



UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BENABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de fin d'études

Licence Sciences & Techniques

Sciences Biologiques Appliquées et Santé

(LST-SBAS)

**Prévalence des infections à Rotavirus
Chez les enfants de moins de 5 ans au
Laboratoire d'Analyses Médicales Saiss-Fès**

Présenté par : BELCHKAR Salim

Encadré par :

- Pr. BOUCHAMMA El- Ouazna
- Dr. BOUCETTA Nabil

Soutenue le 08 Juin 2018

Devant le jury composé de :

- Pr. OUHMIDOU Bouchra (FST-Fès)
- Pr. BOUCHAMMA El- Ouazna (FST-Fès)
- Dr. BOUCETTA Nabil (Laboratoire Saiss)

Stage effectuée au : Laboratoire d'Analyses Médicales SAISS-Fès

Année universitaire : 2017-2018

Dédicace

À ma merveilleuse mère

Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour. A toi maman, je dédie ce travail que, sans ton soutien et ton amour n'aurait pu avoir le jour.

À mon cher père

Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et ta générosité extrême.

Je souhaite que ce travail t'apporte la joie de voir aboutir tes espoirs et j'espère avoir été digne de ta confiance.

A ma petite sœur

Ce travail est à toi, Je te souhaite du bonheur et du succès dans toute ta vie.

A mes grands parents

J'espère qu'à travers ce travail vous trouverez l'expression de mes sentiments les plus chaleureux.

Puisse dieu vous protéger et vous procurer santé.

A toute ma famille

Que ce travail soit le témoignage de mon affection et mon attachement, Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer mes remerciements aux enseignants de la formation, pour leurs énormes efforts, leurs encouragements et leurs glorieux sacrifices.

*Je tiens à présenter ma gratitude au **Dr. BOUCETTA Nabil**, mon encadrant de stage, et aussi au **Dr. AMMOR Asmae**, de m'avoir fait partager leurs connaissances et pour leurs disponibilité.*

*Je souhaite adresser également mes plus vifs remerciements au **Pr. BOUCHAMMA EL- Ouazna** pour sa disponibilité, ses avis éclairés, et ses conseils.*

*Je remercie également **Pr. OUHMI DOU Bouchra** d'avoir accepté de juger et évaluer ce modeste travail.*

*Mes remerciements vont aussi à tous les personnels de Laboratoire d'Analyses Médicale SAISS, et plus particulièrement à **Mlle. Amal AMEKLAN**, Technicien d'Unité de Microbiologie.*

*Je remercie **Imane**, pour votre soutien moral et votre aide pour accomplir ce travail. Je te souhaite du bonheur, de la santé et de la réussite.*

Enfin, que tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail, trouvent l'expression de mes remerciements les plus chaleureux.

Résumé

Le Rotavirus est le plus commun des agents pathogènes responsables de la gastro-entérite aigüe essentiellement chez les enfants de moins de 5 ans. Il est responsable de nombreux décès dans les pays en développement.

Notre étude, portée au Laboratoire Saiss d'Analyses Médicales, sur une population 196 enfants de moins de cinq ans, étalée sur une période de 3 ans allant du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2017, a montré que le Rotavirus est bel et bien présent à Fès. Il touche 33% des enfants atteint de gastro-entérite aigüe. 78% des enfants infectés par le RV sont de moins de 2 ans. Le sexe masculin est plus touché par les infections à RV avec 71%, contre 29% pour le sexe féminin.

Bien que nos résultats montrent la présence de l'infection à Rotavirus tout le long de l'année, les taux élevés sont enregistrés au cours de la saison sèche comparativement à la saison des pluies.

Mots-clés : Rotavirus, diarrhée aigüe, enfants, âge, sexe, saison.

Liste des abréviations

Ac	: Anticorps
Ag	: Antigène
ARN	: Acide ribo nucléique
ELISA	: Enzyme linked immuno sorbent assay
GEA	: Gastro-entérite aigue
ICG	: Immunochromatographie
ME	: Microscope électronique
NSP	: Non structural protein
PCR	: Polymerase chaine reaction
RT-PCR	: Rétro transcription PCR
RV	: Rotavirus
VP	: Virus protein

Liste des figures

Figure 1 : Particules de RV humains observées en ME.

Figure 2 : Icosaèdre (20 faces triangulaire, 30 arêtes, 12 sommets).

Figure 3 : Electrophorèse d'un RV.

Figure 4 : Localisation des différentes protéines de Rotavirus.

Figure 5 : Turgescence de la peau du bébé.

Figure 6 : Schéma montrant l'infection des entérocytes par le Rotavirus.

Figure 7 : Carte mondial de la prévalence de la maladie diarrhéique à Rotavirus.

Figure 8 : Test de diagnostic rapide (cassette) du Rotavirus et adénovirus avec le liquide d'extraction.

Figure 9 : Principe de la technique d'ICG.

Figure 10 : Extraction d'échantillon de selles.

Figure 11 : Représentation du test immunologique (Cassette).

Figure 12 : Interprétation des résultats du test immunologique.

Figure 13 : Proportion des positifs et des négatifs au Rotavirus.

Figure 14 : Proportion des positifs selon l'âge.

Figure 15 : Proportion des positives selon le sexe.

Figure 16 : Répartition des cas de gastro-entérites en fonction des mois et de l'agent pathogène durant les années 2015, 2016 et 2017.

Sommaire

Introduction générale.....	1
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
I. Caractère du virus	3
1. Morphologie.....	3
2. Structure	4
3. Caractères antigéniques.....	5
II. Physiopathologie	6
1. La gastro-entérite aigue.....	6
2. Mécanismes à l'origine de la diarrhée à Rotavirus.....	7
III. Epidémiologie	8
1. Agents pathogènes	8
2. Réservoirs.....	9
3. Mode de transmission	9
4. Aspect épidémiologique.....	9
5. Traitement et vaccin.....	10
IV. Types de diagnostique.....	11
1. Technique immunoenzymatique (ELISA).....	11
2. Technique d'agglutination sur latex.....	11
3. Microscopie électronique.....	12
4. Technique de RT-PCR	12
5. Technique d'immunochromatographie.....	12
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	13
I. Diagnostic des infections Rotaviral	14
1. Principe	14
2. Prélèvement et stockage.....	15
3. Procédure.....	15
4. Interprétation des résultats	16
II. Etude rétrospective de la prévalence des infections à Rotavirus Chez les enfants de moins de 5 ans.....	17

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	18
I. Résultats.....	19
1. Prévalence des infections à Rotavirus	19
2. Prévalence des infections à RV en fonction de l'âge	19
3. Prévalence des infections à RV en fonction du sexe	20
4. Prévalence des infections à RV en fonction de la saison	20
II. Discussion.....	22
Conclusion et Perspectives	23
Références Bibliographiques.....	24
Webographie.....	26
Annexe.....	27

Présentation de la structure d'accueil



Le Laboratoire d'Analyse Médicales Saiss a été ouvert en 2011, il se situe en face de la Faculté de Médecine Fès et Centre Hospitalier HASSANE II.

Le laboratoire contient :

- ✓ Réception
- ✓ Salle d'attente
- ✓ Deux salles de prélèvement sanguin
- ✓ Salle de prélèvement gynécologique
- ✓ Salle de prélèvement des spermés
- ✓ Salle technique de microbiologie
- ✓ Salle technique polyvalente (unité de biochimie et hématologie)
- ✓ Bureau de direction
- ✓ Salle de réunions
- ✓ Vestiaires
- ✓ Laverie

À propos du personnel qui travaille dans le laboratoire :

- ✓ Directeur du laboratoire : Docteur en biologie médicale
- ✓ Suppléante du directeur : Docteur en biologie médicale
- ✓ Deux préleveurs
- ✓ Responsable de qualité et responsable d'achats
- ✓ Techniciens
- ✓ Deux secrétaires et deux caissières
- ✓ Deux femmes de ménages

Introduction générale

Le Rotavirus est le plus commun des agents responsables des gastro-entérites aiguës, essentiellement chez les enfants de moins de 5 ans.

Il est responsable de nombreux décès dans les pays en développement et occasionne de nombreuses hospitalisations et infections nosocomiales dans les pays industrialisés.

Presque tous les enfants sont infectés par un RV au cours des cinq premières années de leur vie. Cette infection peut rester asymptomatique ou entraîner une gastro-entérite, dont les RV sont la principale cause. L'infection est souvent asymptomatique chez l'adulte.

Les symptômes des gastro-entérites à RV vont de la simple diarrhée aqueuse à la diarrhée sévère avec vomissement conduisant à la déshydratation.

Les infections à RV surviennent principalement durant les mois d'hiver, mais il existe également des cas sporadiques tout au long de l'année. La transmission d'un sujet à un autre est essentiellement par voie oro-fécale. En milieu hospitalier, les RV sont la cause des infections nosocomiales.

L'objectif de ce projet de fin d'étude est d'évaluer la prévalence des infections à Rotavirus responsables des gastro-entérites chez les enfants de moins de 5 ans via une étude rétrospective au sein du Laboratoire d'Analyse Médical Saïss Fès.

Ce travail se divise en trois parties. Nous présenterons dans un premier temps une revue bibliographique concernant le Rotavirus, l'agent responsable de gastro-entérites infantiles. Dans un deuxième temps le matériel et méthodes, ensuite, les résultats de cette étude suivis d'une discussion et enfin une conclusion et des perspectives.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Caractère du virus :

1. Morphologie :

Le Rotavirus fut isolé pour la première fois en 1973 chez l'homme par Ruth Bishop et son équipe du département de Gastro-entérologie du Royal Children's Hospital de Melbourne (Australie) (Bishop *et al.*, 1973). Il fut observé au microscope électronique dans la muqueuse duodénale d'enfants admis pour une diarrhée non bactérienne.

Le Rotavirus appartient à la famille des Reoviridae, il apparaît au microscope électronique avec une coloration négative comme une petite roue (rota en latin) ou balle de golf (fig. 1).

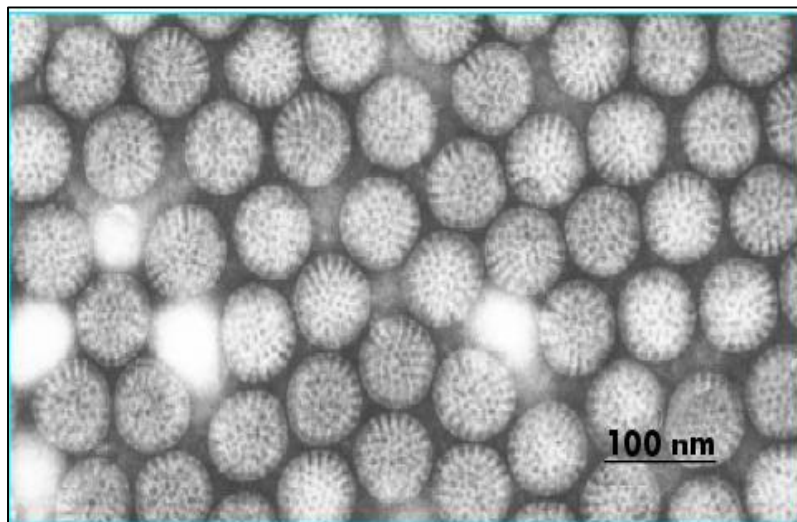


Figure 1 : Particules de RV humains observées en ME

Ce virus n'est pas enveloppé et sa taille est d'environ 70 nm. Il est de symétrie icosaédrique (fig. 2), c'est-à-dire sous la forme d'un polyèdre régulier constitué de 20 faces triangulaires, 30 arêtes et 12 sommets (Huraux *et al.*, 1985).

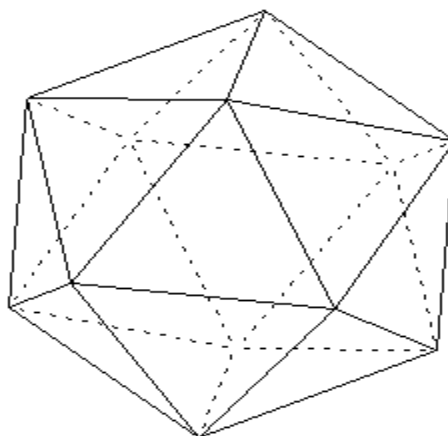


Figure 2 : Icosaèdre (20 faces triangulaire, 30 arêtes, 12 sommets)

2. Structure :

Le RV est constituée d'un génome entouré d'une capsid qui comprend trois couches de protéines.

Le génome ARN double brin est constitué de 11 segments qui comportent chacun un gène codant pour une protéine virale, à l'exception du segment 11 qui contient deux phases ouvertes de lecture codant pour deux protéines (Fig. 3).

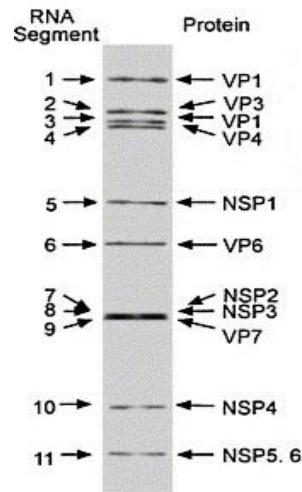


Figure 3 : Electrophorèse d'un RV. Chaque segment (milieu) correspond à un gène et prend le numéro de son ordre de migration dans le gel de polyacrylamide

Les protéines virales comprennent six protéines de structure (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 et VP7) et six protéines non structurales (NSP1 à NSP6).

Les protéines de structure du RV sont au nombre de six :

- Les protéines VP1, VP2 et VP3 constituent le core qui entoure le génome viral. Elles ont chacune un rôle dans la transcription de l'ARN et la réplication du virus.
- VP6 constitue la couche intermédiaire.
- Les protéines VP4 et VP7 forment la couche externe de la capsid (fig. 4).

Les protéines non structurales sont impliquées à des degrés divers dans la réplication, mais leur rôle précis et leurs activités enzymatiques ne sont encore que partiellement reconnues (Estes , 2001).

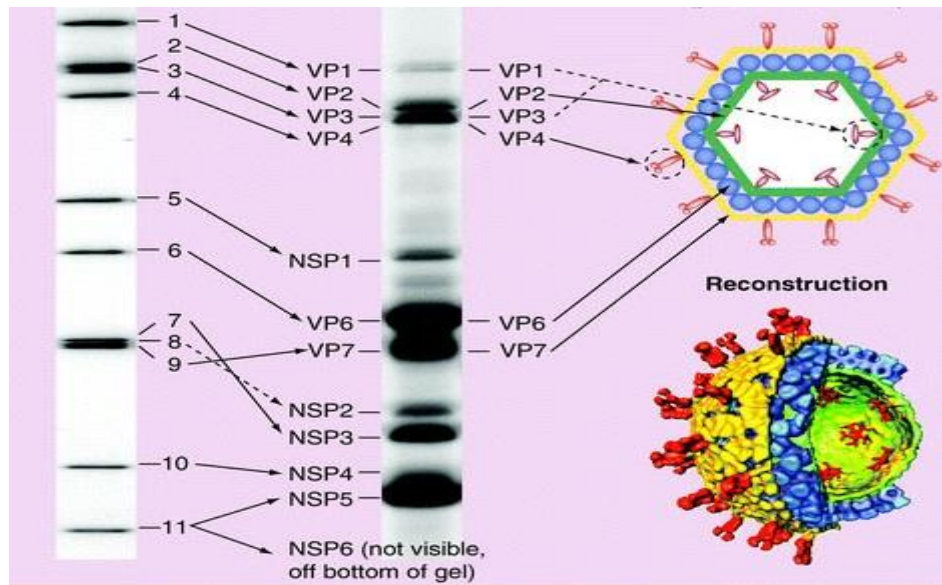


Figure 4 : Localisation des différentes protéines de Rotavirus

3. Caractère antigénique :

Les protéines de structure qui possèdent des propriétés antigéniques sont (VP4, VP6, VP7), elles jouent un rôle important dans la réponse immunitaire de l'hôte et dans le développement des vaccins (Tab. 1).

Tableau 1 : Caractéristiques et rôles des protéines de la capsid de RV

Protéine	Gène	Poids moléculaire (kDa)	Constituant de la capsid	Rôle antigénique
VP4	4	88	Couche externe	Spécificité du groupe P
VP6	6	41	Couche intermédiaire	Spécificité du groupe
VP7	9	38	Couche externe	Spécificité du groupe G

La protéine VP6 (41 kDa) : c'est la protéine la plus abondante et la plus immunogène du virus (Kapikian *et al.*, 2001). VP6 porte les déterminants antigéniques qui permettent de classer les RV en sept groupes antigéniques distincts (groupes A à G).

Les protéines de la capsid externe VP4 et VP7 portent des déterminants antigéniques de type.

La glycoprotéine VP7 (38 kDa): représente la protéine la plus abondante du virus après VP6 et le constituant principal de la capside externe. VP7 possède six domaines variables qui sont à la base de la spécificité antigénique de type G (pour glycoprotéine).

Les techniques immunologiques ont permis d'identifier 14 sérotypes G (G1 à G14) parmi les RV du groupe A.

La protéine VP4 (88 kDa): c'est la protéine qui forme des spicules à la surface du virus lui donnant cet aspect de roue. Bien que VP4 ne représente qu'un constituant mineur de la capside externe, elle possède plusieurs propriétés fondamentales. C'est la protéine d'attachement du virus au récepteur cellulaire (Ruggeri *et al.*, 1991).

La protéine VP4 porte les déterminants antigéniques de type P (sensible aux protéases). L'analyse du gène 4 codant VP4 (génotype P) a abouti à une classification différente des sérotypes en distinguant 20 génotypes de type P.

II. Physiopathologie :

1. La gastro-entérite aiguë :

a. Définition :

C'est une inflammation intestinale faisant suite à une infection touchant les muqueuses présentes dans l'estomac et l'intestin.

Cette pathologie est due dans la très grande majorité des cas à un virus ou, plus rarement, à des bactéries. Le terme "gastro-entérite aiguë" est utilisé habituellement pour désigner l'atteinte virale.

Très contagieuse, la gastro-entérite virale peut déclencher de véritables épidémies, surtout l'hiver, entre novembre et mars. La gastro-entérite aiguë affecte fréquemment les enfants de moins de 5 ans.

b. Symptômes :

Lorsque l'enfant est atteint d'une GEA, il souffre de diarrhée, des nausées, des vomissements, de manque d'appétit et peut être de la fièvre. Les enfants infectés par le RV sont plus susceptibles de présenter des signes de déshydratation due à la diarrhée et au vomissement.

La déshydratation est détectée lorsqu'on observe une turgescence de la peau du bébé (fig. 5).

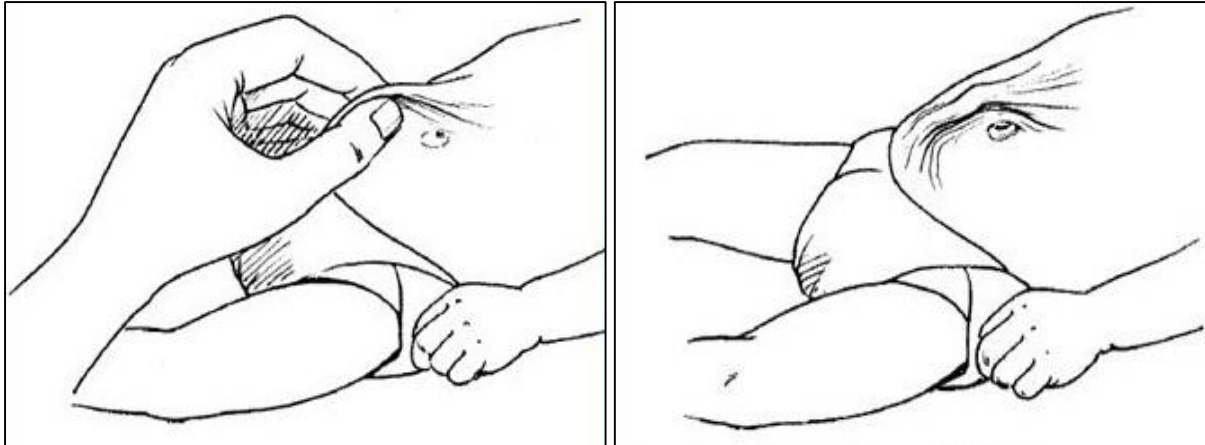


Figure 5 : Pincer la peau de l'enfant pour tester la turgescence de la peau. La lente rétraction de la peau confirme la présence d'une déshydratation

2. Mécanismes à l'origine de la diarrhée à Rotavirus :

L'infection à RV a été très étudiée in vivo après l'infection naturelle ou expérimentale de jeunes animaux (souriceaux, lapereaux, rats, porcelets, veaux, agneaux) et sur différents types cellulaires en culture. Cependant, malgré des travaux considérables, les mécanismes à l'origine de la diarrhée restent encore imparfaitement connus (Lundgren *et al.* , 2001).

Les mécanismes impliqués dans la diarrhée associent une malabsorption des nutriments et une hypersécrétion des électrolytes.

Le RV a un tropisme spécifique pour les entérocytes matures du sommet des villosités de l'intestin grêle. La fixation du virus puis son entrée dans la cellule est un processus complexe en plusieurs étapes impliquant plusieurs récepteurs cellulaires actuellement non identifiés (Ruiz *et al.* , 2000)(Lopez *et al.* , 2006).

L'internalisation dans le cytoplasme s'effectue ensuite par un phénomène d'endocytose dépendant du calcium (Martin *et al.* , 2002). Des protéines et particules virales sont synthétisées lors du cycle répliatif.

À la fin du cycle viral, la lyse des entérocytes permet la libération dans la lumière intestinale des particules et des protéines virales nouvellement synthétisées. Au pic de l'infection, on dénombre plus de 10^{11} particules virales par ml de selles. Les particules virales peuvent ensuite infecter les cellules adjacentes (fig. 6).

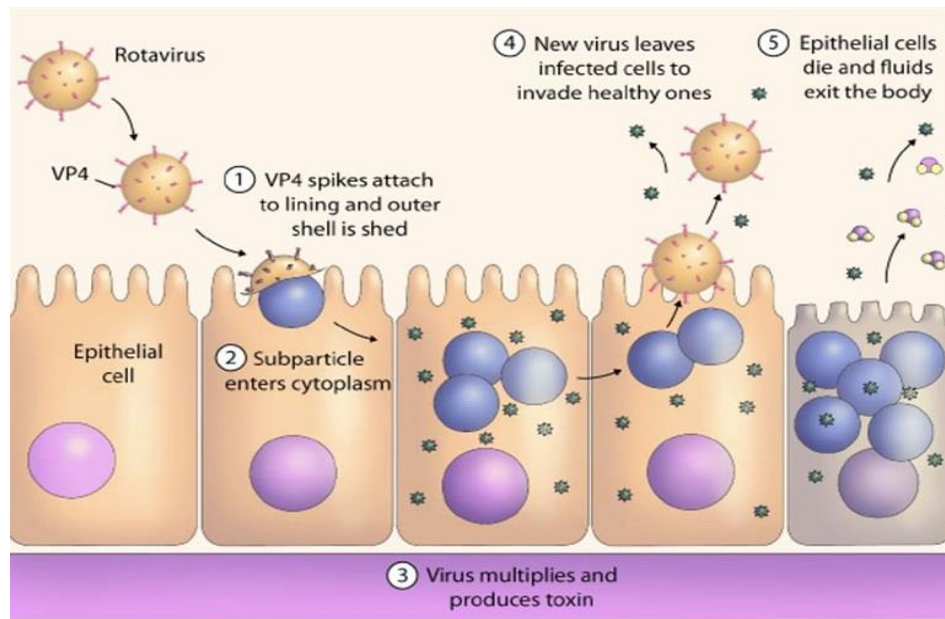


Figure 6 : Schéma montrant l'infection des entérocytes par le Rotavirus.

L'infection des entérocytes matures du sommet ou du milieu des villosités de l'intestin grêle conduit à la mort cellulaire, au raccourcissement des microvillosités et à la réduction de la surface d'absorption de l'épithélium intestinal.

L'infection à Rotavirus diminue l'activité de plusieurs enzymes entérocytaires, et la diminution d'activité de ces enzymes conduit principalement à la mal digestion des sucres. Leur accumulation dans la lumière intestinale augmenterait l'osmolarité du contenu intestinal et entraînerait la diarrhée osmotique.

III. Epidémiologie :

1. Agents pathogènes :

Trois groupes de RV sont identifiés à ce jour comme pouvant infecter l'homme.

Le groupe A est le principal agent responsable des GEA chez l'enfant, et les quatre sérotypes G1, G2, G3 et G4 sont les plus fréquents.

Le groupe B est connu comme étant à l'origine d'épidémies chez les adultes et les enfants en Chine. Une étude réalisée suggère que l'exposition au RV B est fréquente, bien que ces virus n'aient jamais été isolés hors de Chine (Fang *et al.* , 1989) (Sen *et al.* , 2001).

Le groupe C, beaucoup moins fréquent, responsable de GEA sporadiques un peu partout dans le monde, mais peut aussi être à l'origine d'épidémies (Chan *et al.* , 1998)(Penarranda *et al.* ,1989).

2. Réservoirs :

L'Homme est le principal réservoir des RV humains. Néanmoins, des cas d'infection par des RV du groupe A chez des animaux ont été observés ce qui incite à les considérer comme des réservoirs potentiels.

L'homme et l'animal sont les réservoirs connus des RV. Bien qu'il n'y a pas de barrière d'espèce, un RV animal pouvant infecter l'homme.

3. Mode de transmission :

Le RV est un virus hautement contagieux et très résistant dans l'environnement, que des mesures d'hygiène simple, ne suffisent ni à prévenir ni à faire disparaître.

Le Rotavirus résiste au lavage avec la plupart des savons et désinfectants. Sur les surfaces inertes, l'alcool à 95 % reste la solution la plus efficace, mais son impact est limité car il est peu utilisé dans la pratique courante.

Le mode de transmission du RV est principalement la voie oro-fécale. Les nourrissons sont particulièrement exposés.

Les enfants de plus de trois ans mis en contact avec le virus peuvent également devenir des porteurs sains et diffuser la maladie. L'ensemble de l'entourage familial ou communautaire (personnel de crèche, école, cantine...) est exposé, risquant à son tour de transmettre à d'autres enfants. La transmission se fait ainsi par les contacts rapprochés et fréquents de l'entourage (les mains) et des enfants (couches, jouets) (Thuret , 2004).

4. Aspect épidémiologique :

Le RV est le principal responsable GEA chez l'enfant de moins de 5 ans, et surtout les enfants de moins de 2 ans. Il affecte les deux sexes également.

L'infection par le RV A chez l'adulte est plus rare et survient dans des conditions particulières, lors d'épidémies liées à la contamination de l'eau, au contact d'enfants malades ou chez les personnes immunodéprimées. On estimait en 2003, que chaque année, le Rotavirus est à l'origine de 111 millions d'épisodes infectieux diarrhéiques dans le monde, 25 millions de visites à l'hôpital, 2 millions d'hospitalisations et entre 300 000 et 500 000 morts par an chez les enfants de moins de 5 ans (Parashar et al. , 2003) (Fig.7).

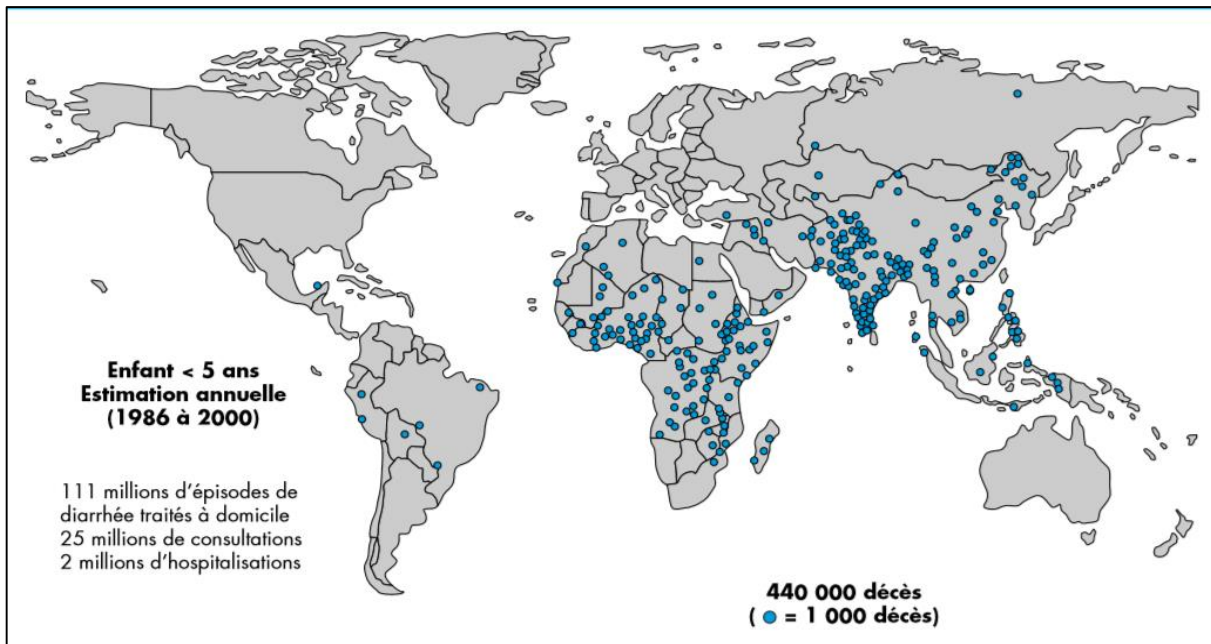


Figure 7 : Carte mondiale de la prévalence de la maladie diarrhéique à Rotavirus.

De Juin 2006 à mai 2007, une étude de surveillance sur 345 enfants de moins de 5ans avec GEA admis à quatre grands hôpitaux dans différentes régions du Maroc, montre que 314 enfants avaient des données complètes et, parmi eux, 44% (138) étaient positifs pour le Rotavirus.

L'infection à Rotavirus était plus fréquente chez les enfants de moins de 24 mois (95% de toutes les hospitalisations à Rotavirus). L'infection à Rotavirus a été détectée dans les quatre sites et toute l'année, mais a été la plus répandue de Septembre à Janvier (Benhafid *et al.*, 2009).

5. Traitement et vaccin:

a. Traitement :

Il n'existe pas un traitement antiviral spécifique curatif de la gastroentérite à RV. La seule réponse à une forme aiguë de gastroentérite à RV est de réhydrater l'enfant et réalimenter rapidement (Martinot, 2007).

La réhydratation orale restaure et maintient la balance hydro électrolytique. La réalimentation précoce facilite la guérison des lésions de la muqueuse intestinale et le retour à la normale de l'état nutritionnel (Cézard *et al.*, 2002).

b. Vaccin :

L'infection naturelle ne protège pas contre la réinfection, mais protège le nourrisson contre la maladie sévère lors des réinfections (Valazquez *et al.*, 1996).

Le but de vaccination est donc de prévenir la survenue de gastroentérites aiguës sévères dues au RV chez le nourrisson de moins de deux ans. Cette vaccination doit être efficace non seulement contre les trois sérotypes les plus fréquents du RV dans le monde (G1, G2 et G4) mais aussi contre les souches dont le sérotype est plus rare mais qui prédomine localement ou qui tend à émerger depuis peu (G6 et G9).

De nombreux vaccins sont en cours de développement (Ce sont tous des vaccins vivants atténués), administrés par voie orale. Un premier vaccin «Rothschild* » a été commercialisé quelques mois en 1999 aux Etats-Unis avant d'être retiré du marché en raison de son association avec des cas d'invaginations intestinales aiguës.

En 2006, deux nouveaux vaccins (Rotateq et Rotarix) ont été commercialisés pour l'immunisation active contre le RV (Ruiz-Palacios *et al.* , 2006).

IV. Types de diagnostique :

Le diagnostique est facilité par la grande abondance de l'excrétion virale dans les selles à la phase aiguë de la maladie. Le diagnostic biologique repose sur la détection rapide d'antigènes de RV à l'aide d'anticorps spécifiques. Ces anticorps sont dirigés contre la protéine VP6 des RV du groupe A et seules les souches appartenant à ce groupe antigénique sont détectées (Caidi , 2006).

1. Technique immunoenzymatique (ELISA) :

Le test immunoenzymatique (ELISA) sur microplaque permettant la détection des RV de groupe A en 90 minutes environ. Le test se réalise à partir d'une dilution de selles à 10 % dans le tampon prévu à cet effet.

L'interprétation des résultats se fait par le calcul de la différence des densités optiques (DO) entre l'échantillon testé et le témoin négatif et permettant d'établir un seuil de positivité (Rougemont *et al.* , 2009).

La technique ELISA n'est pas adaptée aux analyses unitaires et aux urgences, car il y a des méthodes plus rapides et plus sensibles et spécifiques, et elles requièrent un équipement spécialisé ainsi que du personnel qualifié.

2. Technique d'agglutination sur latex

Ces tests utilisent des anticorps anti-RV fixés sur des particules de latex. Leur principal avantage réside dans la simplicité et la rapidité. Les inconvénients de ces tests sont : une

sensibilité (85 à 90 %) inférieure à celle des tests immunoenzymatiques, une subjectivité de la lecture, et une possibilité d'un résultat indéterminé, obligeant à pratiquer une autre technique pour pouvoir conclure (Caidi , 2006).

3. La microscopie électronique (ME) :

Cette technique est utilisée dans les laboratoires spécialisés qui disposent cet équipement et qui nécessite un observateur entraîné. L'avantage de la microscopie électronique est de pouvoir détecter les RV n'appartenant pas au groupe A, et éventuellement d'autres virus responsables de gastro-entérite (adénovirus, astrovirus, calicivirus...).

4. Technique de RT-PCR :

Cette technique est utilisée pour La détection des virus entériques humains dans les échantillons de l'environnement.

La technique consiste à amplifier les gènes des protéines VP6, VP7, VP4, afin de déterminer le génotype G et le génotype P du RV infectieux et d'établir la distinction entre les souches de RV du vaccin.

5. Technique d'immunochromatographie (ICG) :

La technique d'ICG est un test de détection rapide et simultanée de RV dans les échantillons de selles.

La techniques d'ICG est la plus utilisé dans les laboratoires d'analyses médicales, elle possède un double intérêt: une sensibilité très élevée et supérieure aux autres techniques, et également une parfaite praticabilité du fait de sa facilité et de sa rapidité de mise en œuvre (en général moins de 15 minutes). Elle est peu couteuse en termes d'équipement ou de personnel, ce qui permet son utilisation en situation d'urgence.

PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

I. Diagnostic des infections Rotaviral :

Le diagnostic de Laboratoire des infections Rotaviral est principalement réalisé par l'intermédiaire de la technique d'Immunochromatographie vu sa rapidité et son efficacité de détecter le Rotavirus.

C'est une méthode qualitative qui consiste à détecter la présence ou l'absence du virus dans des échantillons de selles en utilisant un test immunologique commercial (Cassette). Ce test de diagnostic rapide permet la mise en évidence des antigènes viraux responsables de gastro-entérites à savoir le Rotavirus et l'adénovirus (fig. 8).



Figure 8 : Test de diagnostic rapide (cassette) du Rotavirus et adénovirus avec le liquide d'extraction

1. Principe :

La technique d'ICG est basée sur des réactions antigène/anticorps. Des Ac monoclonaux anti-RV sont dirigés contre la protéine VP6, la protéine virale la plus immunogène. Ce complexe migre par capillarité sur une membrane nitrocellulosique et lorsqu'il rencontre l'anticorps polyclonal (anti- RV), il se forme une bande rouge. La migration continue Jusqu'à la formation de la deuxième bande rouge en présence de l'IgG de souris (fig. 9).

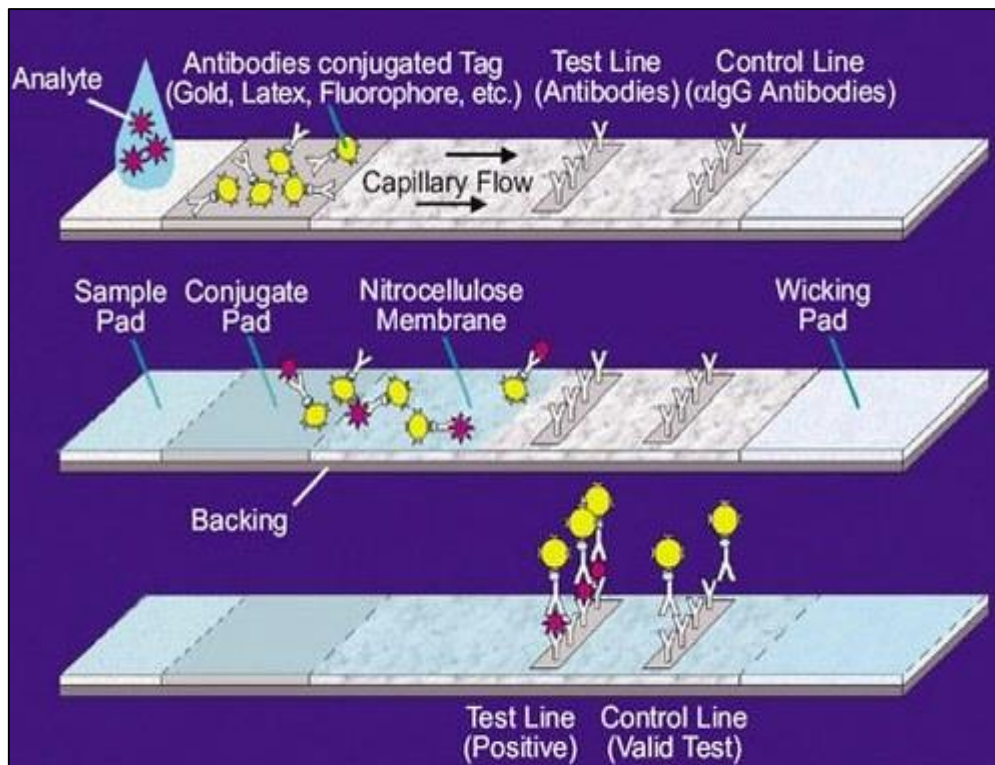


Figure 9 : Principe de la technique d'ICG

2. Prélèvement et stockage :

Le prélèvement consiste à recueillir 2 à 3 g (ou 2 à 3 ml) de selles dans un flacon stérile et bien fermé.

Les échantillons prélevés sont directement conservés à une température de 2 à 8 °C pendant 72h. Pour un stockage prolongé l'échantillon doit être conservé à -20 C.

Généralement, le test directement après le prélèvement pour avoir de meilleurs résultats

La détection du RV est plus efficace lorsque l'échantillon est collecté lors de l'apparition des symptômes, entre 3 à 5 jours après l'infection.

3. Procédure :

Avant de commencer le test, la cassette et l'échantillon à analyser sont exposés à la température ambiante du laboratoire.

a. Extraction des échantillons :

Nous prélevons à des endroits différents (3 endroits selon l'aspect des selles) de l'échantillon de selle une quantité d'environ 50 mg, qui sera mélangée avec la solution d'extraction. Puis, nous procédons à une agitation du mélange obtenu (fig. 10).

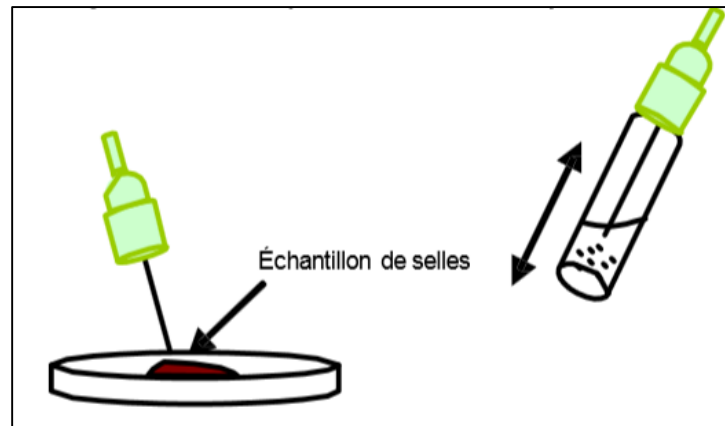


Figure 10 : Extraction d'échantillon de selles

b. Déroulement du test :

2 à 3 gouttes (environ 80 μ l) de l'échantillon extrait sont posées dans le puits échantillon (S) de la cassette (Fig. 11). Le dispositif est maintenu à température ambiante pour le développement de la réaction. La lecture des résultats du test est effectuée après 10 minutes.

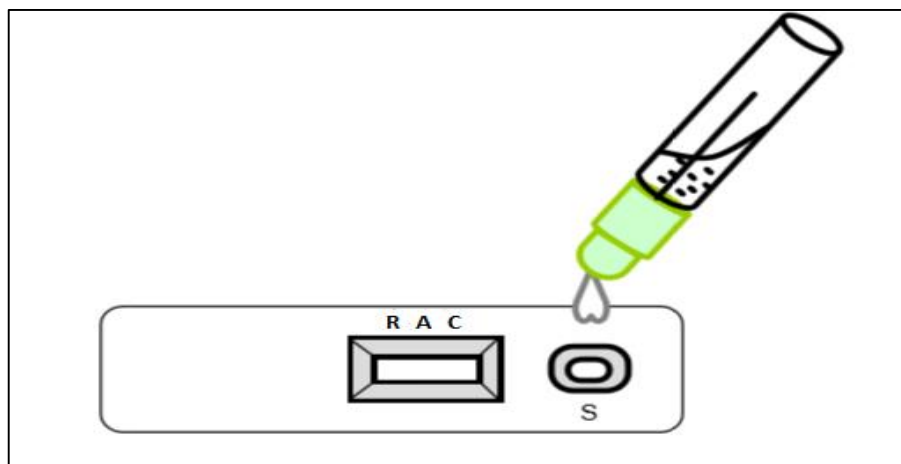


Figure 11 : Représentation du test immunologique (Cassette)

4. Interprétation des résultats :

L'interprétation des résultats est visuelle, basée sur l'apparition ou non de bande rouge au niveau des lignes C et R (fig. 12).

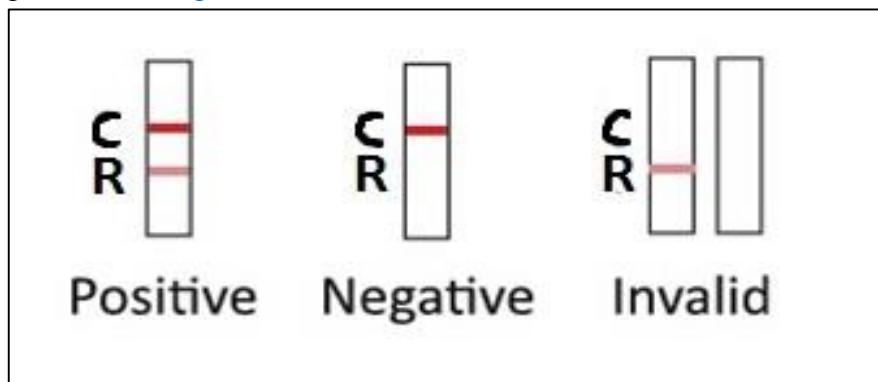


Figure 12 : Interprétation des résultats du test immunologique

Résultat positif : une bande de couleur rouge apparaît au niveau de la ligne de contrôle C, et une deuxième au niveau de la ligne R.

Résultat négatif : seul la bande de contrôle C qui apparaît.

Résultat invalide : la bande rouge de la ligne C n'apparaît pas. Le test est rejeté.

L'intensité de la coloration de la bande est en fonction de la quantité d'antigène présent dans l'échantillon. Tout signal faible sur une ligne de test est considéré comme un résultat positif. Et si le test est invalide il faut répéter l'opération de nouveau.

II. Etude rétrospective de la prévalence des infections à Rotavirus Chez les enfants de moins de 5 ans :

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au Laboratoire Saiss d'Analyses Médicales sur 196 enfants de moins de cinq ans atteints de gastro-entérite aigue. Cette étude s'étale sur une période de trois ans, allant du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2017. Les paramètres étudiés (âge, sexe, saison) des enfants diagnostiqués positifs au Rotavirus ont été comparés à ceux des enfants dont le test au Rotavirus était négatif.

Les informations ont été recueillies cas par cas en consultant le registre des résultats de laboratoire.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats :

1. Prévalence des infections à Rotavirus :

Les résultats obtenus de l'étude rétrospective ont montré que sur un total de 196 enfants de moins de 5 ans atteints de gastro-entérite aiguë, 65 sont infectés par le Rotavirus, soit une prévalence de 33 % (fig. 13).

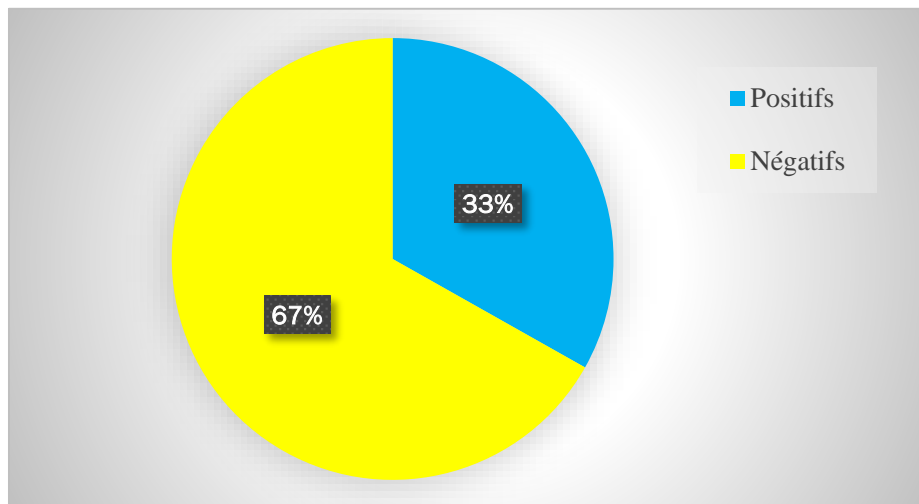


Figure 13 : Proportion des positifs et des négatifs au Rotavirus

2. Prévalence des infections à RV en fonction de l'âge :

Les résultats de notre étude montrent que ce sont les enfants de moins de 2ans qui sont les plus infectés par le RV. Sur 65 enfants positifs au RV, 51 sont moins de 2ans, ce qui donne une proportion de 78% (fig. 14).

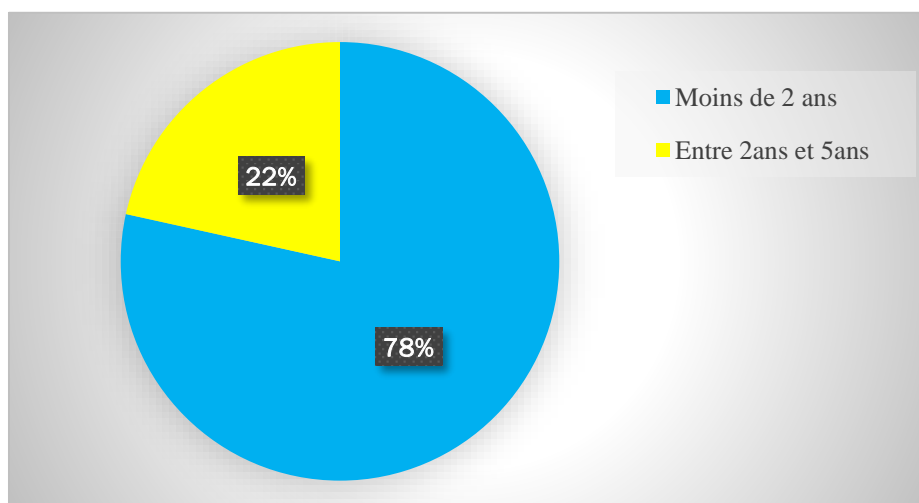


Figure 14 : Proportion des positifs selon l'âge

3. Prévalence des infections à RV en fonction du sexe :

Parmi les 65 enfants positifs au RV, 46 sont des garçons et 19 sont des filles. La comparaison entre ces résultats met en évidence la prédominance du sexe masculin avec 71%, contre 29% pour le sexe féminin (Fig. 15).

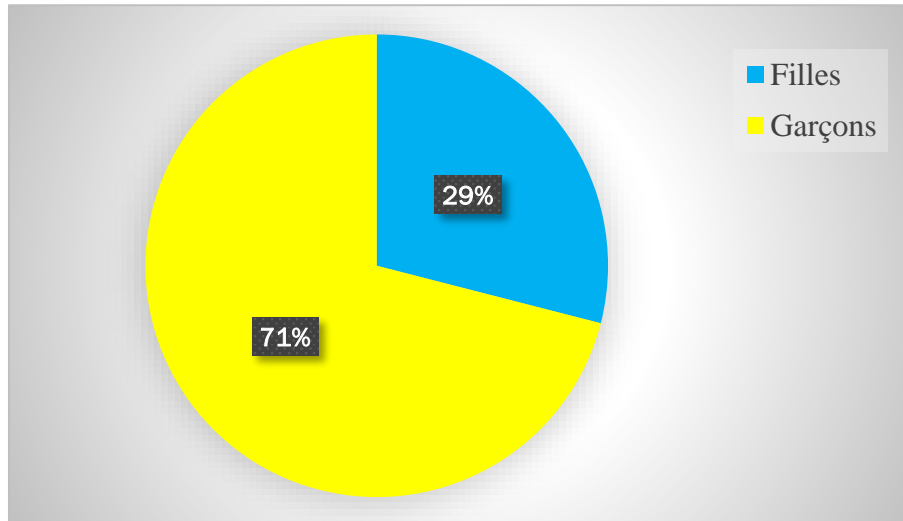


Figure 15 : Proportion des positives selon le sexe

4. Prévalence des infections à RV en fonction de la saison :

La répartition des cas de gastro-entérites selon les mois durant les trois années étudiées 2015, 2016 et 2017 (fig. 16) a montré que :

La majorité des cas de diarrhées aiguës enregistrés au cours de l'année 2015, sont dues à autres germes pathogènes. L'infection à Rotavirus représente entre 20% et 36% des cas enregistrés.

Pendant l'année 2016, des infections à Rotavirus sont survenue pendant la saison estivale automnale avec un pic de 100% observé en Novembre.

En 2017, la présence de la gastro-entérite à Rotavirus s'est produite tout au long de l'année, avec plus de cas survenant en saison sèche.

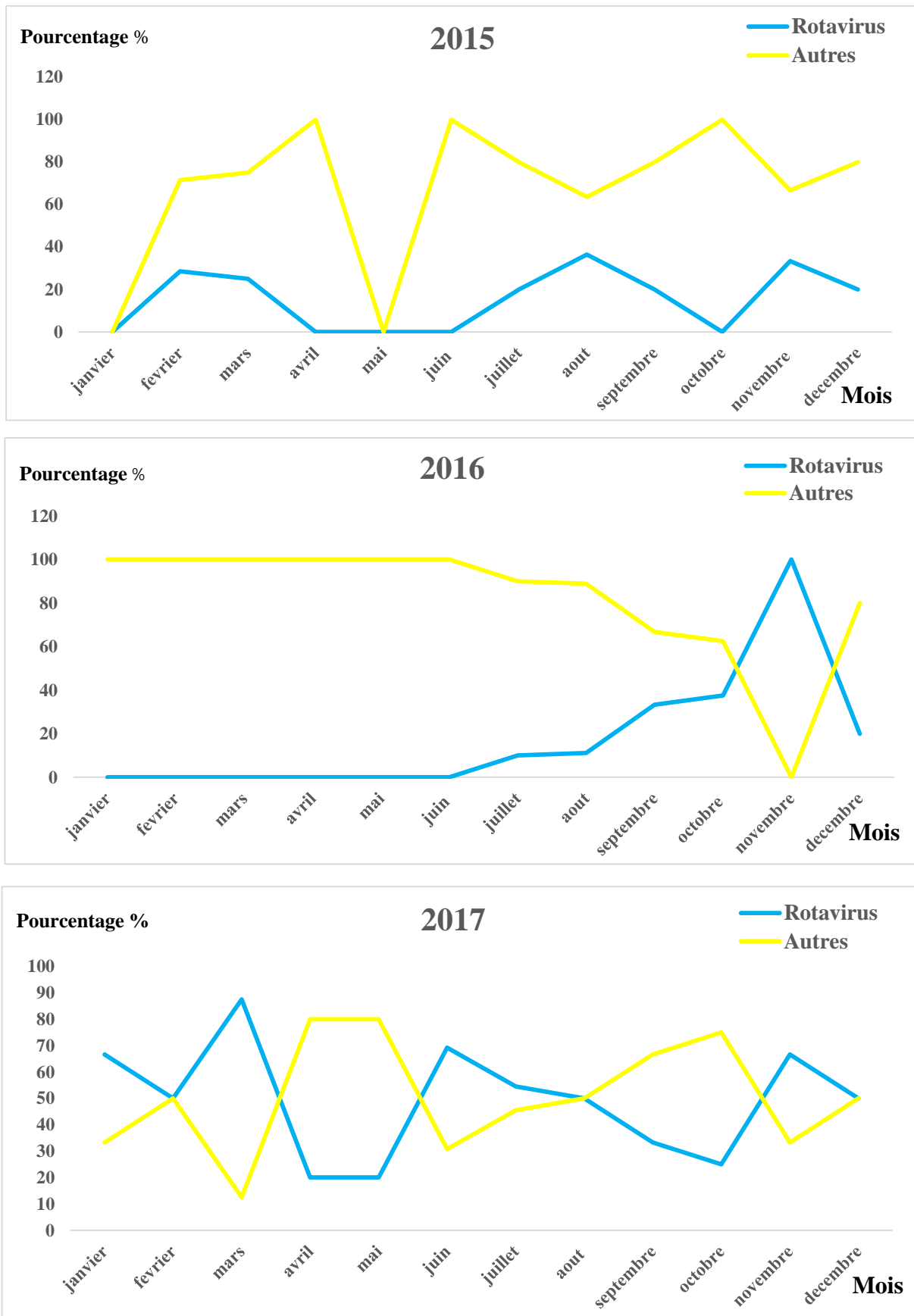


Figure 16 : Répartition des cas de gastro-entérites en fonction des mois et de l'agent pathogène durant les années 2015, 2016 et 2017

II. Discussion :

Au cours de la période étudiée, nous avons enregistré 196 enfants de moins de 5 ans atteints de gastro-entérite aigüe, dont 65 positifs au RV, soit une prévalence de 33 %.

Cette prévalence est proche de celle trouvée (44%) dans une étude effectuée dans quatre hôpitaux de différentes régions du Maroc (Benhafid *et al.* , 2009).

De nombreuses études ont montré le rôle important des RV comme une cause de diarrhée chez les enfants dans les pays développés comme dans les pays en développement. Le RV était à l'origine de 50,89% des cas de diarrhée aigüe enregistrés dans des hôpitaux français (Moulin *et al.* , 2002) et de 44 à 53% des cas en Asie (Bresee *et al.* , 2004).

Notre étude a montré que 78% des positifs sont des enfants de moins de 2 ans contre 22% des enfants de 2 à 5 ans. Ceci pourrait être expliqué par le développement de l'immunité naturelle chez les enfants de plus de 2 ans. Or, au cours de notre étude nous avons remarqué la présence des patients adultes âgés de 20 ans et de 60 ans atteints de la gastro-entérite à RV. Ce qui montre que ce virus pourrait infecter même les adultes en cas d'une déficience immunitaire.

Nos résultats ont montré une prédominance du sexe masculin avec 71%, contre 29% pour le sexe féminin. Contrairement à ce qui a été trouvé dans certains pays d'Afrique où une prépondérance de l'infection à RV a été observée chez les enfants de sexe féminin.

Bien que nos résultats montrent la présence de l'infection à RV tout le long de l'année, les taux élevés sont enregistrés au cours de la saison sèche comparativement à la saison hivernale.

Conclusion et Perspectives

Les gastro-entérites infantiles dont la principale manifestation est la diarrhée pose un problème de santé publique et constitue une préoccupation quotidienne et alarmante dans les pays en développement. Le RV est le plus commun des agents pathogènes responsables de la gastro-entérite aigue chez les enfants de moins de 5 ans. Il est responsable de nombreux décès.

Cette étude que nous avons réalisée au Laboratoire Saiss d'Analyses Médicales, sur une population 196 enfants de moins de 5 ans, étalée sur une période de 3 ans allant du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2017, montre que le RV est bel et bien présent à Fès. Il touche 33% des enfants dont la majorité est de moins de 2 ans, avec une prédominance du sexe masculin qui apparait être plus touché par les infections à RV.

L'étude de la répartition des cas de gastro-entérites en fonction des mois a montré que les infections à RV pourraient être présentes tout au long de l'année avec une fréquence plus élevée pendant la saison sèche.

Les résultats obtenus de cette étude nous permettent d'envisager les perspectives suivantes:

- ✓ Elargir une telle étude dans des centres hospitaliers de la ville de Fès pour avoir de meilleures données sur la prévalence des infections à RV.
- ✓ Comparaison entre les signes cliniques qui accompagnent la diarrhée par le RV et d'autres agents pathogènes.
- ✓ Etudier le rôle des facteurs d'environnement dans les infections à RV à savoir l'alimentation, l'hygiène et les facteurs socioéconomiques. Cette étude est utile car elle peut mener à une prévention des infections à RV chez les sujets prédisposés.

Références Bibliographiques

- Benhafid M., Youbi M., Klena JD., Gentsch JR., Teleb N., Widdowson MA., El Aouad R., 2009. Epidemiology of Rotavirus gastroenteritis among children under five years in Morocco during one year of sentinel hospital surveillance, June 2006 to May 2007. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique* ; 57 : 3-59
- Bishop RF., Davidson GP., Holmes IH., Ruck BJ., 1973. Letter: Evidence for viral gastroenteritis. *N Engl J Med*; 289(20): 1096-1097.
- Bishop RF., Davidson GP., Holmes IH., Ruck BJ., 1973. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute nonbacterial gastroenteritis. *Lancet*; 2(7841):1281-1283.
- Bresee J., Fang ZY., Wang B., Nelson EA., Tam J., Soenarto Y., 2004. First report from the Asian rotavirus surveillance network. *Emerg Infect Dis*; 10(6):9 88-95.
- Caidi Hayat., 2006. Rotavirus Méthodes diagnostics. Atelier de formation sur la surveillance des Gastroentérites à Rotavirus au Maroc du 15 au 17 Mai 2006 INH Rabat.
- Cézard JP., Chouraqui JP., Girardet JP., Gottrand F., 2002. Groupe francophone d'hépatologie, gastroentérologie et nutrition pédiatriques. Traitement médicamenteux des diarrhées aiguës infectieuses du nourrisson et de l'enfant. *Arch Pediatr*; 9:620-8
- Chan PK., Tam JS., Nelson EA., Fung KS., Adeyemi-Doro FA., Fok TF., 1998. Rotavirus infection in Hong Kong: epidemiology and estimates of disease burden. *Ep idemiol Infect*; 120: 321 -325
- Estes M. Rotaviruses and their replication. In: Knipe DM., Howley PM., Griffin DE., Lamb RA., Martin MA., Roizman B., Editors, 2001. *Fields virology*. 4th ed., Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins; 1747-85.
- Fang ZY., Ye Q., Ho MS., 1989. Investigation of an outbreak of adult diarrhea in China. *J Infect Di s*; 160: 948 -953
- Huraux JM., Nicolas JC., Agust H., 1985. Structure et classification des virus. In : Huraux JM, Nicolas JC, Agust H. *Virilogie*. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, :1-7
- Kapikian A., Hoshino Y., Chanock RM., Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, editors, 2001. *Fields virology*. 4th ed., Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins: 1787-833.
- Lopez S., Arias CF., 2006. Early steps in rotavirus cell entry; *Curr Top Microbiol Immunol*; 309: 39-66.
- Lundgren O., Svensson L., 2001. Pathogenesis of rotavirus diarrhea. *Microbes Infect*; 3: 1145-56.

- Martin S., Lorrot M., El Azher MA., 2002. Ionic strength- and temperature- induced K (Ca) shifts in the uncoating reaction of rotavirus strains RF and SA 11: correlation with membrane permeabilization. *J Virol*; 76 :552-9.
- Martinot , 2007. Prise en charge des diarrhées aiguës en France : quel progrès ? *Arch Pediatr* ; 14 (Suppl.) : S182—6.
- Moulin F., Marc E., Lorrot M., Coquery S., Sauvemartin H., Ravilly S., Lebon P., Raymond J., Brunet F., Gendre D., 2002. Hospitalisation pour gastroentérites aiguës communautaires à rotavirus : une enquête de quatre ans. *Arch Pédiatr* ; 9 :55-61.
- Parashar UD., Hummelman EG., Bersee JS., Miller MA., Glass RL., 2003. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis*; 9(5): 565-572.
- Penaranda ME., Cubit WD., Sinarachatanant P., 1989. Group C rotavirus infections in patients with diarrhea in Thailand, Nepal, and England. *J Infect Dis*; 160: 392 -397
- Rougemont A., Kaplon J., Billaud G., Lina B., Pinchinat S., Derrough T., Caulin E., Pothier D., Floret D., 2009. Sensibilité et spécificité du test immunochromatographie VIKIA Rota-Adéno et du Kit Elisa IDEIA Rotavirus par rapport aux techniques de génotypage. *Pathologie biologique*; 57: 86-89.
- Ruggeri FM., Greenberg HB., 1991. Antibodies to the trypsin cleavage peptide VP8 neutralize rotavirus by inhibiting binding of virions to target cells in culture. *J Virol*; 65: 2211-9.
- Ruiz MC., Cohen J., Michelangeli F., 2000. Role of Ca²⁺ in the replication and pathogenesis of rotavirus and other viral infections. *Cell Calcium*; 28:137-49.
- Ruiz-Palacios GM., Perez-Schael I., Velazquez FR, 2006. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med*; 354: 11—22.
- Sen A., Kobayashi N., Das S., Krishnan T., Bhattacharya SK., Naik TN., 2001. The evolution of human group B rotavirus. *Lancet*; 357: 198 -199
- Thuret A., 2004. Suivi prospectif des diarrhées nosocomiales dans 28 services de pédiatrie du quart sud-est de la France au cours d'un trimestre d'hiver. *Pathol Biol*; 52: 131-216.
- Velazquez FR., Matson DO., Calva JJ., 1996. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med*; 335: 1022-8.


Webographie

<https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/15227-gastro-enterite-symptomes-et-traitement>


https://nrchm.wivisp.be/fr/centres_ref_lab/rotavirus/_layouts/mobile/disform.aspx?List=25a2e639-347b-4630-972a-e0c426ce4c45&View=ed374a16-c45d-43b6-84df-a78c325ed7b3&ID=2

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4546712/>

Annexes



مختبر سايس للتحليلات الطبية
LABORATOIRE SAISS D'ANALYSES MÉDICALES
 مختبر حاصل على شهادة الجودة AFNOR ISO 9001 v 2015.



Prélèvement du : 20/02/2018 à 10:19
 Résultats édités le: 14/05/2018
 Prescripteur: Docteur S. [REDACTED]

ENF M. [REDACTED]
 Dossier N° [REDACTED]

Page: 1/1

VIROLOGIE

RECHERCHE DE ROTAVIRUS DANS LES SELLES
 Technique: Immunochromatographie
 Résultat: **Négatif**

RECHERCHE D'ADENOVIRUS DANS LES SELLES
 Technique: Immunochromatographie
 Résultat: **Négatif**

Total de pages: 1

N° RECLAMATIONS : 06 65 31 08 05

DR. NABIL BOUCETTA - SPÉCIALISTE EN BIOLOGIE MÉDICALE

81, RDC, IMM HIND - LOT WAFAE 5, HAY AMAL, FÈS
 EN FACE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE FÈS

TEL : 05 35 61 82 04 FAX : 05 35 61 79 71 EMAIL : CONTACT@LABOSAISS.COM

81، أرضي، إقامة هند. الوفاء 5، حي أمل، فاس
 أمام كلية الطب فاس

SITE WEB : WWW.LABOSAISS.COM

Annexe 1: Fiche de résultats