complexe.

Une nouvelle épreuve appelée agrégation en phase solide d'érythrocytes enrobés (SPACE) associe certaines des caractéristiques d'ELISA et du titrage radioimmunologique en phase solide. Cette méthode consiste à enrober des plaques de microtitrage en U d'anticorps viraux spécifiques additionnés de 10 % de suspensions fécales. Les antigènes viraux absorbés sont alors décelés en ajoutant des érythrocytes enrobés d'IgG antivirale spécifique. Les résultats sont lus de la même manière que pour la réaction classique d'hémagglutination. Il est apparu que ces résultats coïncident parfaitement avec ceux de la microscopie électronique et de l'immunofluorescence mais son application est limitée car il faut fréquemment préparer des érythrocytes enrobés.

Ainsi qu'on l'a mentionné plus haut, il est particulièrement urgent de mettre au point une méthode simple pour obtenir une propagation efficace du rotavirus humain en culture cellulaire, ce qui aurait aussi incontestablement pour effet d'améliorer les épreuves diagnostiques. On a signalé que l'introduction d'enzymes protéolytiques dans le milieu de culture accélérerait la croissance des virus dans les cultures cellulaires. Une méthode de culture cellulaire permettant de mettre en évidence l'antigène antirotavirus humain, généralement après un passage unique, a été employée avec succès; elle consiste à centrifuger des spécimens de selles sur une lignée de cellules de rein de cobaye, puis à faire une coloration par immunofluorescence. C'est là un moyen relativement simple de diagnostiquer l'infection à rotavirus, de mesurer l'infectivité du virus et d'évaluer les anticorps neutralisants présents dans le sérum. On n'a cependant pas rapporté de propagation en série du rotavirus humain obtenue par cette seule technique.

2.1.4.2 Méthodes de mesure du titre d'anticorps antirotavirus

Pour mesurer les anticorps antirotavirus, on a eu recours à des épreuves très diverses. Si l'immunomicroscopie électronique (IEM) a parfois été utilisée, dans le passé, pour l'étude des sérums humains, il a fallu trouver une méthode plus simple et plus rapide pour les enquêtes sérologiques générales et pour le sérodiagnostic; la réaction de fixation du complément (FC) s'est révélée conforme à ces deux conditions. Au début, l'antigène utilisé pour la fixation du complément était le rotavirus humain tiré d'extraits de selles mais on s'est aperçu qu'il pouvait être remplacé par le rotavirus bovin poussé en culture cellulaire, plus facile à obtenir, ou, avec des résultats encore supérieurs, par l'agent "O" (voir à la section 2.1.1.1). L'un des inconvénients de la réaction FC est qu'elle ne permet pas de distinguer entre eux des anticorps provenant d'espèces différentes. Une autre méthode simple et bon marché pour la détection des anticorps antirotavirus spécifiques du groupe est l'immunodiffusion radiale (ID). En prenant comme antigène des concentrés ultracentrifugés de selles, on peut observer, en présence d'immunsérums prélevés chez des enfants et animaux convalescents, une forte lignée unique commune à tous les rotavirus. L'épreuve d'immunofluorescence a servi à mesurer les titres d'anticorps sériques en présence de rotavirus humains. Les anticorps ont aussi été décelés quantitativement au moyen des réactions RIA et ELISA basées sur la technique du sandwich. Ces épreuves sont extrêmement sensibles et ont de surcroît l'avantage de pouvoir être adaptées pour mesurer des classes particulières d'immunoglobulines. Les titres d'IgA antirotavirus ont également été déterminés par l'immunofluorescence.

2.1.4.3 Méthodes pour l'identification des souches et sérotypes de rotavirus

Par la fixation du complément, l'immunofluorescence, l'immunodiffusion radiale et l'immunomicroscopie électronique, on a montré que les rotavirus possédaient en commun un antigène de groupe associé à la capsidie intérieure de la particule virale. Toutefois, on peut distinguer les rotavirus humains des rotavirus animaux par la neutralisation des foyers immunofluorescents et par les techniques de blocage ELISA. Une relation sérologique à sens unique entre les rotavirus humains et simiens a été observée au moyen de l'immunomicroscopie électronique et une épreuve de blocage ELISA à sens unique a permis de constater que ces virus étaient distincts.

L'existence chez l'homme de deux sérotypes de rotavirus a été démontrée par des épreuves de neutralisation, par la fixation du complément et par la méthode ELISA. En outre, des chercheurs utilisant la technique de neutralisation ont décrit deux autres sérotypes (voir à la section 2.1.1.3).

La migration électrophorétique de l'acide nucléique viral qui a été utile pour établir une distinction entre les virus se fonde sur des différences dans la migration de fragments d'ARN en gel de polyacrylamide. L'analyse de l'ARN peut s'effectuer directement sur la plupart des échantillons de selles dans lesquels des particules de rotavirus sont visibles au microscope électronique. Toutefois, il n'a pas été possible d'établir de corrélation entre les sérotypes et les types électrophorétiques de sorte que toute différence décelée par cette technique ne reflète pas nécessairement une différence antigénique.

2.2 Diarrhée due aux agents Norwalk et de type Norwalk

2.2.1 Description et caractéristiques des agents de type Norwalk

A partir de 1972, on a découvert un nouveau groupe d'agents dont la particule de Norwalk de 27 nm est le prototype et observé que ce groupe était associé à des poussées de gastro-entérite, généralement bénignes, survenues à l'école, dans la communauté et dans le milieu familial. Dans l'agglomération de Washington, D.C., des études sur la prévalence des anticorps ont permis d'établir à l'aide d'une épreuve d'hémagglutination par immunoadhérence récemment mise au point que l'anticorps anti-agent Norwalk s'acquiert progressivement dans l'enfance et plus rapidement à l'âge adulte de sorte qu'il est présent chez 50 % des habitants de 40 à 50 ans. Ce schéma d'acquisition des anticorps contraste très nettement avec celui de l'infection à rotavirus et donne à penser que l'agent Norwalk et, probablement, d'autres agents morphologiquement similaires ne constituent pas une cause majeure de gastro-entérite chez les nourrissons et les jeunes enfants mais sont plus vraisemblablement les principaux responsables de la maladie chez les adolescents et les adultes.

L'agent Norwalk a été découvert pour la première fois à Norwalk, Ohio, lors d'une poussée de gastro-entérite qui a atteint 50 % des élèves et enseignants d'une école élémentaire et 32 % de leurs contacts familiaux. Un filtrat préparé à partir d'un écouvillonnage rectal obtenu chez un cas secondaire a été administré oralement à trois volontaires adultes dont deux ont eu la maladie; ce filtrat a subi ensuite avec succès une série de passages. L'agent n'a pas pu être propagé de façon concluante dans un système quelconque de culture de cellules ou d'organes et a été observé pour la première fois à l'immunomicroscopie électronique (IEM) sur un filtrat de selles infectieuses provenant d'un volontaire inoculé. Il a été encore décelé récemment dans les vomissures de quatre volontaires sur cinq atteints de gastro-entérite après administration d'un filtrat de l'agent à 2 %.

Des particules ressemblant de par leur morphologie et leur densité à l'agent Norwalk ont été ensuite découvertes par l'IEM chez des individus victimes de deux poussées familiales de gastro-entérite qui se sont déclarées à Hawaï (agent Hawaï) et dans le Comté de Montgomery, Maryland (agent MC). Par l'IEM et des épreuves croisées, on a pu constater que les agents Hawaï et Norwalk sont distincts, que les agents Norwalk et MC sont apparentés et que la relation entre les agents Hawaï et MC n'est pas établie de façon concluante. Des virus ressemblant à l'agent Norwalk de par leur morphologie et leur densité ont été observés ultérieurement dans des spécimens de selles prélevées : a) lors d'une poussée de gastro-entérite qui s'est déclarée dans une école primaire à Ditchling, Angleterre; b) chez un volontaire tombé malade après administration de l'agent "W" prélevé sur un jeune garçon qui avait eu une gastro-entérite au cours d'une poussée survenue dans un internat et c) chez des individus atteints d'une gastro-entérite après avoir consommé des clovises. L'IEM a permis de déterminer que les agents Ditchling et "W" sont apparentés mais distincts des agents Hawaï et Norwalk tandis que l'agent de la clovisse semble distinct de l'agent Norwalk. Toutefois, la relation entre l'agent de la clovisse et les autres agents n'a pas été établie avec certitude, de sorte qu'outre l'agent de la clovisse, il semble actuellement exister trois sérotypes dans ce groupe d'agents.

Ces agents ont un diamètre (inférieur) de 25 à 27 nm. Ils ne sont pas parfaitement ronds : l'agent Norwalk par exemple a, en moyenne, un diamètre inférieur de 27 nm et un diamètre supérieur de 32 nm, et leur morphologie est semblable à celle des picornavirus ou parvovirus et du virus A de l'hépatite. La microscopie électronique ne révèle pas de sous-structure bien définie. On n'est pas parvenu à bien les propager *in vitro* et, par conséquent, il y a lieu de les déceler par la microscopie électronique, par l'immunomicroscopie électronique et, pour l'agent Norwalk, par les techniques récentes du radio-immunos dosage et de l'hémagglutination par immunoadhérence.

Ces agents ont une densité apparente dans le chlorure de césium, déterminée par ultracentrifugation et par l'IEM ou l'EM, de 1,37-1,41 g/cm³. On ne connaît pas leur teneur en acide nucléique et en protéines. Des études d'infectivité sur volontaires ont permis de déterminer que l'agent Norwalk est stable après une exposition de trois heures à pH 2,7 à la température ambiante. Des études similaires ont montré que les agents Norwalk et "W" sont stables après avoir été exposés respectivement pendant 24 et 18 heures à une solution d'éther à 20 %. L'agent Norwalk est relativement thermostable : il a conservé son infectivité sur des volontaires après avoir été chauffé à 60°C pendant 30 minutes.

Ces agents n'ont pas encore été classés mais étant donné qu'il possède certaines des caractéristiques des parvovirus telles que la morphologie, la densité et la résistance à l'éther et à l'acide ainsi que la résistance relative à la chaleur, l'agent Norwalk est apparenté à ces organismes. Il convient cependant de souligner que la teneur en acide nucléique n'ayant été déterminée pour aucun de ces agents, on ne peut pas les classer dans un groupe quelconque.

L'agent Norwalk a été administré à des souris, des cobayes, des lapins, des chatons, des veaux, des babouins, des chimpanzés, des singes rhésus, des ouistitis, des hiboux, des singes pleureurs et des saïous; aucun de ces animaux n'a contracté la maladie. Des sérums appariés de singes à queue, de babouins, de chimpanzés ayant été examinés en vue de déterminer la réponse sérologique à l'agent Norwalk, cette réponse n'a été observée que chez le chimpanzé. On a aussi constaté en procédant à un radio-immunosage après l'inoculation d'une dose d'épreuve que des chimpanzés excrétaient l'antigène de l'agent Norwalk.

2.2.2 Caractéristiques cliniques et épidémiologiques

Les 604 cas primaires et secondaires de la poussée de Norwalk se sont accompagnés des symptômes suivants : nausées (85 %), vomissements (84 %), crampes d'estomac (52 %), léthargie (57 %), diarrhée (44 %), fièvre (32 %) et frissons (5 %). Ces symptômes ont duré, dans la majorité des cas, de 12 à 24 heures, se prolongeant rarement au-delà de 48 heures; aucun malade n'a été hospitalisé. La période moyenne d'incubation a été de 48 heures. Les signes et symptômes de maladie observés chez 32 volontaires qui sont tombés malades sur 55 auxquels on avait administré des filtrats de selles à 2 % contenant l'agent Norwalk étaient très semblables à ceux qui se manifestent dans les conditions naturelles : période d'incubation de 10 à 51 heures, fièvre (37,4°C) chez 16 personnes (50 %), diarrhée chez 27 (84 %), vomissements chez 20 (63 %), douleurs abdominales chez 23 (72 %), anorexie chez 30 (94 %), maux de tête chez 27 (84 %) et myalgie ou malaises chez 20 (63 %). Ces manifestations cliniques ont généralement duré de 24 à 48 heures. La maladie a été généralement bénigne, évoluant vers la guérison spontanée, encore qu'un volontaire qui a vomi environ 20 fois en 24 heures ait dû recevoir du liquide par voie parentérale.

L'excrétion de particules de Norwalk par les volontaires, déterminée au moyen de l'immunomicroscopie électronique, a atteint un maximum dans les 72 heures qui ont suivi l'apparition de la maladie clinique mais ne s'est produite que rarement par la suite. Les signes et symptômes de maladie observés chez les volontaires après l'administration des agents Hawaf, MC et "W" étaient semblables à ceux provoqués par l'agent Norwalk.

Lors d'études sur volontaires avec l'agent Norwalk, on a observé une immunité à court et long terme (voir à la section 3.1.3.2). Il apparaît que des mécanismes autres que ceux déclenchés par les anticorps sériques jouent un rôle essentiel dans l'immunité à la gastro-entérite de Norwalk.

Chez les volontaires ayant reçu une dose d'épreuve d'agent Norwalk ou Hawaf, il se produit une modification caractéristique : l'élargissement des villosités de la muqueuse du jéjunum et arrondissement de leurs extrémités. La muqueuse elle-même demeure histologiquement intacte. On a également observé des infiltrats modérés de cellules mononucléées et une vacuolisation cytoplasmique des cellules épithéliales. L'examen de coupes minces de la muqueuse jéjunale au moyen de la microscopie électronique à transmission sélective a révélé des cellules épithéliales intactes avec rétrécissement des microvillosités, une dilatation du réticulum endoplasmique granuleux et lisse, un grossissement de la mitochondrie et un accroissement des lysozymes; aucune particule virale n'a été observée à l'intérieur de ces cellules.

Les biopsies effectuées six semaines ou plus après l'infection n'ont rien révélé d'anormal. Au cours de la maladie de Norwalk, la muqueuse gastrique est apparue histologiquement normale. On a constaté que les petites enzymes intestinales à bordure en brosse (phosphatase alcaline, sucrase et tréhalase) étaient moins nombreuses et, ce qui est significatif, que l'activité de l'adénylate cyclase dans la muqueuse jéjunale n'augmentait pas au cours de la maladie de Norwalk ou d'Hawaf.

On a récemment étudié le rôle de l'agent Norwalk dans les poussées de gastro-entérite au moyen de l'épreuve de radio-immunodosage et de blocage radio-immunologique de l'agent Norwalk récemment mise au point. On a alors constaté que six poussées sur 23 étaient associées à l'agent Norwalk; parmi celles-ci, deux se sont produites dans des campus universitaires des Etats-Unis, une dans une école primaire japonaise, et deux sur des navires de croisière; la dernière a frappé deux membres d'une famille dont l'un était associé à une poussée survenue dans une école primaire et l'autre, le cas secondaire, a présenté une réponse sérologique et excrété une particule morphologiquement semblable à l'agent Norwalk. En incluant la poussée initiale de Norwalk et celle, sérologiquement apparentée, du Comté de Montgomery qui sont toutes deux associées à des particules de type Norwalk décelées par l'immunomicroscopie électronique, huit poussées distinctes de gastro-entérite (32 %) ont été ainsi identifiées sur les 25 étudiées. Si l'on avait disposé d'épreuves sérologiques appropriées pour les agents Hawaf et W, il est possible qu'on eût pu déterminer l'étiologie de la majorité de ces poussées. En outre, une étude récente réalisée en Australie permet de penser qu'une autre poussée de gastro-entérite, en rapport avec la consommation d'huîtres, pourrait être due, du moins en partie, à l'agent Norwalk.

2.2.3 Diagnostic de laboratoire

2.2.3.1 Méthodes de détection directe de l'agent Norwalk et des agents de type Norwalk dans les selles

L'immunomicroscopie électronique (IEM) a été utilisée pour la détection initiale de l'agent Norwalk. Pour déceler cet agent dans les selles, on fait incuber une suspension ou un filtrat de selles avec du sérum ou des gammaglobulines de convalescent relevant d'une maladie de Norwalk. Le mélange est alors passé à la centrifugeuse; après avoir éliminé le surnageant, on examine la boulette ou le sédiment reconstitués avec de l'eau distillée par la technique de la microscopie électronique en coloration négative.

La morphologie du groupe d'agents Norwalk n'est pas suffisamment distincte pour permettre de l'identifier directement par la microscopie électronique. Toutefois, les agents Ditchling et W (et celui de la clovisse) ont été observés au microscope électronique après une concentration par ultracentrifugation suivie d'une centrifugation en gradient de densité dans du chlorure de césium; pour la microscopie électronique, on a déposé une goutte de liquide provenant d'une fraction de l'échantillon sur une lame recouverte d'agarose à 0,9 %, puis on a placé une grille sur la goutte pendant 30 minutes pour permettre au chlorure de césium de se diffuser dans l'agarose et enfin, on a examiné la grille en coloration négative.

Un radio-immunodosage (RIA) récemment mis au point pour la détection de l'agent Norwalk dans des spécimens de selles s'est révélé encore plus efficace que l'immunomicroscopie électronique. Cette épreuve est basée sur la différence entre la fixation de suspensions de selles contenant la particule Norwalk à un puits de microtitrage enduit d'anticorps anti-Norwalk de sujets convalescents et celle de ces mêmes suspensions à un autre puits enduit d'anticorps anti-Norwalk de sujets non encore infectés. Avec cette méthode, on peut distinguer une interaction non spécifique d'une fixation spécifique de l'agent Norwalk. Elle permet de déceler l'antigène viral soluble ainsi que les substances particulaires. Malheureusement, certains spécimens de selles (moins de 5 %) ont une forte activité non spécifique qui masque la fixation spécifique de l'agent Norwalk. Le succès de cette technique dépend de la disponibilité de réactifs spécifiques; or, le seul immunosérum satisfaisant dont on dispose pour l'agent Norwalk provient d'hommes ou de chimpanzés infectés par cet agent. Il faut utiliser des sérums à titre élevé de convalescents et des sérums négatifs de sujets non encore infectés qui proviennent, dans chaque cas, de la même personne ou du même chimpanzé. Actuellement ces sérums ne se trouvent pas dans le commerce.

2.2.3.2 Méthodes de titrage des anticorps dirigés contre les agents Norwalk et du type Norwalk

Jusqu'à une époque récente, l'immunomicroscopie électronique était la seule méthode de détection d'une réponse sérologique à l'agent Norwalk. Etant donné que cette technique est utilisée pour faciliter ou permettre la détection et la reconnaissance de l'agent Norwalk (voir la section 2.2.3.1), il est essentiel de l'appliquer à des paires de sérums appropriés pour identifier une particule dont on observe la réaction avec du sérum de convalescent ou une immunoglobuline.

Plus récemment, on a mis au point une épreuve d'hémagglutination par immuno-adhérence (IAHA) qui consiste à préparer de l'antigène Norwalk à partir de selles humaines contenant la particule Norwalk en utilisant diverses méthodes d'extraction et de concentration. Cette épreuve, qui emploie plusieurs réactifs et des érythrocytes humains du groupe O, s'apparente à la fois à une réaction de fixation du complément (FC) et à une épreuve d'hémagglutination. Elle présente une assez grande spécificité pour déceler les réponses sériques en raison de son haut degré de concordance avec l'immunomicroscopie électronique et le titrage radio-immunologique par blocage (voir plus bas). Toutefois ces deux dernières techniques sont légèrement plus efficaces et par ailleurs, l'épreuve d'hémagglutination par immuno-adhérence ne permet pas de déceler l'antigène de l'agent Norwalk dans les spécimens de selles. L'un des obstacles majeurs à l'utilisation de cette épreuve pour les études sérologiques est l'absence d'une provision suffisante d'antigène de l'agent Norwalk. Si l'épreuve d'hémagglutination par immuno-adhérence nécessite relativement moins d'antigène que la réaction de fixation du complément, elle en use beaucoup plus que le titrage radio-immunologique par blocage. En outre, tous les érythrocytes humains du groupe O ne réagissent pas de la même manière dans cette épreuve et il peut être nécessaire de tester les érythrocytes de nombreux donneurs avant d'en trouver un qui réagisse avec une sensibilité suffisante à un antigène connu.

Le radio-immunosage pour la détection de l'antigène Norwalk (voir à la section 2.2.3.1), une fois modifié pour permettre d'identifier l'anticorps anti-agent Norwalk, est devenu le titrage radio-immunologique par blocage. Cette épreuve, basée sur la capacité d'un sérum d'épreuve de bloquer la fixation de la ^{125}I -IgG anti-Norwalk à l'antigène Norwalk, est hautement sensible et d'une grande spécificité et elle s'est révélée légèrement plus efficace que l'immunomicroscopie électronique pour déceler les réponses sériques chez des volontaires ayant reçu une dose d'épreuve de l'agent Norwalk. Elle convient aux études de grande envergure et peut théoriquement être utilisée pour déceler un anticorps dans des liquides organiques autres que le sérum (sécrétions intestinales, lait, etc.).

2.3 Diarrhées virales

On a identifié un certain nombre d'agents viraux dont le rôle dans l'étiologie de la diarrhée aiguë n'a pas encore été élucidé. Ces agents peuvent être divisés en deux groupes. Le premier est composé de virus tels que les adénovirus, coronavirus et entérovirus qui sont des virus de mammifères universellement reconnus et l'autre, de particules ou agents décrits par divers chercheurs et dénommés astrovirus, calicivirus et minirovirus. On trouvera ci-après le point des connaissances actuelles sur ces agents.

2.3.1 Adénovirus

Les adénovirus sont des virus respiratoires bien connus (33 sérotypes ont été dénombrés en culture cellulaire) et les sérotypes les plus courants peuvent être isolés dans des selles en culture cellulaire. Récemment, un certain nombre de chercheurs ont dit avoir observé dans des selles au microscope électronique des virus impossibles à distinguer du point de vue morphologique qu'ils n'ont pas pu faire reproduire ensuite en culture cellulaire. On ignore les raisons d'un tel phénomène qui a empêché d'identifier ces souches autrement qu'à titre provisoire. Des adénovirus ont été isolés chez de nombreuses espèces animales mais aucun n'est apparu comme une cause manifeste de diarrhée.

Au cours de plusieurs études, on a découvert des adénovirus au microscope électronique dans les selles d'environ 5 à 8 % d'enfants normaux; chez certains, une excrétion prolongée était courante. Aucun sérotype n'a été associé de façon décisive à la diarrhée, encore que des

poussées occasionnelles soient mentionnées dans la littérature médicale. Au cours d'une récente épidémie, le virus n'a pu être identifié que par l'immunomicroscopie électronique et il n'a pas été possible de le faire reproduire. Des études plus poussées sont nécessaires pour déterminer le rôle des adénovirus (notamment ceux qui ne poussent pas ou qui poussent mal en culture cellulaire) dans l'étiologie de la diarrhée. Lors d'études sur volontaires limitées aux souches bien établies, on a inoculé des virus cultivés à partir de selles mais aucun symptôme gastro-intestinal n'est apparu.

2.3.2 Astrovirus

Les astrovirus ont été décrits pour la première fois en Ecosse en 1975; observés d'abord au microscope électronique dans des selles diarrhéiques de nourrissons, ils ont été ensuite décelés dans d'autres régions du Royaume-Uni. Des particules très semblables, mais peut-être pas identiques, ont été signalées en Australie et au Canada. Il ne semble pas que ces particules puissent pousser dans les cultures cellulaires courantes, mais une prolifération limitée a eu lieu dans des cellules rénales d'embryon humain où on les a décelées par l'immunofluorescence en utilisant un immunosérum préparé chez le cobaye. Rien jusqu'ici ne permet d'affirmer qu'il existe plus d'un sérotype.

Le rôle de l'astrovirus en tant qu'agent étiologique n'a pas été élucidé. Dans une étude, on a constaté qu'il apparaissait plus souvent dans les selles de nourrissons atteints de diarrhée que chez des témoins. On l'a également incriminé pour deux poussées qui se sont produites au Royaume-Uni. Par ailleurs, l'immunomicroscopie électronique a permis d'enregistrer des accroissements postinfectieux des titres d'anticorps. Chez les volontaires adultes ayant reçu une dose d'épreuve d'astrovirus, l'infection est fréquente et s'accompagne de l'excrétion de grandes quantités de virus et d'une séroconversion mais la maladie ne survient que chez un petit nombre d'individus.

Des virus morphologiquement similaires ont été découverts dans les excréments d'agneaux et de veaux. Il a été montré que, si le virus de l'agneau provoque la diarrhée chez des agneaux gnotobiotiques, le virus du veau n'induit qu'une séroconversion chez des veaux gnotobiotiques. On a en outre signalé que les astrovirus provenant de l'homme, de l'agneau et du veau sont sérologiquement distincts.

2.3.3 Calicivirus

C'est en 1976 que cet agent a été décrit pour la première fois après avoir été décelé au microscope électronique, dans des selles de nourrissons, lors d'une enquête communautaire en Ecosse. Des virus similaires ont été signalés par deux autres laboratoires du Royaume-Uni. Deux laboratoires du Canada ont observé des particules apparemment semblables mais, dans les deux cas, ils les ont dénommées astrovirus de sorte que la situation est quelque peu confuse. Aucune prolifération de cet agent en culture cellulaire d'origine humaine ou féline n'a encore été rapportée et l'on n'a pas non plus décrit de sérotypes distincts.

Selon un rapport, des particules de calicivirus ont été décelées dans les selles d'enfants victimes d'une poussée scolaire de vomissements hivernaux. Ces particules n'ont été trouvées que dans les selles des malades et pas chez les contacts. Un enseignant adulte a été également atteint sans aucune séroconversion. D'autres rapports font état d'une association moins manifeste entre le calicivirus et la gastro-entérite. Aucune étude sur volontaires n'a été rapportée. Des virus morphologiquement similaires ont été isolés chez le porc, le chat et l'otarie, mais il n'a pas été prouvé que l'un quelconque de ces agents provoque la diarrhée chez l'hôte naturel. On ne sait pas encore avec certitude s'il existe plus d'un sérotype du virus félin.

2.3.4 Coronavirus

On ignore l'importance des coronavirus en tant que cause de diarrhée. Un rapport indique que des coronavirus ont été décelés par la microscopie électronique dans des selles recueillies chez des adultes lors de trois poussées de gastro-entérite et que les particules trouvées dans l'un des échantillons ont proliféré dans des cultures d'organes et de cellules. Il n'a été fait aucune étude sur volontaires avec ces virus. Toutefois, les coronavirus infectent naturellement de nombreux animaux (souris, porcs, veaux, chiens, rats et chats) chez qui ils provoquent divers symptômes cliniques, y compris, dans certains cas, la diarrhée.

2.3.5 Entérovirus

On a identifié 68 entérovirus qui peuvent tous, sauf peut-être deux d'entre eux, être isolés dans les selles. Au microscope électronique, ils apparaissent tous semblables : ce sont des petites sphères (25 nm) dépourvues de caractéristiques particulières. On dispose, depuis plus de dix ans, de techniques d'isolement des entérovirus et de nombreuses recherches ont tenté d'établir une relation entre ces organismes et la diarrhée. D'une manière générale, aucune preuve convaincante n'a été obtenue, encore que, de temps à autre, on signale des poussées apparentes au cours desquelles sont isolés des types bien caractérisés (par exemple des échovirus types 11, 14, 18 et 19). On ignore si ces poussées sont dues aux entérovirus ou à un agent non détecté. Rien n'autorise à penser que les entérovirus pathogènes bien connus tels que le poliovirus et le virus Cocksackie puissent entraîner la diarrhée.

L'absence d'association manifeste entre les entérovirus et la diarrhée n'a pas incité à entreprendre beaucoup d'études sur volontaires. Certaines ont été faites à l'aide de souches d'échovirus et de virus Cocksackie du groupe A isolés dans la gorge, mais celles-ci n'ont pratiquement causé aucune maladie gastro-intestinale.

On trouve des entérovirus chez un certain nombre d'espèces animales mais il n'est pas prouvé qu'ils provoquent la diarrhée chez l'hôte naturel.

2.3.6 Autres petits objets ronds analogues au virus (SRV)

Il a été montré que certains extraits de selles contiennent d'autres particules de 25 à 35 nm semblables à des virus et, pour certains chercheurs, nettement différentes des matières environnantes, mais on n'a pas pu les faire pousser en culture cellulaire. Ces objets ont été signalés principalement à l'occasion de poussées de gastro-entérite survenues dans des communautés ou des institutions. Leurs dimensions et leur apparence sont chaque fois constantes, mais elles diffèrent d'une poussée à l'autre. Plusieurs chercheurs ont signalé des objets observés dans les selles de malades atteints de diarrhée sporadique (par exemple les minirota-virus décrits au Canada qui sont morphologiquement semblables au virus observé au cours d'une poussée en Ecosse) mais, en l'absence d'épidémie associée, il a été difficile d'obtenir un matériel suffisant pour une étude détaillée. Des objets similaires ont été décelés dans les excréments de chiens et de porcs atteints de diarrhée, mais on ignore leur relation avec ceux qui sont observés chez l'homme, si tant est qu'elle existe.

3. RECHERCHES RECOMMANDÉES

Les rotavirus se sont révélés les plus importants des agents viraux qui interviennent dans l'étiologie des graves maladies diarrhéiques du nourrisson et du jeune enfant et l'on dispose de techniques simples pour les identifier. Dès lors, il convient de donner la priorité aux recherches visant à élucider l'épidémiologie, la pathophysiologie et les moyens de prévention des maladies causées par les rotavirus. Les agents Norwalk et de type Norwalk ont été également reconnus comme une cause de maladie diarrhéique, principalement chez les adolescents et les adultes. On connaît très mal le rôle des autres agents viraux dans les maladies diarrhéiques graves et il convient de les soumettre à des recherches plus poussées.

A la lumière de ce qui précède, le groupe a recommandé les recherches ci-après.

3.1 Diarrhée à rotavirus

3.1.1 Des études doivent être entreprises pour mieux déterminer la mortalité et la morbidité imputables à la diarrhée à rotavirus dans diverses zones géographiques. Tout facteur, en rapport avec l'hôte ou l'environnement, qui influe sur la gravité de la maladie devra être identifié.

3.1.2 Il convient également d'élucider les caractéristiques épidémiologiques de la diarrhée à rotavirus dans divers cadres géographiques. Les études tendront à définir : l'incidence relative des deux sérotypes reconnus, le caractère saisonnier de la maladie, ses modes de transmission, l'évolution naturelle de la maladie, le taux de réinfection, l'incidence de l'infection asymptomatique, la relation entre l'état nutritionnel et l'incidence de la maladie,

l'association éventuelle entre le virus et la diarrhée chronique, le réservoir naturel de rotavirus humains, les facteurs qui influent sur la survie des rotavirus dans l'environnement et la stabilité physico-chimique du virus.

3.1.3 Des études sont nécessaires en vue de déterminer pourquoi des nouveau-nés humains infectés par le rotavirus n'ont souvent qu'une maladie bénigne ou une infection infraclinique. La rareté relative des maladies graves chez le nouveau-né humain atteint d'une infection à rotavirus contraste fortement avec l'évolution naturelle de l'infection chez les nourrissons plus âgés et les jeunes enfants. En outre, dans le monde animal, ce sont les nouveau-nés qui sont atteints des plus graves formes de maladie à rotavirus. Ces études devront prendre en considération des facteurs tels que l'état d'immunité, la virulence du virus, l'alimentation et l'influence d'autres organismes fécaux. Des informations sont également nécessaires pour déterminer si des nouveau-nés humains présentant une infection initiale infraclinique peuvent, en cours de leur existence, être réinfectés et/ou rendus malades par le même sérotype ou un autre, ou bien s'ils sont immunisés par l'infection initiale.

3.1.4 Pour déterminer la pathophysiologie des diarrhées à rotavirus, il faut entreprendre des études plus poussées.

3.1.5 Il convient de déterminer l'effet de l'alimentation pendant une diarrhée sur l'évolution clinique de la diarrhée à rotavirus.

3.1.6 On devrait élucider le rôle éventuel des maladies à rotavirus dans la malabsorption et les carences nutritionnelles qui en résultent.

3.1.7 Il faudrait faire davantage de travaux sur le sérotypage des rotavirus isolés chez l'animal et l'homme afin de mieux déterminer les réservoirs d'infection potentiels. Dans les conditions expérimentales, un rotavirus virulent pour une espèce de mammifère peut n'entraîner chez une autre qu'une infection infraclinique. Il est donc possible que dans la nature, les contacts avec l'homme constituent une source d'infection pour l'animal et les contacts avec les animaux une source d'infection pour l'homme.

3.1.8 Des recherches sont nécessaires pour trouver des méthodes permettant de déterminer la virulence des rotavirus chez l'animal et l'homme, tant pour comparer différents isolats que pour déterminer s'il existe une relation de cause à effet entre un virus présent dans les selles et le syndrome clinique.

3.1.9 Etant donné que l'on ne peut pas faire suffisamment proliférer les rotavirus humains pour les utiliser directement dans la préparation d'un vaccin, il convient d'accorder une priorité élevée à l'étude de méthodes permettant d'obtenir une propagation plus efficace de ces agents.

3.1.10 On sait déjà que l'anticorps IgA intestinal antirotavirus joue un rôle essentiel dans la prévention des maladies à rotavirus mais de nouvelles études sont nécessaires pour déterminer la durée de la réponse immunitaire et les moyens de la favoriser. Il faudra étudier les taux d'anticorps antirotavirus dans des sécrétions telles que la salive et le lait maternel afin de déterminer s'ils reflètent la concentration d'anticorps dans les sucs de l'intestin grêle.

3.1.11 Il faudrait entreprendre des études pour déterminer l'influence de l'allaitement au sein sur l'évolution naturelle des infections à rotavirus. On étudiera les facteurs épidémiologiques, immunologiques et sociaux. Les connaissances tirées de ces études devraient permettre d'établir s'il y a lieu d'administrer un vaccin antirotavirus aux femmes en âge de procréer.

3.1.12 Etant donné que l'administration passive d'anticorps antirotavirus par la voie alimentaire a provoqué une résistance à une dose d'épreuve de rotavirus chez divers modèles animaux, on pourrait envisager d'étudier chez l'homme l'effet de l'administration orale d'anticorps antirotavirus humains. Une autre approche pourrait consister à administrer par voie orale des fractions séparées et purifiées de "lait immun" de vache (contenant des anticorps antirotavirus).

3.1.13 Il faut rechercher un animal d'expérience chez qui la maladie puisse être induite au-delà du premier stade de l'existence. Un tel modèle serait important pour déterminer la sécurité et l'efficacité de vaccins antirotavirus potentiels ainsi que pour des études sur la virulence.

3.1.14 Le groupe reconnaît la nécessité de soutenir des travaux tendant à développer un vaccin antirotavirus. A cet égard, il fait siennes les recommandations du groupe de travail sur l'immunité et l'élaboration de vaccins.¹

3.1.15 Il faut poursuivre la mise au point et l'évaluation de techniques simples et fiables pour la détection des rotavirus et l'identification des sérotypes.

3.1.16 Pour mener à bien la plupart de ces études, il faudra disposer d'une provision d'excellents réactifs de référence. L'OMS devrait s'attacher immédiatement à préparer et distribuer les réactifs normalisés ci-après :

- 1) sérum d'animaux non immunisés et sérum hyperimmun antirotavirus préparés chez la chèvre et le cobaye;
- 2) sérum de veaux gnotobiotiques non infectés et immunosérum antirotavirus préparé chez des veaux gnotobiotiques convalescents (3 à 4 semaines après la maladie);
- 3) antigène de rotavirus pour les épreuves immunologiques ELISA et autres. En vue d'une normalisation mondiale de ces épreuves diagnostiques, il convient d'utiliser un seul antigène dans la préparation des produits 1) et 2). Un tel réactif est en cours d'élaboration dans le cadre d'un contrat entre le NIH et l'OPS, et il convient de faire tous les efforts possibles pour le distribuer dans le monde entier en tant que réactif de référence de l'OMS. Lorsque l'on disposera ultérieurement d'une technologie appropriée, il faudra mettre au point et distribuer par le truchement de l'OMS un sérum hyperimmun spécifique contre les deux sérotypes humains de rotavirus.

3.1.17 Il y a lieu d'élaborer des matériels de formation et d'organiser des ateliers pour former des agents de laboratoire à la conduite des épreuves diagnostiques.

3.2 Diarrhée due aux agents Norwalk et de type Norwalk

3.2.1 Etant donné que le groupe d'agents Norwalk ne prolifère pas en culture cellulaire, il faut s'attacher à trouver un moyen de propager ces agents.

3.2.2 Il faudrait tenter de découvrir d'autres agents d'environ 27 nm et sérologiquement distincts qui soient associés à la gastro-entérite virale.

3.2.3 On devrait mettre au point des épreuves pratiques de détection et sérologique applicables à d'autres agents du type Norwalk, tels que les agents Hawaii W ou Ditchling, pour mieux élucider leur évolution naturelle.

3.2.4 Des efforts additionnels devraient être faits pour découvrir des modèles animaux qui permettent d'étudier la maladie causée par le groupe d'agents Norwalk.

3.2.5 L'absence d'immunité à long terme contre l'agent Norwalk constatée chez un groupe de volontaires, alors qu'un autre groupe possédait cette immunité, soulève d'importantes questions en rapport avec l'immunité intestinale. Les raisons de cette absence d'immunité doivent être éclaircies.

3.3 Autres diarrhées virales

3.3.1 Des recherches devront être faites pour déterminer le rôle des astrovirus, calicivirus, coronavirus, adénovirus intestinaux (non typés) et autres particules de type virale détectés

¹ Document non publié OMS/DDC/78.2.

dans les selles de malades atteints de diarrhée humaine aiguë. Elles comporteront des études longitudinales et des enquêtes épidémiologiques de dépistage ainsi que des études de laboratoire sur les moyens de propager ces particules *in vitro* en vue d'une identification plus poussée. Il faudrait que dans le cadre de ces études, un échange de spécimens s'instaure entre les laboratoires afin que l'on s'entende sur l'identification de ces différentes entités morphologiques.

4. ETUDES COLLECTIVES DE L'OMS VISANT A DETERMINER LE ROLE DES ROTAVIRUS ET AUTRES VIRUS DANS LES MALADIES DIARRHEIQUES EN DIVERS LIEUX GEOGRAPHIQUES

On trouvera ci-après un résumé de deux études collectives de l'OMS sur les diarrhées virales actuellement en cours et dont le groupe a fait le point.

4.1 Ainsi qu'il est indiqué à la section 2.1, l'importance du rôle des rotavirus dans l'étiologie des maladies diarrhéiques a été clairement établie dans divers pays à climat tempéré. Toutefois, on ne possède guère d'informations sur ce rôle dans les pays en développement à climat tropical où les maladies diarrhéiques sont l'une des principales causes de morbidité et de mortalité chez les nourrissons et les enfants. L'étude a donc pour objet d'élargir les connaissances actuelles sur l'incidence des rotavirus et de déterminer leur rôle en tant que causes de maladies diarrhéiques dans diverses régions du monde.

Onze pays ont accepté d'y participer. Des spécimens de selles provenant de 438 enfants de moins de cinq ans atteints de diarrhée ont été testés pour la recherche des rotavirus dans un laboratoire utilisant la technique ELISA, et l'on a trouvé des rotavirus dans 27 % de ces spécimens. Le taux de détection varie d'un pays à l'autre de 7 à 71 %. Les spécimens ont été également soumis à des épreuves destinées à déceler l'agent Norwalk, mais avec des résultats négatifs. On peut donc penser que les rotavirus jouent un rôle important à l'égard des diarrhées infantiles enregistrées dans les pays en question. L'étude se poursuit afin de déterminer la part de divers facteurs saisonniers, climatiques, socio-économiques et environnementaux dans l'épidémiologie de la maladie en divers points du globe.

4.2 Comme il est indiqué à la section 2.3, d'autres virus tels que les adénovirus, astrovirus, calicivirus, coronavirus et autres petites particules rondes semblables à des virus ont été aussi observés récemment par plusieurs laboratoires dans les spécimens de selles de malades atteints de diarrhée. Toutefois, on sait peu de choses sur leur distribution géographique et leur rôle dans l'étiologie des maladies diarrhéiques reste à déterminer. L'étude vise au premier chef à rechercher ces virus dans les spécimens de selles de malades souffrant de diarrhée en diverses régions du monde et à déterminer leur association avec la maladie. Des laboratoires d'Amérique du Nord, d'Asie, d'Australie et d'Europe participent à cette étude au cours de laquelle les spécimens de selles recueillis sont échangés et observés au microscope électronique dans chacun des laboratoires participants.

Si les résultats préliminaires communiqués par les laboratoires participants témoignent d'une bonne corrélation, il est apparu que certains virus ne résistent pas à de mauvaises conditions de transport, par exemple une température défavorable sur de longues distances, qui pourraient être à l'origine de divergences entre les observations faites sur les spécimens provenant de certains malades. Cette étude est importante dans la mesure où elle permettra de mieux élucider le rôle possible des divers virus dans les maladies diarrhéiques humaines.

Le groupe a approuvé la poursuite de ces études.

= = =