

Les norovirus bovins, virus entériques méconnus dans l'espèce bovine

MAUROY A., SCIPIONI A., MATHIJS E., THIRY E.

Service de Virologie et Pathologie des Maladies virales animales, Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bât. B43 bis à 4000 Liège

Correspondance : Prof. Etienne Thiry - Tél. : +32(0)4/366 42 51 Email : etienne.thiry@ulg.ac.be

RESUME : Les norovirus appartiennent à la famille des *Caliciviridae*. Ils ont été mis en évidence dans de nombreuses espèces animales : bovins, porcins, murins et très récemment chez un félin, le lionceau (*Panthera leo*). Chez l'homme, ils sont reconnus depuis plusieurs années comme des agents majeurs de gastroentérite humaine de cause non bactérienne, épidémique ou sporadique, souvent d'origine alimentaire. Malgré leur relative faible pathogénicité, ces virus, de par leurs différentes caractéristiques, constituent un problème de santé publique, surtout dans les communautés humaines. Les norovirus mis en évidence chez des animaux de production, en particulier chez les bovins, pourraient représenter dans ce contexte un risque zoonotique.

Dans cet article, les différentes données concernant les norovirus bovins sont exposées à la lumière de celles rassemblées pour les norovirus humains. Les hypothèses et questions, notamment d'ordre zoonotique, restant en suspens à leur sujet sont également envisagées.

INTRODUCTION

L'impact réel des virus dans les cas sporadiques ou épidémiques de gastroentérites alimentaires humaines était encore récemment sous-évalué par rapport aux agents étiologiques d'origine bactérienne. Les progrès réalisés au niveau du diagnostic moléculaire au cours de ces trois dernières décennies ont cependant permis à la médecine de repousser les limites du diagnostic et de l'étendre à de nombreux virus concernés (notamment les norovirus, rotavirus, virus de l'hépatite A et virus de l'hépatite E). Parmi les causes virales de gastroentérite, les norovirus (NoV) ont pris une importance toute particulière. Isolés dans un

premier temps dans l'espèce humaine, chez qui ils constituent désormais une des causes majoritaires des épidémies de gastroentérites (Kohli *et al.*, 2005 ; Widdowson *et al.*, 2005), les NoV ont également été mis en évidence chez différentes espèces animales. Cette extension du spectre d'hôte des NoV à différentes espèces animales, notamment des espèces appartenant à notre chaîne alimentaire (bovins, porcins) (Bridger *et al.*, 1984 ; Sugieda *et al.*, 1998), en a rendu leur étude plus importante encore ne serait-ce que pour les secteurs concernés par la manipulation des aliments ainsi que par les processus de fabrication alimentaire. Cette revue propose de faire le point sur les différentes données

de littérature à propos des norovirus bovins (BoNoV), celles-ci étant traitées comparativement aux données en provenance de l'étude des norovirus humains (HuNoV). Les BoNoV pourraient constituer des pathogènes nouveaux à prendre en compte dans les élevages.

LES NOROVIRUS BOVINS

Classification

Les NoV, auxquels appartiennent les BoNoV, font partie de la famille virale des *Caliciviridae*. Au sein de cette famille, l'*International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) a décrit

quatre genres : les genres *Norovirus* (ex-*Norwalk-like virus*), *Sapovirus* (ex-*Sapporo-like virus*), *Lagovirus* et *Vesivirus* (Green *et al.*, 2000 ; Mayo, 2002). Les virus appartenant au genre *Norovirus*, dont le prototype est le virus de Norwalk (NV), ont été associés à des symptômes de gastroentérite aiguë chez l'homme (Green *et al.*, 2001). Les NoV affectent également plusieurs espèces d'animaux tels les bovins, les porcins et les murins (Sugieda *et al.*, 1998 ; Liu *et al.*, 1999a ; Karst *et al.*, 2003). Ils ont été tout récemment mis en évidence chez un félinid, plus précisément chez un lionceau en captivité (Martella *et al.*, 2007). Initialement basée sur la morphologie des virus, la classification s'est rapidement fondée sur les données de biologie moléculaire. Actuellement, cinq génogroupes (G) sont décrits au sein du genre *Norovirus* sur base de l'analyse des séquences nucléotidiques et en acides aminés d'une région de la séquence codant pour la polymérase virale dans le cadre ouvert de lecture ou *Open Reading Frame 1* (ORF 1) (Ando *et al.*, 2000 ; Green *et al.*, 2000). Cependant, si un consensus a été obtenu au niveau des genres et des génogroupes, aucune consigne officielle n'a été mentionnée pour une classification plus précise en dessous du niveau du génogroupe. Cette classification s'articule habituellement sur l'analyse génétique de différentes courtes séquences de la région de la capsid. Zheng et collaborateurs (2006) ont proposé une classification sur base de l'analyse complète de la séquence en acide aminés (aa) de la protéine de capsid car ce système de classification est peu affecté par le phénomène de recombinaison. Ce phénomène, observé chez de nombreux virus (Awadalla, 2003 ; Thiry *et al.*, 2005), siège chez les NoV dans les gènes codant pour la polymérase virale et la capsid (Han *et al.*, 2004 ; Oliver *et al.*, 2004 ; Bull *et al.*, 2005 ; Rohayem *et al.*, 2005). En analysant les séquences codant pour la protéine de capsid de 164 souches, 29 sous-groupes (génotypes) ont été décrits dans le genre *Norovirus* : 8 dans le G I, 17 dans le G II, 2 dans le G III, 1 dans les G IV et V (les souches de référence pour chacun des génotypes ainsi que leur numéro d'accès dans *Genbank* sont repris dans le tableau I). Les souches de NoV infectant l'homme (HuNoV) se retrouvent ainsi majoritairement classées dans les deux premiers génogroupes (I et II) ; les quelques souches humaines restan-

Tableau I : Souche de référence et numéro d'accèsion dans *Genbank* pour chaque génotype décrit dans les cinq génogroupes de norovirus. Le cryptogramme représentant la souche reprend les informations suivantes : l'espèce infectée par le norovirus (Bo : bovin, Hu : humain, Mu : murin), le lieu où la souche a été identifiée, l'année d'identification et le pays d'origine (CA : Canada, DE : Allemagne, JP : Japon, NL : Pays-Bas, SR : Arabie Saoudite, UK : Grande Bretagne, US : Etats-Unis).

Génogroupe	Souche de référence	Numéro d'accèsion dans <i>Genbank</i>	Génotype
I	Hu/NoV/Norwalk/8FIIa/1968/US	M87661	1
	Hu/NoV/Southampton/1991/UK	L07418	2
	Hu/NoV/Desert Shield 395/1990/SR	U04469	3
	Hu/NoV/Chiba 407/1987/JP	AB022679	4
	Hu/NoV/Musgrove/1989/UK	AJ277614	5
	Hu/NoV/Hesse/1997/DE	AF093797	6
	Hu/NoV/Winchester/1994/UK	AJ277609	7
	Hu/NoV/WUGI/2000/JP	AB081723	8
II	Hu/NoV/Hawaii/1971/US	U07611	1
	Hu/NoV/Melksham/1994/UK	X81879	2
	Hu/NoV/Toronto 24/1991/CA	U02030	3
	Hu/NoV/Bristol/1993/UK	X76716	4
	Hu/NoV/Hillington/1990/UK	AJ277607	5
	Hu/NoV/Seacroft/1990/UK	AJ277620	6
	Hu/NoV/Leeds/1990/UK	AJ277608	7
	Hu/NoV/Amsterdam/1998/NL	AF195848	8
	Hu/NoV/Idaho Falls/378/1996/US	AY054299	9
	Hu/NoV/Erfurt/546/2000/DE	AF427118	10
	Hu/NoV/SaitamaT29GII/2001/JP	AB112221	11
	Hu/NoV/Aichi 76-96/Chitta/1996/JP	AB032758	12
	Hu/NoV/M7/1999/US	AY130761	13
	Hu/NoV/Kashiwa47/2000/JP	AB078334	14
	Hu/NoV/SaitamaKU80AGII/1999/JP	AB058582	15
	Hu/NoV/SaitamaT53GII/2002/JP	AB112260	16
	Hu/NoV/CS-E1/2002/US	AY502009	17
III	Bo/NoV/Jena/1980/DE	AJ011099	1
	Bo/NoV/Newbury 2/1976/UK	AF097917	2
IV	Hu/NoV/Alphatron/98/1998/NL	AF195847	1
V	Mu/NoV/MNV1/2002/US	NC008311	1

tes appartiennent au G IV. Les souches de BoNoV se classent dans le G III où elles ont été subdivisées en deux génotypes classiquement dénommés Jena (G III.1) et Newbury 2 (G III.2). Ces souches sont phylogénétiquement plus proches des norovirus humains de G I (Zheng *et al.*, 2006).

Historique

En 1929, Zahorsky introduisit pour la première fois le terme de *Winter Vomiting Disease* pour décrire une maladie atteignant principalement des enfants, bien que quelques adultes

aient été affectés et dont les principales manifestations cliniques étaient des vomissements, parfois exacerbés. À ces vomissements s'ajoutèrent chez certains patients des crampes abdominales et de la diarrhée ; ces symptômes disparaissaient rapidement et un rétablissement complet était de règle. La maladie se révéla très infectieuse (Zahorsky, 1929). Durant les quarante années suivantes, plusieurs épisodes similaires furent rapportés dans la littérature et suspectés être imputables au même agent (Goodall, 1954 ; Cumming et McEvedy, 1969).

En octobre 1968, une épidémie de gastroentérite toucha une école fondamentale dans la localité de Norwalk en Ohio, Etats-Unis. Durant une période de deux jours, la moitié des élèves et des professeurs fut touchée. Il y eut un taux d'attaque secondaire de 32 % à travers les contacts que les personnes infectées eurent avec leur entourage. Les symptômes développés concordaient avec ceux décrits plus tôt pour la *Winter Vomiting Disease*. Les examens diagnostiques de laboratoire pratiqués à l'époque sur les échantillons ne donnèrent tout d'abord aucun résultat jusqu'à ce que Kapikian et collaborateurs (1972) mettent en évidence l'agent responsable par immuno-microscopie électronique. Ce virus et d'autres identifiés par la suite furent rassemblés sous la dénomination *Norwalk-like viruses*. Les avancées technologiques dans le domaine de la biologie moléculaire et, de ce fait, les progrès dans le diagnostic de ces virus allaient cependant révéler l'amplitude du problème de santé publique qu'ils représentaient (Kapikian, 2000).

Des virus présentant des caractéristiques morphologiques très proches de celles des calicivirus furent ensuite découverts dans les matières fécales de bovins. La souche Newbury 2 a été

isolée dans un échantillon de matières fécales d'un veau atteint de gastroentérite aiguë en Grande-Bretagne en 1978. Administré à des veaux gnotobiotiques, cet isolat reproduisait des symptômes de gastroentérite. Il ne pouvait être multiplié en culture de cellules (Woode et Bridger, 1978). L'agent fut caractérisé et observé en microscopie électronique par Bridger et collaborateurs (1984). La souche de Jena fut identifiée pour la première fois en Allemagne, également chez des veaux atteints de gastroentérite (Gunther *et al.*, 1984 ; Gunther et Otto, 1987). Le séquençage partiel ou total de leur génome a relié génétiquement ces deux souches au genre *Norovirus* (Liu *et al.*, 1999a ; Oliver *et al.*, 2006a).

Caractéristiques morphologiques et biologiques

Les calicivirus auxquels appartiennent les BoNoV ont hérité leur nom des 32 dépressions caractéristiques en forme de calice présentes en surface de leur capsid et qui peuvent être observées en microscopie électronique. Non enveloppés, les BoNoV présentent une capsid d'un diamètre compris entre 27 et 38 nm ; cette capsid est

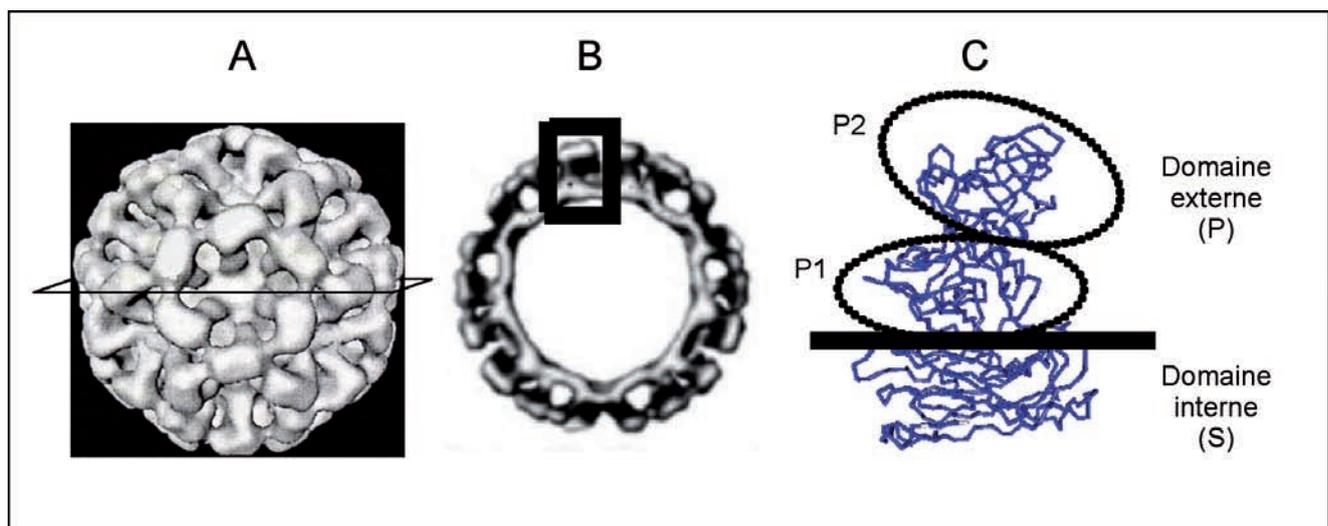
composée de 180 copies d'une protéine unique appelée protéine virale 1 (*viral protein 1*, VP1). Ces protéines s'assemblent en dimères pour former des capsomères qui s'organisent de façon à donner une capsid de symétrie icosaédrique de T=3 (figure 1A) (Prasad *et al.*, 1994 ; Prasad *et al.*, 1999). Une densité de flottaison en chlorure de césium de 1,33 à 1,41 g/ml leur est associée (Green *et al.*, 2001). Ces virus se révèlent résistants dans le milieu extérieur et cela même en conditions très défavorables de pH ou de température (Dolin *et al.*, 1972).

La multiplication des norovirus *in vitro* en culture de cellules reste encore, à ce jour, fastidieuse, à l'exception notable du norovirus murin (MuNoV) (Duizer *et al.*, 2004b ; Wobus *et al.*, 2004). Très récemment, un système de culture tridimensionnel soumis à des flux de milieu a pu être mis au point pour la répllication *in vitro* des HuNoV et ouvre des perspectives intéressantes tant pour les HuNoV que pour les BoNoV (Straub *et al.*, 2007).

Organisation du génome et virologie moléculaire

Le génome des BoNoV est un ARN monocaténaire de polarité posi-

Figure 1 : Structure de la capsid d'un norovirus **A** : représentation tridimensionnelle de la surface de la capsid d'un norovirus, résolution en cryo-microscopie électronique à 22 Å ; **B** : section tangentielle de la capsid d'un norovirus ; **C** : Structure tertiaire évaluée par Swiss Model (accessible sur internet via l'adresse <http://swissmodel.expasy.org>) de la protéine de capsid d'un norovirus bovin isolé en laboratoire dans le service de Virologie et Pathologie des Maladies virales animales de la Faculté de Médecine vétérinaire de Liège (souche B309).



Deux monomères s'assemblent pour former un dimère et 90 dimères rentrent dans la composition de l'entièreté de la capsid. Le domaine S (partie N-terminale de VP1) intervient dans la constitution de la structure icosaédrique interne de la capsid et le domaine P (partie C terminale) forme les arches des calices en surface de la capsid. Le sous-domaine P1 est modérément conservé entre les différentes souches tandis que le sous-domaine P2, le plus exposé au système immunitaire de l'hôte, est très variable.

tive (Green *et al.*, 2001). Par analogie avec ce qui a été décrit pour d'autres calicivirus ainsi que pour le MuNoV (Burroughs et Brown, 1978 ; Daughenbaugh *et al.*, 2006), une protéine VPg pourrait être liée à l'extrémité 5' de l'acide nucléique viral. Trois ORF sont mentionnés dans l'organisation du génome des NoV (Jiang *et al.*, 1993). À l'extrémité 5', l'ORF 1 code pour une polyprotéine d'environ 1740 aa (195 kDa) qui sera par la suite clivée par la protéinase virale et par son précurseur pour donner les protéines non structurales du virus (Liu *et al.*, 1996 ; Liu *et al.*, 1999b ; Belliot *et al.*, 2003 ; Scheffler *et al.*, 2007). L'ORF 2 encode l'unique protéine de capsid (VP1) tandis que le produit de l'ORF 3, la protéine virale 2 (*viral protein 2*, VP2), est une petite protéine mineure structurale (figure 2). La majorité des données moléculaires émanent de l'étude de souches humaines. Cependant, les BoNoV présentant la même organisation génomique (Liu *et al.*, 1999a ; Oliver *et al.*, 2006a) que celle des souches humaines, des fonctions similaires pour leurs protéines sont logiquement attendues. De l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' sont décrites les protéines suivantes :

P48

In vitro, cette protéine se colocalise avec des protéines cellulaires de l'appareil de Golgi et serait responsable de sa dislocation lorsqu'elle est surexprimée (Fernandez-Vega *et al.*, 2004). Un rôle d'interférence dans le transport et le trafic protéique intracellulaire associé aux

membranes lui est attribué (Ettayebi et Hardy, 2003).

NTPase

Cette protéine présente une activité de liaison et d'hydrolyse des nucléotides triphosphates. Elle partage des motifs avec la protéine 2C des picornavirus et plus généralement avec les hélicases de la superfamille 3 (Pfister et Wimmer, 2001).

P22

Très peu de données sont disponibles dans la littérature au sujet du rôle de cette protéine. Les similitudes constatées entre NoV et picornavirus au niveau génétique et, particulièrement une position semblable à celle de la protéine 3A de ces derniers permettent de postuler une localisation des complexes de réplication associée aux membranes intracellulaires et donc un impact sur le trafic intracellulaire associé à ces membranes (Doedens *et al.*, 1997). De telles propriétés sont également rapportées pour p30, l'équivalent de p22 chez le calicivirus félin, un vésivirus (Green *et al.*, 2002).

VPg

Elle serait la protéine liée de manière covalente en 5' à l'ARN viral. Cette liaison a seulement été mise en évidence expérimentalement pour certains calicivirus animaux. Cette protéine pourrait jouer un rôle dans l'initiation de

la traduction et le recrutement des ribosomes étant donné qu'*a contrario* des ARNm cellulaires, l'ARN viral des calicivirus ne possède ni coiffe ni site d'entrée ribosomal interne (Herbert *et al.*, 1997 ; Gutierrez-Escolano *et al.*, 2000 ; Daughenbaugh *et al.*, 2003). Ces hypothèses ont été confirmées pour le MuNoV (Daughenbaugh *et al.*, 2006) mais restent à déterminer pour les autres norovirus.

3CLpro

Cette protéine exerce une activité de type protéase et est impliquée dans le clivage de la polyprotéine initiale (Liu *et al.*, 1996). Ses propriétés enzymatiques ont été caractérisées (Someya *et al.*, 2005). Par son activité de clivage de la protéine liée à la queue polyadénylée, elle est responsable d'une inhibition de la synthèse protéique cellulaire et donc jouerait un rôle dans la régulation de l'expression génique tant virale que cellulaire (Kuyumcu-Martinez *et al.*, 2004).

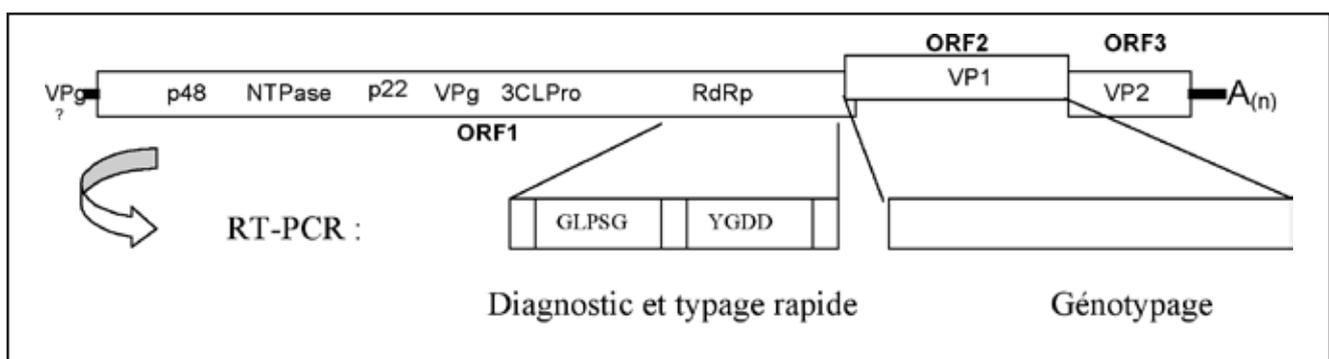
ARN polymérase ARN dépendante virale

Elle partage les mêmes caractéristiques structurales et catalytiques que les polymérase virales des autres virus à ARN de polarité positive (Ng *et al.*, 2004).

VP1

VP1 est l'unique protéine rentrant dans la composition de la capsid virale. Elle possède une masse

Figure 2 : Organisation génomique des norovirus et régions génomiques classiquement ciblées pour le diagnostic des infections à norovirus par RT-PCR (motifs GLPSG et YGDD).



Le séquençage du produit de l'amplification peut permettre de classer la souche au sein d'un génogroupe. Le génotypage nécessite l'amplification et le séquençage de régions génomiques partielles codant pour la protéine de capsid VP1 ou de la séquence complète de celle-ci. VPg : protéine virale potentiellement liée au génome ; p48 : protéine virale 48 ; NTPase : nucléotidetriphosphatase ; 3CLPro : protéase virale 3C-like ; RdRp : ARN polymérase virale ARN dépendante ; VP1 : protéine majeure structurale (protéine de capsid) ; VP2 : protéine mineure structurale ; ORF : cadre de lecture ouvert.

moléculaire d'environ 56 kDa pour plus ou moins 530 aa suivant les souches de NoV. La protéine de capsid des BoNoV est légèrement plus courte que celles des HuNoV : 520, 523, 531 et 536 aa respectivement pour les souches de Jena (G III.1, BoNoV), Newbury 2 (G III.2, BoNoV), Norwalk (G I.1, HuNoV) et Hawaï (G II.1, HuNoV) (Jiang *et al.*, 1993 ; Lew *et al.*, 1994 ; Liu *et al.*, 1999a ; Oliver *et al.*, 2006a). La structure primaire de VP1 se compose de deux domaines. Le domaine S (pour *shell domain*), très conservé, contient les éléments essentiels pour la formation de la structure icosaédrique de la capsid. Le domaine P (pour *protruding domain*) forme les arches des calices en surface, supporte les déterminants antigéniques et est subdivisé en deux sous-domaines : P1, modérément conservé, et P2, région hypervariable impliquée dans les interactions avec la cellule (figure 1) (Prasad *et al.*, 1999 ; Lochridge *et al.*, 2005).

Plusieurs études ont montré que la VP1 de HuNoV interagissait avec des oligosaccharides liés à ceux du complexe majeur d'his-

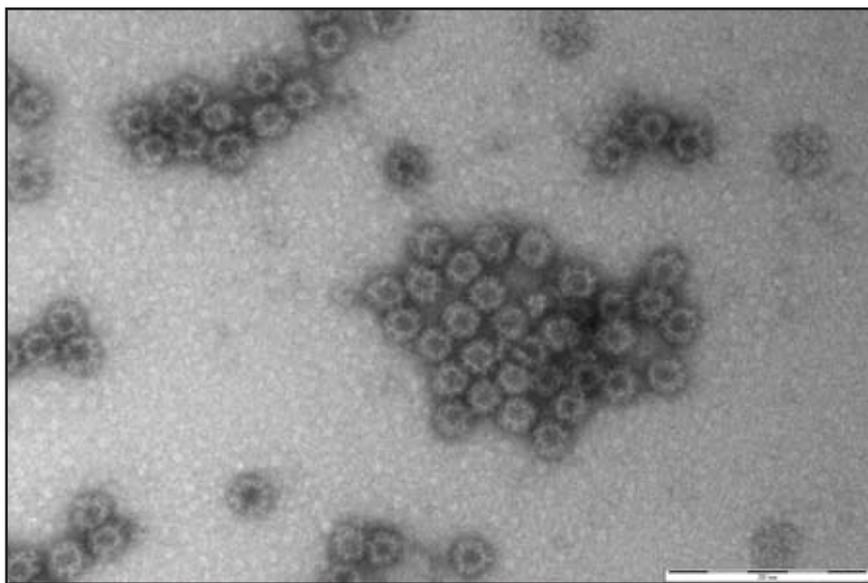
tocompatibilité ABO et de Lewis (Hutson *et al.*, 2002 ; Marionneau *et al.*, 2002 ; Huang *et al.*, 2003 ; Tan *et al.*, 2004 ; Tan et Jiang, 2005a ; 2005b) et les reconnaissait comme récepteurs, conférant à l'infection par les HuNoV une certaine notion de sensibilité/résistance génétique. Les individus de phénotype sécréteur, c'est-à-dire génétiquement déficients pour la 1,2- α -fucosyltransférase, une enzyme impliquée dans les voies de biosynthèse de ces oligosaccharides, semblent prédisposés à l'infection par la souche de Norwalk (Marionneau *et al.*, 2002 ; Hutson *et al.*, 2005 ; Larsson *et al.*, 2006). Les épidémies de gastroentérites causées par les norovirus sont fréquemment associées à la consommation de fruits de mer. Il a été démontré que les mollusques bivalves peuvent concentrer les NoV dans leurs tissus digestifs par l'expression des oligosaccharides impliqués comme récepteurs pour les souches humaines (Le Guyader *et al.*, 2006).

À l'heure actuelle, les récepteurs des NoV animaux ne sont pas encore caractérisés. Cependant,

les résultats d'une étude récente ont démontré la réplication d'un HuNoV chez des porcs exprimant des oligosaccharides similaires à ceux du système ABO et de Lewis en surface des cellules de l'intestin grêle (Cheetham *et al.*, 2006 ; 2007). On sait depuis longtemps que l'espèce porcine exprime en surface de ses cellules des antigènes tissulaires fort semblables à ceux décrits pour l'espèce humaine (Yamamoto et Yamamoto, 2001). D'autre part, ce type d'antigène tissulaire serait largement exprimé en surface des cellules de nombreuses autres espèces animales avec, bien entendu, des variations plus ou moins sensibles suivant les espèces (Marionneau *et al.*, 2001). Il est donc envisageable que de telles structures soient également impliquées comme récepteurs cellulaires pour le BoNoV. Tout récemment, la réplication d'une souche humaine avec induction de lésions et de signes cliniques d'entérite a également été montrée chez des veaux gnotobiotiques (Souza *et al.*, 2008).

Ces virus ne se répliquant que difficilement en culture de cellules, les scientifiques ont cherché à obtenir de différentes manières des substituts pour leur étude. Parmi celles-ci, le système d'expression protéique en baculovirus a rapidement permis d'obtenir de tels substituts. Comme la structure de la capsid des NoV en général et des BoNoV en particulier est relativement simple (une seule protéine structurale), les protéines VP1 exprimées en système baculovirus s'assemblent spontanément pour former des pseudoparticules virales (*virus-like particles*, VLPs) structurellement, morphologiquement et antigéniquement semblables aux norovirus d'origine (Jiang *et al.*, 1992b ; Deng *et al.*, 2003 ; Lochridge et Hardy, 2003 ; Han *et al.*, 2005) (figure 3). Ces VLPs constituent donc un outil d'étude adéquat pour ce genre de virus et leur immense potentiel a été rapidement perçu puisqu'elles permettent de disposer de grandes quantités antigéniques d'un virus que l'on ne peut produire *in vitro*. Ce potentiel a été principalement exploité dans les secteurs du diagnostic (comme matériel de base au développement d'outils de détection basés sur les réactions immunologiques tels que

Figure 3 : Pseudoparticules virales (VLPs) produites par expression en système baculovirus de la protéine de capsid d'une souche de norovirus bovin isolée en laboratoire dans le service de Virologie et Pathologie des Maladies virales animales de la Faculté de Médecine vétérinaire de Liège (souche B309).



Les protéines produites se sont spontanément assemblées pour former des particules présentant une morphologie classique de calicivirus avec des structures en forme de calice et un diamètre compris entre 27 et 38 nm. Ces VLPs constituent morphologiquement et structurellement un excellent substitut d'étude des norovirus. Image en microscopie électronique après coloration à l'acétate d'uranyle réalisée par Jan Mast (CERVA).

les ELISAs) et de l'étude de l'immunité développée contre les NoV.

VP2

VP2 est une petite protéine structurale basique de 35 kDa (Glass *et al.*, 2000), présente à raison de 2 ou 3 molécules par virion (Prasad *et al.*, 1994), dont le rôle n'est pas encore clairement établi mais qui stabiliserait VP1 et la protégerait du désassemblage et de la dégradation (Bertolotti-Ciarlet *et al.*, 2003).

Pathogénie et aspects cliniques

Les NoV mis en évidence dans les différentes espèces animales partagent de nombreuses propriétés pathogéniques. La voie de transmission des NoV est habituellement oro-fécale (Woode et Bridger, 1978 ; Graham *et al.*, 1994). Elle peut être de trois types : d'individu à individu, par l'intermédiaire des aliments et de l'eau, et à partir de surfaces contaminées. Une très faible dose infectieuse (inférieure à 100 particules virales), une forte stabilité dans l'environnement (Rzezutka et Cook, 2004), une résistance relative à l'inactivation (Duizer *et al.*, 2004a) et une grande diversité des souches sont des caractéristiques accroissant le risque d'infection.

Chez l'homme, les symptômes apparaissent après une période d'incubation de 1 ou 2 jours. Ils sont en général légers et de courte durée (Rockx *et al.*, 2002) excepté chez les personnes immunodéprimées ou débilitées (Goller *et al.*, 2004 ; Mattner *et al.*, 2006). Ces symptômes consistent majoritairement en des vomissements, parfois incoercibles, accompagnés ou non de diarrhée ou de fièvre avec un taux d'attaque secondaire très élevé, spécialement dans les communautés telles les maisons de repos, hôpitaux, écoles et bateaux de croisière (Caul, 1996).

Une diarrhée non hémorragique bénigne et de l'anorexie sont également les signes cliniques observés chez des veaux gnotobiotiques infectés avec des BoNoV (Bridger *et al.*, 1984). La RT-PCR a permis de mettre en évidence une longue durée d'excrétion dans les matières fécales (Han *et al.*, 2005). La résistance dans le milieu extérieur et la propagation rapide dans les communautés des HuNoV, ajoutés aux modes d'élevage pratiqués dans les exploitations suggèrent un impact

plus important qu'il n'y paraît pour les BoNoV, au moins au niveau zootéchnique.

L'infection par les BoNoV se localise dans le tractus digestif et l'entérite se limite à l'intestin grêle (Woode et Bridger, 1978 ; Granzow et Schirrmeyer, 1985). Les lésions anatomopathologiques sont particulièrement marquées dans la région moyenne du jéjunum (Gunther *et al.*, 1984 ; Gunther et Otto, 1987).

Réponse immunitaire

Jusqu'à présent, aucune étude *in vivo* n'a visé à caractériser en détail l'immunité développée contre les BoNoV et la plupart des données disponibles ont été obtenues en mettant à profit les VLPs de BoNoV, substitués acceptables pour ce type d'étude. Plusieurs auteurs ont en effet prouvé leur immunogénicité par voie systémique, orale (la voie classique d'infection par les NoV) et même intranasale, chez la souris (Jiang *et al.*, 1992a ; Ball *et al.*, 1998 ; Guerrero *et al.*, 2001) comme chez l'homme ou les bovins (Tacket *et al.*, 2003 ; Han *et al.*, 2006). Afin de compléter au mieux ce chapitre, les données de réponse immunitaire humaine et murine, plus nombreuses, seront également présentées.

Les études réalisées sur des volontaires humains ont indiqué l'établissement d'une immunité protectrice de courte durée (environ 6 mois), dirigée contre les virus homologues mais pas nécessairement étendue aux virus hétérologues. Elle était suivie d'une sensibilité renouvelée à l'infection (Johnson *et al.*, 1990 ; Matsui et Greenberg, 2000). De plus, les individus présentant des anticorps sériques préexistants ne sont pas nécessairement protégés contre l'infection (Graham *et al.*, 1994). La réponse spécifique en immunoglobulines A (IgA) sériques apparaît être une constante ; ces IgA n'induisent pas de protection croisée entre génogroupes (Erdman *et al.*, 1989 ; Lindesmith *et al.*, 2005). Des IgA à réactivité croisée entre les G I et II ont pourtant récemment été mises en évidence dans le lait de femmes allaitantes (Makita *et al.*, 2007). Le pic en IgM apparaît 2 semaines après l'infection. Il n'est pas restreint à l'infection primaire mais constitue plutôt un marqueur d'infection récente (Cukor *et al.*, 1982 ; Brinker *et al.*, 1999). Les titres en IgG ne résultent pas de l'exposition mais bien de l'infection (Lindesmith *et al.*,

2005). Les infections expérimentales de veaux ont donné les mêmes profils de réponse immunitaire avec les pics en IgG atteints 3 semaines après l'infection (Han *et al.*, 2005). Comme mentionné précédemment, c'est VP1 qui supporte les déterminants antigéniques de l'immunité protectrice. Des épitopes localisés dans le domaine S permettent d'obtenir des réactions croisées entre génogroupes (Yoda *et al.*, 2003 ; Batten *et al.*, 2006 ; Oliver *et al.*, 2006b). Ainsi, les génotypes Jena et Newbury 2 sont antigéniquement distincts mais partagent au moins un épitope commun localisé dans le domaine S de leur protéine de capsid avec les HuNoV de G II.3 permettant d'obtenir des réactions croisées (Oliver *et al.*, 2006a).

L'immunité innée joue un rôle important dans le contrôle de l'infection par le MuNoV étant donné que l'immunité adaptative B- et T-dépendante n'est pas requise pour la protection. Une protéine de la famille des transducteurs et activateurs de la traduction du signal (STAT 1) est impliquée. Les interférons (IFNs), autres composants de l'immunité innée, sont également concernés puisque des souris délétées des récepteurs aux IFNs $\alpha\beta$ et γ sont plus sensibles à l'infection létale et que la multiplication virale est sensible aux IFNs (Karst *et al.*, 2003 ; Chang *et al.*, 2006). Les VLPs de BoNoV pourraient aussi être utilisées dans le développement d'un vaccin (Estes *et al.*, 2000 ; Tacket *et al.*, 2003 ; Han *et al.*, 2006).

Diagnostic

Les méthodes actuelles de diagnostic des NoV sont la microscopie électronique, les méthodes immunologiques et celles basées sur l'amplification et la détection de séquences génomiques (RT-PCR, qRT-PCR) (Atmar et Estes, 2001). La microscopie électronique, bien que restant une méthode de choix, est fastidieuse, coûteuse, peu sensible et nécessite une grande expérience. La sensibilité des méthodes immunologiques reste limitée par la grande diversité antigénique des souches de NoV. Enfin, le diagnostic moléculaire (figure 2) est le dernier à avoir été développé et a bénéficié du séquençage complet ou partiel de nombreuses souches (tableau I). Elle est la méthode la plus sensible et permet actuellement une approche quantitative qui restait jusqu'il y a peu impossible ou peu

précise. Ses inconvénients sont une constante mise à jour des sondes utilisées pour se trouver en adéquation avec les souches circulantes issues soit des mutations aléatoires et de la pression de sélection exercée par le système immunitaire, soit du phénomène de recombinaison. Jusqu'à présent aucune paire d'amorces universelles n'a pu être mise au point et celles utilisées pour le diagnostic de routine s'hybrident dans une région conservée du gène de la polymérase (Atmar et Estes, 2001 ; Smiley *et al.*, 2003 ; Vinje *et al.*, 2003 ; Ike *et al.*, 2007).

L'utilisation d'un contrôle interne permet d'augmenter la spécificité du test de diagnostic en diminuant la part des faux négatifs due à la présence d'inhibiteurs de RT-PCR (Scipioni *et al.*, 2008a).

La technologie des microdamiers est envisagée et il serait étonnant qu'elle ne soit pas mise au point dans un futur proche (Jaaskelainen et Maunula, 2006).

Distribution géographique

Les études épidémiologiques ont fréquemment démontré que les NoV sont largement répandus et que les infections sont courantes autant chez l'homme que chez les bovins, les

porcins et les murins (Scipioni *et al.*, 2008b). À l'heure actuelle des séquences de BoNoV ont été mises en évidence par biologie moléculaire sur tous les continents habités mis à part l'Afrique. Pour ce dernier continent, il faut peut-être y voir tout simplement un biais de recherche. Les prototypes des deux génotypes décrits ont été mis en évidence dans le courant des années '80 ; le premier en Grande Bretagne (génotype 2, Newbury 2) et ensuite en Allemagne (génotype 1, Jena) (Bridger *et al.*, 1984 ; Gunther et Otto, 1987). Dans ce dernier pays, des BoNoV du génotype 2 ont aussi récemment été diagnostiqués par Ike et collaborateurs (2007). Par RT-PCR sur échantillons de matières fécales, des prévalences de 9 % (Deng *et al.*, 2003), 11 % (Milnes *et al.*, 2007), 31,6 % chez des veaux et 4,2 % chez des vaches laitières (Van Der Poel *et al.*, 2003) ont été mises en évidence respectivement en Allemagne, en Grande Bretagne et aux Pays-Bas. La séroprévalence envers le génotype Jena est de 99 % chez des vaches laitières de Thuringe, de Hesse et de Bavière (Deng *et al.*, 2003). Des BoNoV ont été détectés dans des exploitations en Belgique (Scipioni *et al.*, 2004 ; Scipioni *et al.*, 2008a), où une forte séroprévalence apparente a pu également être démontrée (Mauroy

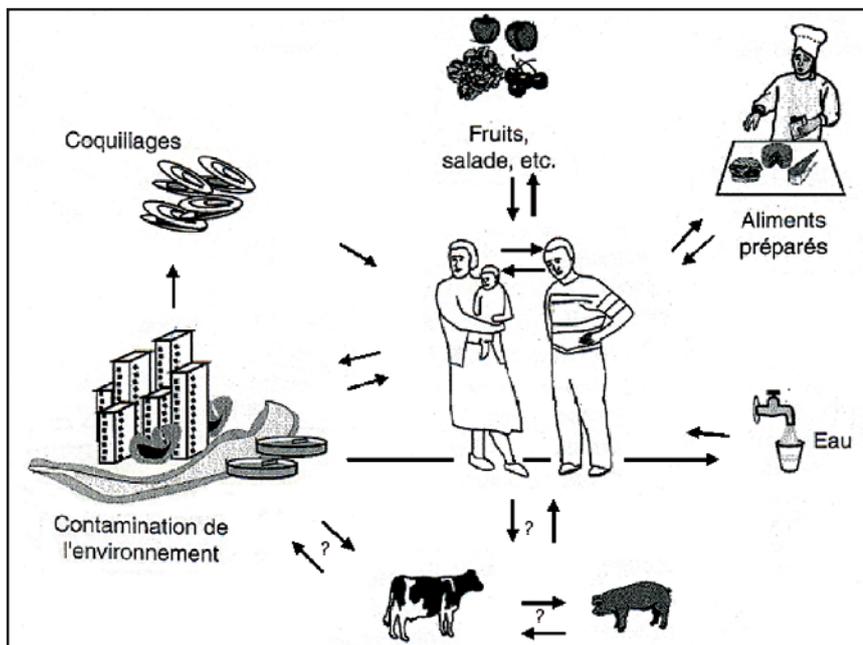
et al., 2007), aux Etats-Unis, dans le Michigan et le Wisconsin (Wise *et al.*, 2004), au Canada (Mattison *et al.*, 2007), au Vénézuéla (Alcala *et al.*, 2003), en Corée du Sud (Park *et al.*, 2007) et en Nouvelle-Zélande (Wolf *et al.*, 2007).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les NoV sont largement répandus tant chez l'homme que chez les animaux de production. Chez les bovins, l'impact zootechnique des NoV n'est sûrement pas négligeable quoique peu évalué à l'heure actuelle, surtout en Belgique. De par leurs caractéristiques biologiques, les NoV bénéficient d'une relative stabilité environnementale et constituent donc un réel problème d'assainissement des lieux contaminés. Leur voie de transmission étant orofécale, une des sources communes d'infection chez l'homme est constituée par les aliments contaminés par des eaux d'effluents et ingérés crus comme les fruits de mer (China *et al.*, 2003). Chez les bovins, cette transmission via l'alimentation devrait être investiguée.

Bien que ce risque soit fort discuté selon les auteurs, la proximité génétique de certains NoV animaux avec les souches humaines pourrait faire craindre un risque zoonotique par leur présence dans les eaux d'effluents, surtout dans des pays comme la Belgique où se conjuguent densité humaine et concentration d'élevages. Récemment la multiplication et la pathogénicité de HuNoV a été montrée chez des porcins gnotobiotiques (Cheetham *et al.*, 2006). Il s'agit là du premier risque zoonotique clairement identifié et les souches porcines (PoNoV) sont d'ailleurs relativement proches des souches humaines au niveau génétique ; elles ont été classées dans le G II, groupe majoritairement constitué de souches humaines (Sugieda et Nakajima, 2002). Pour l'espèce bovine, aucune co-infection n'a été enregistrée jusqu'à ce jour et le récepteur cellulaire pour le BoNoV n'a pas encore été caractérisé. Si son récepteur devait montrer une relative proximité avec celui du HuNoV, alors l'espèce bovine tout comme l'espèce porcine pourrait jouer un rôle de réservoir pour les HuNoV. Des opportunités de recombinaison entre norovirus humains et animaux existeraient alors avec comme corollaire l'émergence et

Figure 4 : Voies de transmission classiques des norovirus et risque zoonotique potentiel constitué par les bovins et les porcs en terme de portage, de réservoir, de transmission, de multiplication et d'opportunité de recombinaison des norovirus. Adapté de Loisy et collaborateurs (2004).



la diffusion de nouvelles souches. La présence simultanée de NoV humains et animaux a été mise en évidence dans des mollusques (Costantini *et al.*, 2006). Plus récemment, de très courtes séquences se classant phylogénétiquement dans le G II.4 (génotype de souches humaines) ont été obtenues par RT-PCR à partir d'échantillons fécaux bovins (Mattison *et al.*, 2007). Ces éléments renforcent encore les craintes émises quant au risque zoonotique représenté par les souches de NoV animaux (figure 4).

De nombreuses études complémentaires sont nécessaires pour identifier toutes les composantes de ce risque. Ensuite, ce risque devra être caractérisé ; l'étude du récepteur cellulaire du BoNoV en est un des exemples. Des études épidémiologiques devront être réalisées dans l'espèce bovine afin d'y caractériser l'impact zootechnique et sur la santé du cheptel des BoNoV. D'une manière plus large, de telles études seraient également intéressantes non seulement dans les autres espèces de production (porcins, volaille), mais peut être aussi chez les animaux de compagnie.

REMERCIEMENTS

Les recherches effectuées sur les norovirus dans le service de virologie et pathologie des maladies virales animales sont soutenues grâce à des fonds provenant de la Région wallonne (convention 415701), du SPF Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement (convention RF6185) et du SPF Politique scientifique (convention SD/AF/01). Les auteurs remercient Jan Mast (Centre d'Economie et de Recherche vétérinaire et agrochimique) pour l'image de VLPs en microscopie électronique. L'équipe technique (Dominique Ziant, Christine Thys, Lorène Dams) est également remerciée pour sa contribution dans les différentes recherches concernant les norovirus.

SUMMARY

Noroviruses belong to the *Caliciviridae* family. They have been identified in several species: bovine, porcine, murine and recently in a lion cub (*Panthera leo*). They are known since several years as major agents of foodborne non-bacterial human gastroenteritis, both epidemic and sporadic. Although they are characterised by a low pathogenicity, these viruses are a real threat for public health because their different properties, especially in human communities. In this context, noroviruses identified in production animals, in particular cattle, could represent a non negligible zoonotic risk.

This article deals with data concerning bovine noroviruses in the light of human noroviruses knowledge. Hypothesis and unanswered questions are also considered, in particular the ones relative to zoonotic risk.

BIBLIOGRAPHIE

- ALCALA A.C., HIDALGO M.A., OBANDO C., VIZZI E., LIPRANDI F., LUDERT J.E. Molecular identification of bovine enteric caliciviruses in Venezuela. *Acta Cient. Venez.*, 2003, **54**, 148-152.
- ANDOT., NOEL J.S., FANKHAUSER R.L. Genetic classification of Norwalk-like viruses. *J. Infect. Dis.*, 2000, **181 Suppl 2**, S336-S348.
- ATMAR R.L., ESTES M.K. Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, **14**, 15-37.
- AWADALLA P. The evolutionary genomics of pathogen recombination. *Nat. Rev. Genet.*, 2003, **4**, 50-60.
- BALL J.M., HARDY M.E., ATMAR R.L., CONNER M.E., ESTES M.K. Oral immunization with recombinant Norwalk virus-like particles induces a systemic and mucosal immune response in mice. *J. Virol.*, 1998, **72**, 1345-1353.
- BATTEN C.A., CLARKE I.N., KEMPSTER S.L., OLIVER S.L., BRIDGER J.C., LAMBDEN P.R. Characterization of a cross-reactive linear epitope in human genogroup I and bovine genogroup III norovirus capsid proteins. *Virology*, 2006, **356**, 179-187.
- BELLIOT G., SOSNOVTSEV S.V., MITRA T., HAMMER C., GARFIELD M., GREEN K.Y. In vitro proteolytic processing of the MD145 norovirus ORF1 nonstructural polyprotein yields stable precursors and products similar to those detected in calicivirus-infected cells. *J. Virol.*, 2003, **77**, 10957-10974.
- BERTOLOTTI-CIARLET A., CRAWFORD S.E., HUTSON A.M., ESTES M.K. The 3' end of Norwalk virus mRNA contains determinants that regulate the expression and stability of the viral capsid protein VP1 : a novel function for the VP2 protein. *J. Virol.*, 2003, **77**, 11603-11615.
- BRIDGER J.C., HALL G.A., BROWN J.F. Characterization of a calicivirus-like virus (Newbury agent) found in association with astrovirus in bovine diarrhea. *Infect. Immun.*, 1984, **43**, 133-138.
- BRINKER J.P., BLACKLOW N.R., JIANG X., ESTES M.K., MOE C.L., HERRMANN J.E. Immunoglobulin M antibody test to detect genogroup II Norwalk-like virus infection. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, **37**, 2983-2986.
- BULL R.A., HANSMAN G.S., CLANCY L.E., TANAKA M.M., RAWLINSON W.D., WHITE P.A. Norovirus recombination in ORF1/ORF2 overlap. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 1079-1085.
- BURROUGHS J.N., BROWN F. Presence of a covalently linked protein on calicivirus RNA. *J. Gen. Virol.*, 1978, **41**, 443-446.

- CAUL E.O. Viral gastroenteritis : small round structured viruses, caliciviruses and astroviruses. Part I. The clinical and diagnostic perspective. *J. Clin. Pathol.*, 1996, **49**, 874-880.
- CHANG K.O., SOSNOVTSEV S.V., BELLIOU G., KING A.D., GREEN K.Y. Stable expression of a Norwalk virus RNA replicon in a human hepatoma cell line. *Virology*, 2006, **353**, 463-473.
- CHEETHAM S., SOUZA M., MEULIA T., GRIMES S., HAN M.G., SAIF L.J. Pathogenesis of a genogroup II human norovirus in gnotobiotic pigs. *J. Virol.*, 2006, **80**, 10372-10381.
- CHEETHAM S., SOUZA M., MCGREGOR R., MEULIA T., WANG Q., SAIF L.J. Binding patterns of human norovirus-like particles to buccal and intestinal tissues of gnotobiotic pigs in relation to A/H histo-blood group antigen expression. *J. Virol.*, 2007, **81**, 3535-3544.
- CHINA B., DE SCHAETZEN M.A., DAUBE G. Les mollusques bivalves, des aliments dangereux. *Ann. Med. Vet.*, 2003, **147**, 413-422.
- COSTANTINI V., LOISY F., JOENS L., LE GUYADER F.S., SAIF L.J. Human and animal enteric caliciviruses in oysters from different coastal regions of the United States. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, **72**, 1800-1809.
- CUKOR G., NOWAK N.A., BLACKLOW N.R. Immunoglobulin M responses to the Norwalk virus of gastroenteritis. *Infect. Immun.*, 1982, **37**, 463-468.
- CUMMING J.D., MCEVEDY C.P. An outbreak of 'winter vomiting disease' in a university hall of residence. *J. Hyg.*, 1969, **67**, 147-152.
- DAUGHENBAUGH K.F., FRASER C.S., HERSHEY J.W., HARDY M.E. The genome-linked protein VPg of the Norwalk virus binds eIF3, suggesting its role in translation initiation complex recruitment. *EMBO J.*, 2003, **22**, 2852-2859.
- DAUGHENBAUGH K.F., WOBUS C.E., HARDY M.E. VPg of murine norovirus binds translation initiation factors in infected cells. *BMC Virol. J.*, 2006, **3**, 33.
- DENG Y., BATTEN C.A., LIU B.L., LAMB DEN P.R., ELSCHNER M., GUNTHER H., OTTO P., SCHNURCH P., EICHHORN W., HERBST W., CLARKE I.N. Studies of epidemiology and seroprevalence of bovine noroviruses in Germany. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 2300-2305.
- DOEDENS J.R., GIDDINGS T.H., JR., KIRKEGAARD K. Inhibition of endoplasmic reticulum-to-Golgi traffic by poliovirus protein 3A : genetic and ultrastructural analysis. *J. Virol.*, 1997, **71**, 9054-9064.
- DOLIN R., BLACKLOW N.R., DUPONT H. Biological properties of the Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1972, **140**, 578-583.
- DUIZER E., BIJKERK P., ROCKX B., DE GROOT A., TWISK F., KOOPMANS M. Inactivation of caliciviruses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004a, **70**, 4538-4543.
- DUIZER E., SCHWAB K.J., NEILL F.H., ATMAR R.L., KOOPMANS M.P., ESTES M.K. Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J. Gen. Virol.*, 2004b, **85**, 79-87.
- ERDMAN D.D., GARY G.W., ANDERSON L.J. Serum immunoglobulin A response to Norwalk virus infection. *J. Clin. Microbiol.*, 1989, **27**, 1417-1418.
- ESTES M.K., BALL J.M., GUERRERO R.A., OPEKUN A.R., GILGER M.A., PACHECO S.S., GRAHAM D.Y. Norwalk virus vaccines : challenges and progress. *J. Infect. Dis.*, 2000, **181 Suppl 2**, S367-S373.
- ETTAYEBI K., HARDY M.E. Norwalk virus nonstructural protein p48 forms a complex with the SNARE regulator VAP-A and prevents cell surface expression of vesicular stomatitis virus G protein. *J. Virol.*, 2003, **77**, 11790-11797.
- FERNANDEZ-VEGA V., SOSNOVTSEV S.V., BELLIOU G., KING A.D., MITRA T., GORBALENYA A., GREEN K.Y. Norwalk virus N-terminal nonstructural protein is associated with disassembly of the Golgi complex in transfected cells. *J. Virol.*, 2004, **78**, 4827-4837.
- GLASS P.J., WHITE L.J., BALL J.M., LEPARC-GOFFART I., HARDY M.E., ESTES M.K. Norwalk virus open reading frame 3 encodes a minor structural protein. *J. Virol.*, 2000, **74**, 6581-6591.
- GOLLER J.L., DIMITRIADIS A., TANA., KELLY H., MARSHALL J.A. Long-term features of norovirus gastroenteritis in the elderly. *J. Hosp. Infect.*, 2004, **58**, 286-291.
- GOODALL J.F. The winter vomiting disease; a report from general practice. *Br. Med. J.*, 1954, **1**, 197-198.
- GRAHAM D.Y., JIANG X., TANAKA T., OPEKUN A.R., MADORE H.P., ESTES M.K. Norwalk virus infection of volunteers : new insights based on improved assays. *J. Infect. Dis.*, 1994, **170**, 34-43.
- GRANZOW H., SCHIRRMIEIER H. Electron microscopy for direct detection of 32-nm viral particles in faeces of calves with diarrhoea. *Mh. Vet. Med.*, 1985, **40**, 228-229.
- GREEN K.Y., ANDO T., BALAYAN M.S., BERKE T., CLARKE I.N., ESTES M.K., MATSON D.O., NAKATA S., NEILL J.D., STUDDERT M.J., THIEL H.J. Taxonomy of the caliciviruses. *J. Infect. Dis.*, 2000, **181 Suppl 2**, S322-S330.
- GREEN K.Y., CHANOCK R.M., KAPIKIAN A.Z. Human caliciviruses. In : Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), *Fields Virology*. Vol. 1. Lippincott, Williams and Wilkins : Philadelphia, 2001, 841-874.
- GREEN K.Y., MORY A., FOGG M.H., WEISBERG A., BELLIOU G., WAGNER M., MITRA T., EHRENFELD E., CAMERON C.E., SOSNOVTSEV S.V. Isolation of enzymatically active replication complexes from feline calicivirus-infected cells. *J. Virol.*, 2002, **76**, 8582-8595.
- GUERRERO R.A., BALL J.M., KRATER S.S., PACHECO S.E., CLEMENTS J.D., ESTES M.K. Recombinant Norwalk virus-like particles administered intranasally to mice induce systemic and

- mucosal (fecal and vaginal) immune responses. *J. Virol.*, 2001, **75**, 9713-9722.
- GUNTHER H., OTTO P., HEILMANN P. Diarrhoea in young calves. 6. Detection and pathogenicity of a bovine coronavirus and an unidentified icosahedric virus. *Arch. Exp. Veterinarmed.*, 1984, **38**, 781-792.
- GUNTHER H., OTTO P. Studies on diarrhoea in young calves. 7. Serrated virus (Jena-Agent 117/80): a new diarrhoea pathogen in calves. *Arch. Exp. Veterinarmed.*, 1987, **41**, 934-938.
- GUTIERREZ-ESCOLANO A.L., BRITO Z.U., DEL A.R., JIANG X. Interaction of cellular proteins with the 5' end of Norwalk virus genomic RNA. *J. Virol.*, 2000, **74**, 8558-8562.
- HAN M.G., SMILEY J.R., THOMAS C., SAIF L.J. Genetic recombination between two genotypes of genogroup III bovine noroviruses (BoNVs) and capsid sequence diversity among BoNVs and Nebraska-like bovine enteric caliciviruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, 5214-5224.
- HAN M.G., WANG Q., SMILEY J.R., CHANG K.O., SAIF L.J. Self-assembly of the recombinant capsid protein of a bovine norovirus (BoNV) into virus-like particles and evaluation of cross-reactivity of BoNV with human noroviruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, **43**, 778-785.
- HAN M.G., CHEETHAM S., AZEVEDO M., THOMAS C., SAIF L.J. Immune responses to bovine norovirus-like particles with various adjuvants and analysis of protection in gnotobiotic calves. *Vaccine*, 2006, **24**, 317-326.
- HERBERT T.P., BRIERLEY I., BROWN T.D. Identification of a protein linked to the genomic and subgenomic mRNAs of feline calicivirus and its role in translation. *J. Gen. Virol.*, 1997, **78**, 1033-1040.
- HUANG P., FARKAS T., MARIONNEAU S., ZHONG W., RUVOEN-CLOUET N., MORROW A.L., ALTAYE M., PICKERING L.K., NEWBURG D.S., LEPENDU J., JIANG X. Noroviruses bind to human ABO, Lewis, and secretor histo-blood group antigens: identification of 4 distinct strain-specific patterns. *J. Infect. Dis.*, 2003, **188**, 19-31.
- HUTSON A.M., ATMAR R.L., GRAHAM D.Y., ESTES M.K. Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type. *J. Infect. Dis.*, 2002, **185**, 1335-1337.
- HUTSON A.M., AIRAUD F., LEPENDU J., ESTES M.K., ATMAR R.L. Norwalk virus infection associates with secretor status genotyped from sera. *J. Med. Virol.*, 2005, **77**, 116-120.
- IKE A.C., ROTH B.N., BOHM R., PFITZNER A.J., MARSCHANG R.E. Identification of bovine enteric Caliciviruses (BEC) from cattle in Baden-Wuerttemberg. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 2007, **114**, 12-15.
- JAASKELAINEN A.J., MAUNULA L. Applicability of microarray technique for the detection of noro- and astroviruses. *J. Virol. Methods*, 2006, **136**, 210-216.
- JIANG X., WANG J., GRAHAM D.Y., ESTES M.K. Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1992a, **30**, 2529-2534.
- JIANG X., WANG M., GRAHAM D.Y., ESTES M.K. Expression, self-assembly, and antigenicity of the Norwalk virus capsid protein. *J. Virol.*, 1992b, **66**, 6527-6532.
- JIANG X., WANG M., WANG K., ESTES M.K. Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology*, 1993, **195**, 51-61.
- JOHNSON P.C., MATHEWSON J.J., DUPONT H.L., GREENBERG H.B. Multiple-challenge study of host susceptibility to Norwalk gastroenteritis in US adults. *J. Infect. Dis.*, 1990, **161**, 18-21.
- KAPIKIAN A.Z., WYATT R.G., DOLIN R., THORNHILL T.S., KALICA A.R., CHANOCK R.M. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol.*, 1972, **10**, 1075-1081.
- KAPIKIAN A.Z. The discovery of the 27-nm Norwalk virus: an historic perspective. *J. Infect. Dis.*, 2000, **181 Suppl 2**, S295-S302.
- KARST S.M., WOBUS C.E., LAY M., DAVIDSON J., VIRGIN H.W. STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science*, 2003, **299**, 1575-1578.
- KOHLI E., BON F., BALAY K., POTHIER P. Les calicivirus humains, une cause majeure de gastro-entérites aiguës. *Virologie*, 2005, **9**, 93-106.
- KUYUMCU-MARTINEZ M., BELLIOU G., SOSNOVTSEV S.V., CHANG K.O., GREEN K.Y., LLOYD R.E. Calicivirus 3C-like proteinase inhibits cellular translation by cleavage of poly(A)-binding protein. *J. Virol.*, 2004, **78**, 8172-8182.
- LARSSON M.M., RYDELL G.E., GRAHN A., RODRIGUEZ-DIAZ J., AKERLIND B., HUTSON A.M., ESTES M.K., LARSON G., SVENSSON L. Antibody prevalence and titer to norovirus (genogroup II) correlate with secretor (FUT2) but not with ABO phenotype or Lewis (FUT3) genotype. *J. Infect. Dis.*, 2006, **194**, 1422-1427.
- LE GUYADER F., LOISY F., ATMAR R.L., HUTSON A.M., ESTES M.K., RUVOEN-CLOUET N., POMMEPUY M., LEPENDU J. Norwalk virus-specific binding to oyster digestive tissues. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, **12**, 931-936.
- LEW J.F., KAPIKIAN A.Z., VALDESUSO J., GREEN K.Y. Molecular characterization of Hawaii virus and other Norwalk-like viruses: evidence for genetic polymorphism among human caliciviruses. *J. Infect. Dis.*, 1994, **170**, 535-542.
- LINDESMITH L., MOE C., LEPENDU J., FRELINGER J.A., TREANOR J., BARIC R.S. Cellular and humoral immunity following Snow Mountain virus challenge. *J. Virol.*, 2005, **79**, 2900-2909.
- LIU B., CLARKE I.N., LAMBDEN P.R. Polyprotein processing in Southampton virus: identification of 3C-like protease cleavage sites by in vitro mutagenesis. *J. Virol.*, 1996, **70**, 2605-2610.
- LIU B.L., LAMBDEN P.R., GUNTHER H., OTTO P., ELSCHNER M., CLARKE I.N. Molecular characterization of a bovine enteric calicivirus:

- relationship to the Norwalk-like viruses. *J. Virol.*, 1999a, **73**, 819-825.
- LIU B.L., VILJOEN G.J., CLARKE I.N., LAMBDEN P.R. Identification of further proteolytic cleavage sites in the Southampton calicivirus polyprotein by expression of the viral protease in *E. coli*. *J. Gen. Virol.*, 1999b, **80**, 291-296.
- LOCHRIDGE V.P., HARDY M.E. Snow Mountain virus genome sequence and virus-like particle assembly. *Virus Genes*, 2003, **26**, 71-82.
- LOCHRIDGE V.P., JUTILA K.L., GRAFF J.W., HARDY M.E. Epitopes in the P2 domain of norovirus VP1 recognized by monoclonal antibodies that block cell interactions. *J. Gen. Virol.*, 2005, **86**, 2799-2806.
- LOISY F., ESTES M.K., KOOPMANS M., LE GUYADER F. Les norovirus humains : du nouveau ? *Virologie*, 2004, **8**, 435-443.
- MAKITA K., HAYAKAWA Y., OKAME M., HOMMA K., PHAN T.G., OKITSU S., USHIJIMA H. First detection of IgA against norovirus in breast milk. *Clin. Lab.*, 2007, **53**, 125-128.
- MARIONNEAU S., CAILLEAU-THOMAS A., ROCHER J., LE MOULLAC-VAIDYE B., RUVOEN N., CLEMENT M., LE PENDU J. ABH and Lewis histo-blood group antigens, a model for the meaning of oligosaccharide diversity in the face of a changing world. *Biochimie*, 2001, **83**, 565-573.
- MARIONNEAU S., RUVOEN N., LE MOULLAC-VAIDYE B., CLEMENT M., CAILLEAU-THOMAS A., RUIZ-PALACOIS G., HUANG P., JIANG X., LE PENDU J. Norwalk virus binds to histo-blood group antigens present on gastroduodenal epithelial cells of secretor individuals. *Gastroenterology*, 2002, **122**, 1967-1977.
- MARTELLA V., CAMPOLO M., LORUSSO P., CAVICCHIO P., CAMERO M., BELLACICCO A.L., DECARO N., ELIA G., GRECO G., CORRENTE M., DESARIO C., ARISTA S., BANYAI K., KOOPMANS M., BUONAVOGLIA C. Norovirus in captive lion cub (*Panthera leo*). *Emerg. Infect. Dis.*, 2007, **13**, 1071-1073.
- MATSUI S.M., GREENBERG H.B. Immunity to calicivirus infection. *J. Infect. Dis.*, 2000, **181 Suppl 2**, S331-S335.
- MATTISON K., SHUKLA A., COOK A., POLLARI F., FRIENDSHIP R., KELTON D., BIDAWID S., FARBER M. Human noroviruses in swine and cattle. *Emerg. Infect. Dis.*, 2007, **13**, 1184-1188.
- MATTNER F., SOHR D., HEIM A., GASTMEIER P., VENNEMA H., KOOPMANS M. Risk groups for clinical complications of norovirus infections: an outbreak investigation. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2006, **12**, 69-74.
- MAUROY A., SCIPIONI A., SAEGERMAN C., MAST J., ZIANT D., RUTH N., THIRY E. Production de pseudoparticules de norovirus humains et bovin et leur utilisation diagnostique (communication affichée). In : IXèmes Journées francophones de Virologie, Institut Pasteur, Paris, France, 2007, S42-S43.
- MAYO M.A. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. *Arch. Virol.*, 2002, **147**, 1655-1663.
- MILNES A.S., BINNS S.H., OLIVER S.L., BRIDGER J.C. Retrospective study of noroviruses in samples of diarrhoea from cattle, using the Veterinary Laboratories Agency's Farmfile database. *Vet. Rec.*, 2007, **160**, 326-330.
- NG K.K., PENDAS-FRANCO N., ROJO J., BOGA J.A., MACHIN A., ALONSO J.M., PARRA F. Crystal structure of norwalk virus polymerase reveals the carboxyl terminus in the active site cleft. *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**, 16638-16645.
- OLIVER S.L., BROWN D.W., GREEN J., BRIDGER J.C. A chimeric bovine enteric calicivirus : evidence for genomic recombination in genogroup III of the Norovirus genus of the Caliciviridae. *Virology*, 2004, **326**, 231-239.
- OLIVER S.L., ASOBAYIRE E., CHARPILLENNE A., COHEN J., BRIDGER J.C. Complete genomic characterization and antigenic relatedness of genogroup III, genotype 2 bovine noroviruses. *Arch. Virol.*, 2006a, **152**, 257-272.
- OLIVER S.L., BATTEN C.A., DENG Y., ELSCHNER M., OTTO P., CHARPILLENNE A., CLARKE I.N., BRIDGER J.C., LAMBDEN P.R. Genotype 1 and genotype 2 bovine noroviruses are antigenically distinct but share a cross-reactive epitope with human noroviruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2006b, **44**, 992-998.
- PARK S.I., JEONG C., KIM H.H., PARK S.H., PARK S.J., HYUN B.H., YANG D.K., KIM S.K., KANG M.I., CHO K.O. Molecular epidemiology of bovine noroviruses in South Korea. *Vet. Microbiol.*, 2007, **124**, 125-133.
- PFISTER T., WIMMER E. Polypeptide p41 of a Norwalk-like virus is a nucleic acid-independent nucleoside triphosphatase. *J. Virol.*, 2001, **75**, 1611-1619.
- PRASAD B.V., ROTHNAGEL R., JIANG X., ESTES M.K. Three-dimensional structure of baculovirus-expressed Norwalk virus capsids. *J. Virol.*, 1994, **68**, 5117-5125.
- PRASAD B.V., HARDY M.E., DOKLAND T., BELLA J., ROSSMANN M.G., ESTES M.K. X-ray crystallographic structure of the Norwalk virus capsid. *Science*, 1999, **286**, 287-290.
- ROCKX B., DE WIT M., VENNEMA H., VINJE J., DE BRUIN E., VAN DUYNHOVEN Y., KOOPMANS M. Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis.*, 2002, **35**, 246-253.
- ROHAYEM J., MUNCH J., RETHWILM A. Evidence of recombination in the norovirus capsid gene. *J. Virol.*, 2005, **79**, 4977-4990.
- RZEZUTKA A., COOK N. Survival of human enteric viruses in the environment and food. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2004, **28**, 441-453.
- SCHEFFLER U., RUDOLPH W., GEBHARDT J., ROHAYEM J. Differential cleavage of the norovirus polyprotein precursor by two active forms of the viral protease. *J. Gen. Virol.*, 2007, **88**, 2013-2018.
- SCIPIONI A., BOURGOT I., ZIANT

- D., CZAPLICKI G., DE MOL P., LOMBA M., DAUBE G., THIRY E. Genetic relationships between caliciviruses isolated in bovine species in Belgium, other bovine caliciviruses and human noroviruses based on polymerase and capsid partial sequences. In : Second International Calicivirus Conference, Dijon, France, 2004, 67.
- SCIPIONI A., BOURGOT I., MAUROY A., ZIANT D., SAEGERMAN C., DAUBE G., THIRY E. Detection and quantification of human and bovine noroviruses by a TaqMan RT-PCR assay with a control for inhibition. *Mol. Cell. Probes*, 2008a, in press.
- SCIPIONI A., MAUROY A., VINJE J., THIRY E. Animal Noroviruses. *Vet. J.*, 2008b, in press.
- SMILEY J.R., HOET A.E., TRAVEN M., TSUNEMITSU H., SAIF L.J. Reverse transcription-PCR assays for detection of bovine enteric caliciviruses (BEC) and analysis of the genetic relationships among BEC and human caliciviruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 3089-3099.
- SOMEYA Y., TAKEDA N., MIYAMURA T. Characterization of the norovirus 3C-like protease. *Virus Res.*, 2005, **110**, 91-97.
- SOUZA M., AZEVEDO M.S.P., JUNG K., CHEETHAM S., SAIF L.J. Pathogenesis and immune response in gnotobiotic calves after infection with human norovirus (HuNoV) genogroup II.4-HS66 strain. *J. Virol.*, 2008, **82**, 1777-1786.
- STRAUB T.M., BENTRUP K.H.Z., OROSZ-COGLAN P., DOHNALKOVA A., MAYER B.K., BARTHOLOMEW R.A., VALDEZ C.O., BRUCKNER-LEA C.J., GERBA C.P., ABBASZADEGAN M., NICKERSON C.A. In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg. Infect. Dis.*, 2007, **13**, 396-403.
- SUGIEDA M., NAGAOKA H., KAKISHIMA Y., OHSHITA T., NAKAMURA S., NAKAJIMA S. Detection of Norwalk-like virus genes in the caecum contents of pigs. *Arch. Virol.*, 1998, **143**, 1215-1221.
- SUGIEDA M., NAKAJIMA S. Viruses detected in the caecum contents of healthy pigs representing a new genetic cluster in genogroup II of the genus "Norwalk-like viruses". *Virus Res.*, 2002, **87**, 165-172.
- TACKET C.O., SZTEIN M.B., LOSONSKY G.A., WASSERMAN S.S., ESTES M.K. Humoral, mucosal, and cellular immune responses to oral Norwalk virus-like particles in volunteers. *Clin. Immunol.*, 2003, **108**, 241-247.
- TAN M., HEGDE R.S., JIANG X. The P domain of norovirus capsid protein forms dimer and binds to histo-blood group antigen receptors. *J. Virol.*, 2004, **78**, 6233-6242.
- TAN M., JIANG X. The p domain of norovirus capsid protein forms a subviral particle that binds to histo-blood group antigen receptors. *J. Virol.*, 2005a, **79**, 14017-14030.
- TAN M., JIANG X. Norovirus and its histo-blood group antigen receptors : an answer to a historical puzzle. *Trends Microbiol.*, 2005b, **13**, 285-293.
- THIRY E., MEURENS F., MUYLKENS B., MCVOY M., GOGEV S., THIRY J., VANDERPLASSCHEN A., EPSTEIN A., KEIL G., SCHYNTS F. Recombination in alphaherpesviruses. *Rev. Med. Virol.*, 2005, **15**, 89-103.
- VAN DER POEL W.H., VAN DER HEIDE R., VERSCHOOR F., GELDERBLOM H., VINJE J., KOOPMANS M.P. Epidemiology of Norwalk-like virus infections in cattle in The Netherlands. *Vet. Microbiol.*, 2003, **92**, 297-309.
- VINJE J., VENNEMA H., MAUNULA L., VON BONSDORFF C., HOEHNE M., SCHREIER E., RICHARDS A., GREEN J., BROWN D., BEARD S.S., MONROE S.S., DE BRUIN E., SVENSSON L., KOOPMANS M.P. International collaborative study to compare reverse transcriptase PCR assays for detection and genotyping of noroviruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 1423-1433.
- WIDDOWSON M. A., SULKA A., BULENS S.N. BEARD R.S., CHAYES S.S., HAMMOND R., SALEHI E.D., SWANSON E., TOTARO J., WORON R., MEAD P.S., BRESEE J.S., MONROE S.S., GLASS R.I. Norovirus and foodborne disease, United States, 1991-2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 95-102.
- WISE A.G., MONROE S.S., HANSON L.E., GROOMS D.L., SOCKETT D., MAES R.K. Molecular characterization of noroviruses detected in diarrhetic stools of Michigan and Wisconsin dairy calves : circulation of two distinct subgroups. *Virus Res.*, 2004, **100**, 165-177.
- WOBUS C.E., KARST S.M., THACKRAY L.B., CHANG K.O., SOSNOVTSEV S.V., BELLIO G., KRUG A., MACKENZIE J.M., GREEN K.Y., VIRGIN H.W. Replication of norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. *PLoS Biol.*, 2004, **2**, e432.
- WOLF S., WILLIAMSON W.M., HEWITT J., RIVERA-ABAN M., LIN S., BALL A., SCHOLTS P., GREENING G.E. A sensitive multiplex real-time RT-PCR assay for the detection of human and animal noroviruses in clinical and environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, **73**, 5464-5470.
- WOODE G.N., BRIDGER J.C. Isolation of small viruses resembling astroviruses and caliciviruses from acute enteritis of calves. *J. Med. Microbiol.*, 1978, **11**, 441-452.
- YAMAMOTO F., YAMAMOTO M. Molecular genetic basis of porcine histo-blood group AO system. *Blood*, 2001, **97**, 3308-3310.
- YODA T., SUZUKI Y., TERANO Y., YAMAZAKI K., SAKON N., KUZUGUCHI T., ODA H., TSUKAMOTO T. Precise characterization of norovirus (Norwalk-like virus)-specific monoclonal antibodies with broad reactivity. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 2367-2371.
- ZAHORSKY J. Hyperemesis hiemis or the winter vomiting disease. *Arch. Pediatr.*, 1929, **46**, 391-395.
- ZHENG D.P., ANDO T., FANKHAUSER R.L., BEARD R.S., GLASS R.I., MONROE S.S. Norovirus classification and proposed strain nomenclature.