

Infections virales d'origine alimentaire

La transmission alimentaire ou hydrique des virus

- Problème largement sous-estimé jusqu'à présent.
- Ceci était lié aux difficultés du diagnostic
 - Dans les selles des patients:
 - ME et RT-PCR (multi-amorces)
 - Dans l'eau ou les aliments:
 - RT-PCR (multi-amorces + Pb d'extraction)
- → Evaluation clinico-épidémiologique
Critères de Kaplan

Kaplan et al. ont proposé d'utiliser des critères cliniques et épidémiologiques pour leur attribuer l'étiologie d'une épidémie :

- (1) Culture bactérienne négative,
- (2) Durée moyenne de la maladie de 12 à 60 heures,
- (3) Vomissements chez plus de 50% des cas,
- (4) Période d'incubation de 24 à 48 heures.

Si ces critères n'ont pas une spécificité de 100%, ils ont permis de mieux appréhender la part des calcivirus dans les épidémies pour lesquels l'agent étiologique restait inconnu.

La transmission alimentaire ou hydrique des virus devient un problème de plus en plus important

- Les techniques permettent de mieux appréhender l'étiologie et les mécanismes de transmission.
- La mondialisation du commerce alimentaire entraîne une confrontation des cultures culinaire d'où à émergé la nécessité d'une sécurité alimentaire.
- → Réglementation européenne
- → Réseau de surveillance européen

Transmission alimentaire ou hydrique des virus entériques

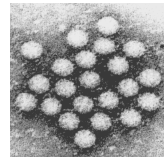
Probabilité	Symptomatologie		
	Gastro-entérite	Hépatite	Autres
Fréquente	Norovirus	V. Hépatite A	Entérovirus
Occasionnelle	Adéno 40/41 Rota gpes A-C Sapovirus Astrovirus Aichi virus	V. Hépatite E	

Calicivirus humains

Caliciviridae

ARN+

27-30nm

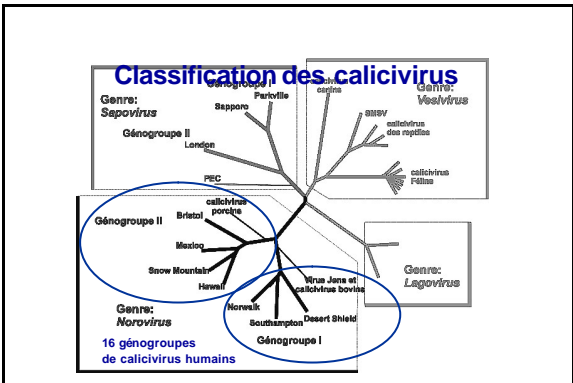


Norwalk virus
1972, Kapikian



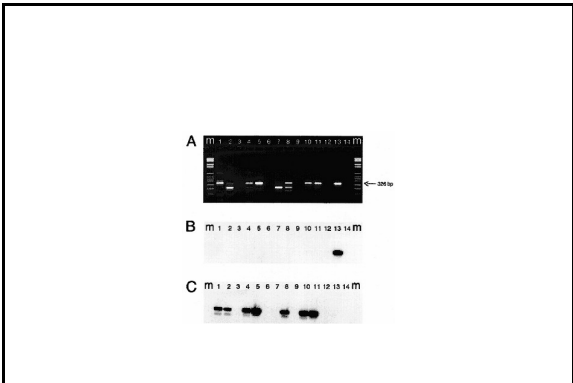
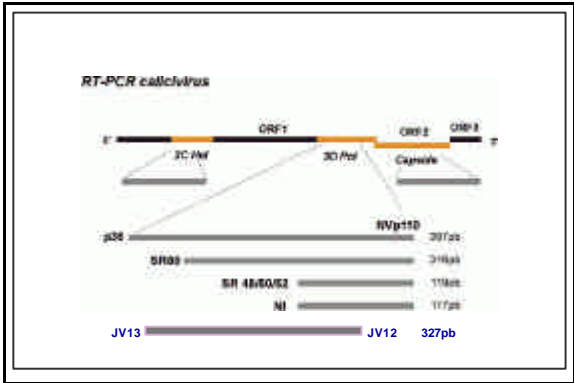
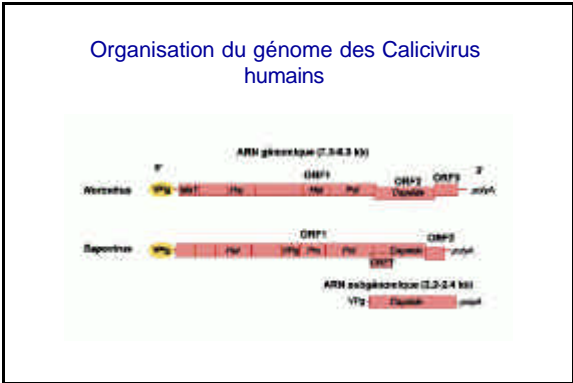
Sapporo virus
1977, Chiba

Résistance physico-chimique importante, notamment aux concentrations de chlore utilisées pour traiter l'eau potable.



Méthodes de diagnostic calicivirus

- RT-PCR (diagnostic et génotypage)
 - Seule technique utilisable sur les aliments et l'eau
 - Seule technique permettant une caractérisation des souches virales
- Microscopie électronique
- ELISA*



Typage moléculaire des Calicivirus

- Séquençage des produits de PCR
 - Hybridation spécifique de type ou "reverse line blot hybridization" (différents degrés de spécificité)
- gènes:
 - Polymérase
 - Capside

Critères de classification pour distinguer un nouveau génotype de norovirus

- Homologie de séquence dans la capsid < 80%
- Homologie de séquence dans le gène de la polymérase :
 - GGI < 85%
 - GGII < 90%

Classification des Norovirus humains (d'après Green et al. (2001))

GG	génotype	Virus de référence	Exemples
I	1	Norwalk/1968/US	KY/89/JPN
	2	Southampton/1991/UK	White Rose, Crawley
	3	Desert Shield/395/1990/SA	Birmingham291
	4	Chiba 407/1987/JP	Thistle Hall, Valetta, Malta
	5	Musgrove/1989/UK	Bullins
	6	Hesse 3/1997/GE	Sindleshham, Mikkeli, Lord Harris
	7	Winchester/1994/UK	Lwymontley
II	1	Hawaii/1971/US	Worley *, Gillington
	2	Melksham/1994/UK	Snow Mountain, Melksham
	3	Toronto 24/1991/CA	Mexico, Auckland, Rotterdam
	4	Bristol/1993/UK	Lordsdale, Camberwell Pilgrim, SymGreen, Cimsby
	5	Hillingdon/1990/UK	White river, Welterhof
	6	Seacroft/1990/UK	
	7	Leeds/1990/UK	Gwynedd, Venlo, Creche
	8	Amsterdam/1998/NL	
III		Virus bovinus (Jena et Newbury)	
IV	1	Alphatron/1998/NL	

	Calicivirus	Rotavirus	Astrovirus	Adénovirus 40/41
Signes cliniques	diarrhée +++ vomissements ++ fièvre	diarrhée fièvre déshydratation + vomissements ±		diarrhée modérée vomissements ± fièvre ±
Variations saisonnières	surtout hiver	pic hivernal	hiver printemps	toute l'année
Caractéristique épidémiologique	majoritairement épidémiques	sporadiques et saisonnières		épidémiques ou sporadiques
Populations cibles	tout âge	jeune enfant personnes âgées	enfants personnes âgées immunodéprimés	enfants < 2 ans

	Calicivirus	Rotavirus	Astrovirus	Adénovirus 40/41
Transmission				
Incubation	1 à 3 jours	1 à 4 jours	1 à 2 jours	8 à 10 jours
Durée des signes	0 à 8 jours	2 à 9 jours	2 à 4 jours	5 à 12 jours
Excrétion (ME)	Jusqu'à 18 jours	10 jours	12 jours	10 à 14 jours
Taux d'attaque	très élevé	élevé	élevé	inconnu

Note: A callout box points to the 'Taux d'attaque' row, stating: "dose infectieuse ≈ 10/100 particules virales".

Classification des SLVs

Génogroupe I Sapporo

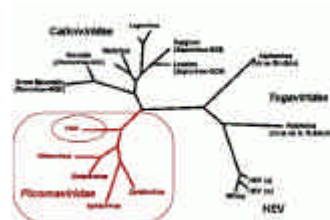
Sapporo
Parkville
Stockholm

Génogroupe II London

London

Le virus de l'hépatite A (HAV)

Famille : *Picornaviridae*

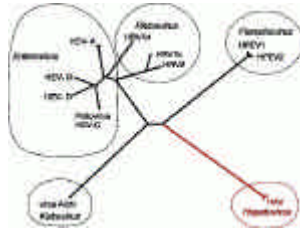


Le virus de l'hépatite A (HAV)

Genre : *Hepatovirus*

Un seul sérotype.

Aucune communauté antigénique avec d'autres virus hépatiques



Le virus de l'hépatite A (HAV)

Virus non enveloppés

Capside icosaédrique

30nm

ARN+

Très résistant (>entérovirus) à la chaleur, à l'éther à 10 % et aux doses de chlore utilisées pour la chloration habituelle des eaux de boissons.

Pouvoir pathogène

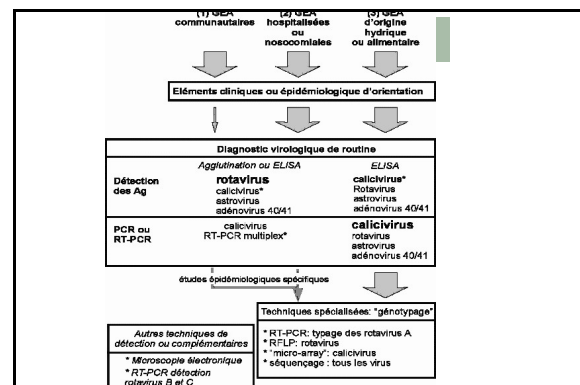
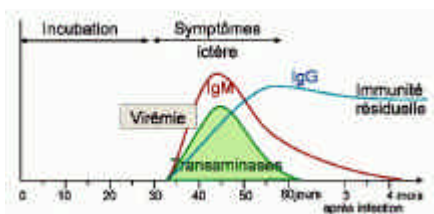
- Période d'incubation: en moyenne 30 jours (extrêmes 15-50 jours)
- Son expression clinique est influencée par l'âge du sujet :
- -chez les enfants : formes inapparentes ou pseudo-grippales
- -chez les sujets adultes **formes ictériques** plus fréquentes, asthéniantes

Pouvoir pathogène

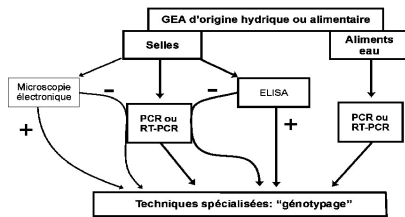
Groupes d'âge	< 6 ans	6-14 ans	15-39 ans	40 ans
Formes ictériques	< 10%	40% - 50%	70% - 80%	
Mortalité		0,1 %	0,3 %	2,1 %

Diagnostic

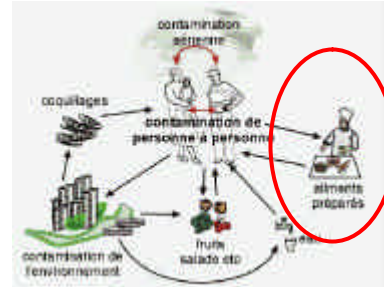
- Détection des antigènes (ELISA)
- Détection du génome (RT-PCR).



Stratégie de diagnostic des gastroentérites d'origine alimentaire ou hydrique



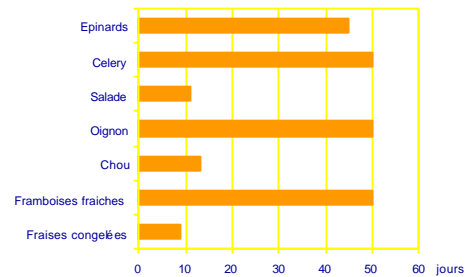
Contamination des aliments: Le personnel de l'alimentation est au centre du problème



Le personnel de l'alimentation est au centre du problème

- 240 Elimination importante de virus dans les selles :
 - 10¹¹/g de selle pour le rotavirus
 - Pendant et après la période symptomatique (> 3 sem)
 - Porteurs asymptomatiques
- 240 Les virus persistent sur les surfaces
- 240 Transmission par les mains :
 - 1000 particules pour HAV
- 240 Dose infectieuse tr ès faible pour les norovirus
 - 10 à 100 particules
- 240 Tous les aliments peuvent infectés et à tous les stades de la préparation :
 - Dessert, fruits, légumes, salades, sandwiches, etc.

Survie du poliovirus dans différents légumes conservés à +4 °C



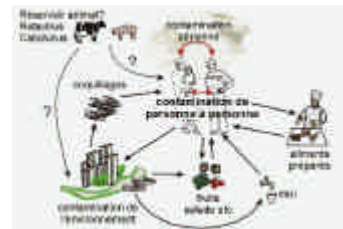
Coquillages et virus

Trempage de décontamination inefficace

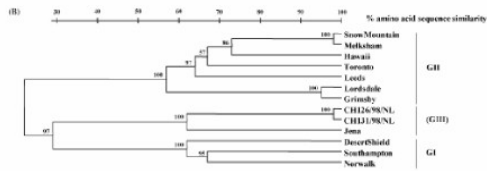
Action en amont



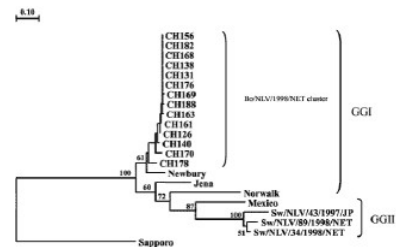
Gastroentérites virales : Zoonose ?



Calicivirus animaux et humains



Calicivirus animaux et humains



Procédures d'inactivation des virus

- Difficiles à évaluer, les norovirus ne se multiplient pas sur culture cellulaire
- Evaluation par analogie avec d'autres virus
 - HAV
 - Calicivirus félin
- Nécessité d'une chute du nombre de particules virales d'au moins $3\log_{10}$

Traitements thermiques

- 60°C durant 30 minutes
 - Inactivation incomplète
 - Risque variable selon l'aliment (liquide/solide; teneur en graisse, protéine, sucre, pH)
- Pasteurisation: idem
- Traitement UHT:
 - Inactivation; risque nul

Traitements physiques/ chimiques/ biologiques

- Lyophilisation :
 - Inactivation insuffisante
 - Risque de contamination élevé?
 - Peu d'informations sur les produits commerciaux
- Congélation :
 - Inactivation faible ou nulle
 - Risque de contamination élevée
- Fermentation : ?
- Acidification (jus de fruits):
 - Inactivation incomplète (absence de données quantitatives)
 - Risque de contamination modéré
- Rinçage/ lavage des fruits
 - Décontamination difficile; risque élevé

Traitements de l'eau

- Chlore :
 - Inefficace entre 4 et 6 mg de chlore actif par litre
 - Nécessite 10mg/l
- Traitement UV :
 - Nécessite entre 20 et 40 J/cm²
- Traitement à l'Ozone :
 - Efficacité variable selon la turbidité de l'eau

Décontamination des surfaces

• Hypochlorite de sodium :

- Inactivation efficace
 - 1000 ppm (~ 1g/l) si le produit est fraîchement reconstitué
 - 5000 ppm si le produit est pré-reconstitué
- Nécessite 10mg/l

• Glutaraldéhyde et produits iodés :

- → inactivation

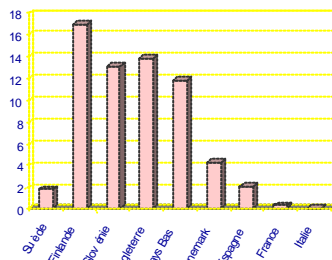
• Ammoniums quaternaires, détergents, éthanol :

- Inefficaces

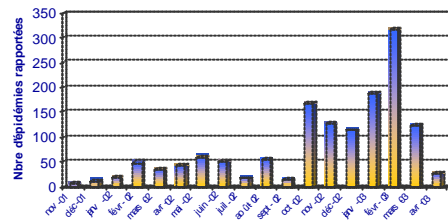
Expérience du réseau européen environ 1450 épidémies rapportées



Epidémies rapportées par millions d'habitants selon les pays européens participant au réseau

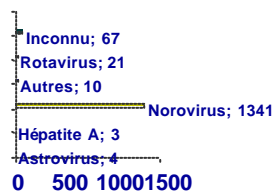


Epidémies de gastro-entérites (11/01 – 04/03)



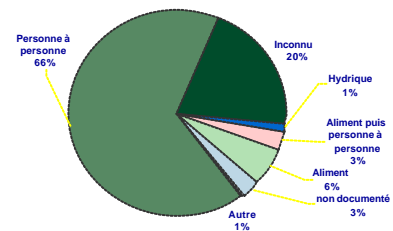
N = 1451

Virus en cause

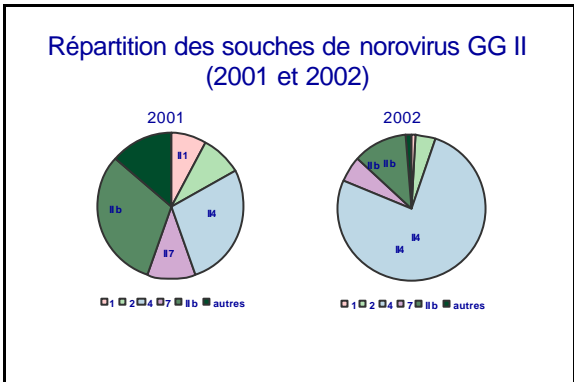
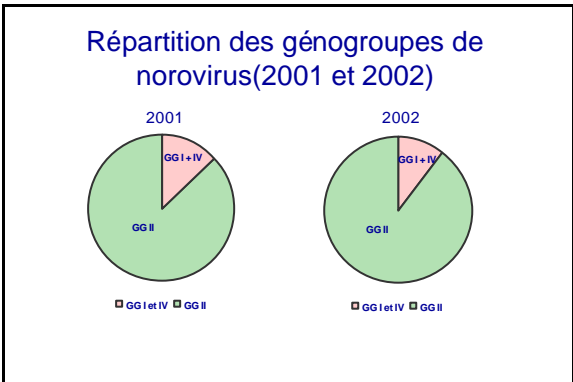
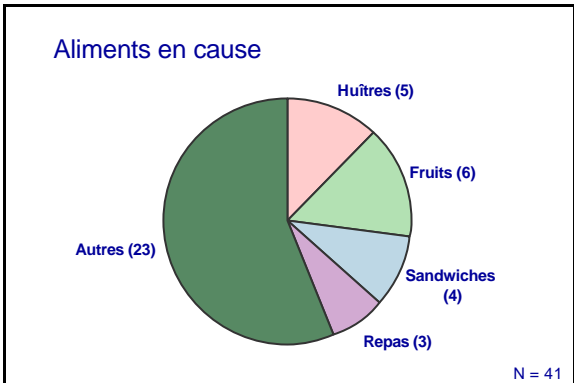
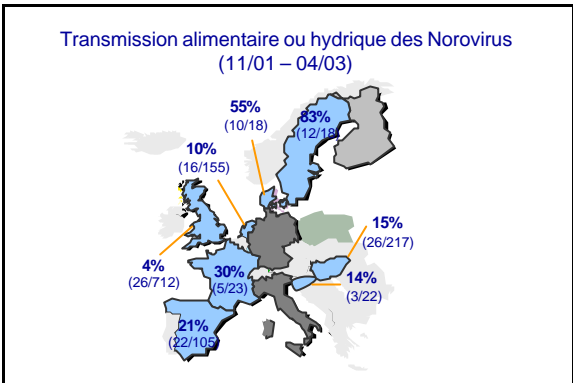


N = 1451

Mode de transmission des épidémies à norovirus



N = 1338



Variant GG II4

- Souche apparentée au génotype GG II4
- Caractérisé par des mutations dans le gène de la polymérase, mais aucun déterminant particulier de pathogénicité
- Émergence dans tous les pays européens
- Associé aux épidémies transmises de personne à personne

Nouveau variant GG IIb

- Souche non apparentée aux souches pré-existantes pour ce qui concerne le gène de la polymérase.
- Recombinaison avec au moins 4 gènes différents de capsid.
- Nouvelle souche recombinante apparue en France (Août 2000) lors d'une épidémie d'origine hydrique. (anomalie du réseau de distribution d'eau)
- Suivie de plusieurs épidémies dans 3 pays européens liées à la consommation d'huîtres importées de France.
- 2001/2002 : incidence variable selon les pays (7 à 71%)

Conclusion

➤ Contrairement aux bactéries, les virus ne se multiplient pas dans les aliments. Ils ont plutôt tendance à diminuer avec le temps et les traitements.

Ainsi

➤ L'infection virale d'origine alimentaire dépend :

- Stabilité du virus
- Quantité de virus éliminée par la (les) personne(s) infectée(s)
- Procédés utilisés pour préparer les aliments ou traiter l'eau
- La dose infectieuse pour un virus donné
- La prédisposition de l'hôte

Conclusion

➤ Importance des épidémies d'origine alimentaires et/ou hydrique même si le mode de contamination principal est la transmission virale de personne à personne.

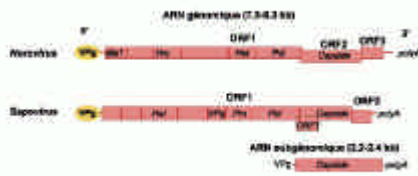
➤ Augmentations des épidémies à norovirus durant les 8 dernières années (environ 100%)

Les raisons? Meilleure détection? Nouvelles souches plus pathogènes?

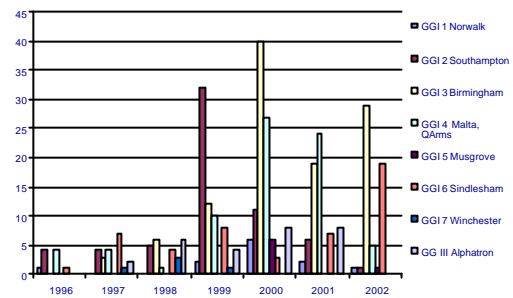
➤ Apparition de nouvelles souches, de nouveaux variants.

Les raisons? Rôle des épidémies hydriques? Caractères épidémiologiques de certaines souches?

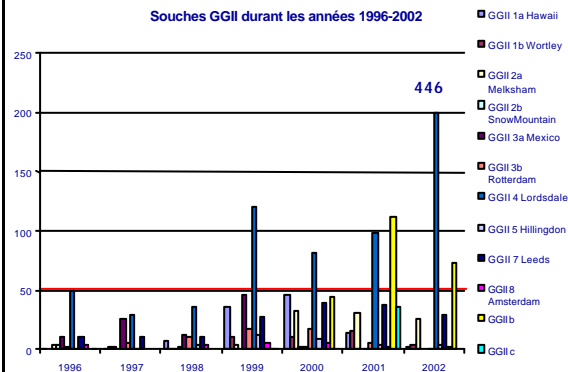
Organisation du génome des Calicivirus humains



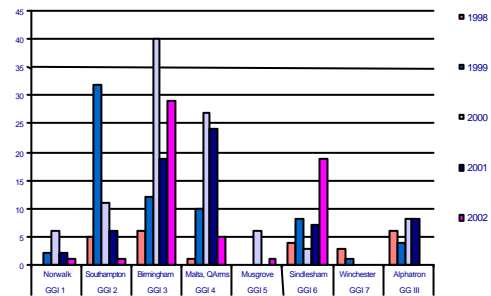
Souches GGI, GGII durant les années 1996-2002

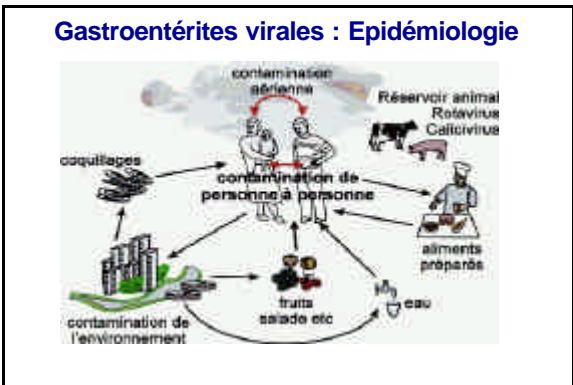
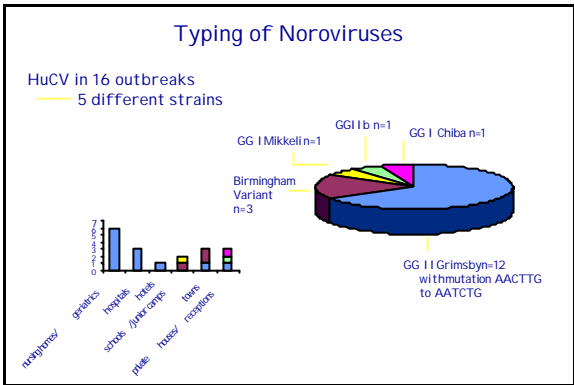
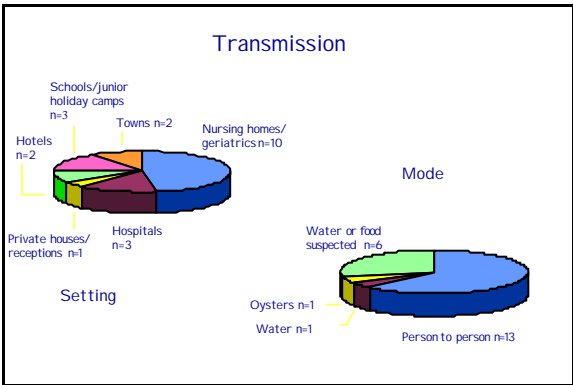
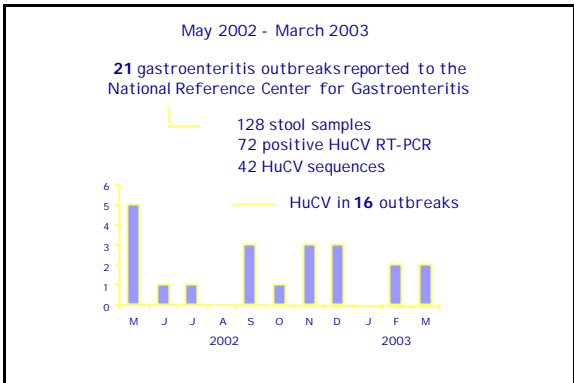
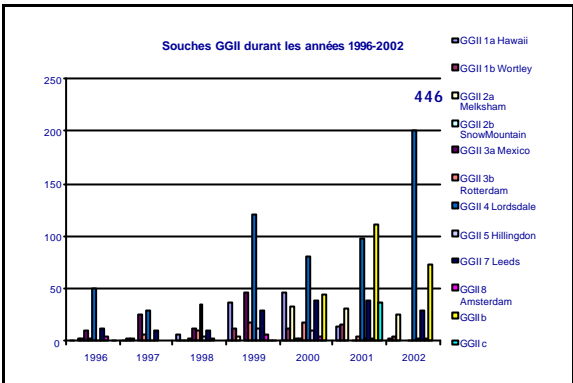


Souches GGII durant les années 1996-2002



GGI strains, GGII: prevalence over time





Diagnostic immunologique des calicivirus

- Anticorps monoclonaux à partir de protéine recombinante (particules ou protéines).
- Anticorps ayant une réactivité croisée avec les deux génogroupes.
- Meilleure réactivité avec les antigènes dénaturés
 - traitements alcalin des échantillons

Diagnostic moléculaire des calicivirus

- Diversité génétique des souches virales
- Choix de plusieurs couples d'amorces utilisés en mélange

Classification des NLVs (l'analyse de l'ORF2)

Génotypes définis par Vinje et al. (2000) 14	Clusters définis par Ando et al. (2000) 15
<p>Génogroupe I</p> <p>Norwalk Southampton Desert Shield Queens Arms Winchester Mugrove Sindlesham</p>	<p>Génogroupe I</p> <p>GI/1 (NV) Norwalk virus GI/2 (SOV) Southampton virus GI/3 (DSV) DesertShield virus GI/4 (CSV) Cruise ship virus GI/5 (378)</p>
<p>Génogroupe II</p> <p>Hawaii Snow Mountain Mexico Lordsdale Hillingdon Leeds Alphatron</p>	<p>Génogroupe II</p> <p>GI/1 (HV) Hawaii virus GI/2 (SMA) Snow Mountain virus GI/3 (TV) Toronto virus GI/4 (BV) Bristol virus, Lordsdale virus GI/5 (WR) White River virus GI/6 (269) GI/7 (GV) Gwynedd virus GI/8 (539) GI/9 (378) GI/10 (Yar94/UK)</p>

Diagnostic moléculaire des calicivirus

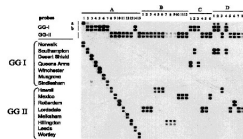
- Technique « *in situ* »
- Technique ARGENE
- RT-PCR en une seule étape
- Mélange de plusieurs couples d'amorces
- Excellente sensibilité

Typage moléculaire des Calicivirus

- Séquençage des produits de PCR
- Hybridation spécifique de type ou "reverse line blot hybridization" (différents degrés de spécificité)

gènes:

- Polymérase
- Capside



Amorces utilisées lors du séquençage des souches virales

Virus	Région amplifiée	Amorces 5'	Amorces 3'
Rotavirus	gène 9	Beg9	End9
Astrovirus	ORF2	Mon 245	Mon 244
Calicivirus	3D Polymérase	p 36	NVp 110
		SR 48/ 50/ 52	NI
NLV génogroupe I		JV13	JV12
NLV génogroupe II	capside	SRI-2	SRI-1
	capside	Mon381	Mon383