

# Rapportering voor het jaar 2015

## Referentiecentrum voor NOROVIRUS.

### Coördinator referentiecentrum

<b>Naam: N. Botteldoorn</b>	<b>Instelling: WIV</b>	<b>Straat: J. Wijtsmanstraat</b>	<b>Stad: Brussel</b>
<b>Tel 02 642 51 83</b>	<b>Fax: 02 642 52 40</b>	<b>Email: Nadine.Botteldoorn@wiv-isp.be</b>	

Geassocieerd laboratorium : niet van toepassing

### 1. Korte samenvatting van de voornaamste bevindingen 2015:

In 2015 werden er aan het NRC 108 uitbraken gemeld met Norovirus als vermoedelijk oorzakelijk agens en met in totaal minstens 859 zieken. In 73 uitbraken kon Norovirus bevestigd worden (68%). Voor 43 uitbraken werd de Norovirus genogroep en genotype bepaald door verdere typering via sequenering. Norovirus genogroup GI werd in 4 uitbraken gedetecteerd, genogroep GII in 27 uitbraken, in 6 uitbraken werden beide gedetecteerd. In 7 uitbraken kon de genogroep niet worden bepaald.

In 2015 waren er 2 meldingen van vermoedelijke Norovirus uitbraken waar voeding bij betrokken was, maar waarbij Norovirus niet in de voeding kon worden aangetoond enkel bij de zieken. In deze voedselgebonden uitbraken was de voornaamste transmissie route humaan-voeding-humaan. De meldingen van Norovirus kwamen voornamelijk vanuit ziekenhuizen waarbij ambulante individuele personen met symptomen van een gastro-enteritis werden bemonsterd. In 46 uitbraken werd slechts een staal doorgestuurd waarvoor in 31 Norovirus gedetecteerd werd in de faeces. In 2015 is het nog steeds voornamelijk Norovirus GII.4 (Sydney 2012) die circuleert welke voor het eerst werd waargenomen in september 2012 (van Beek et al., 2013). Tijdens de wintermaanden worden er vooral meer stalen doorgestuurd naar het NRC in vergelijking met de zomermaanden. Het Norovirus genotype GII.17 wordt sinds september ook in 3 uitbraken teruggevonden.

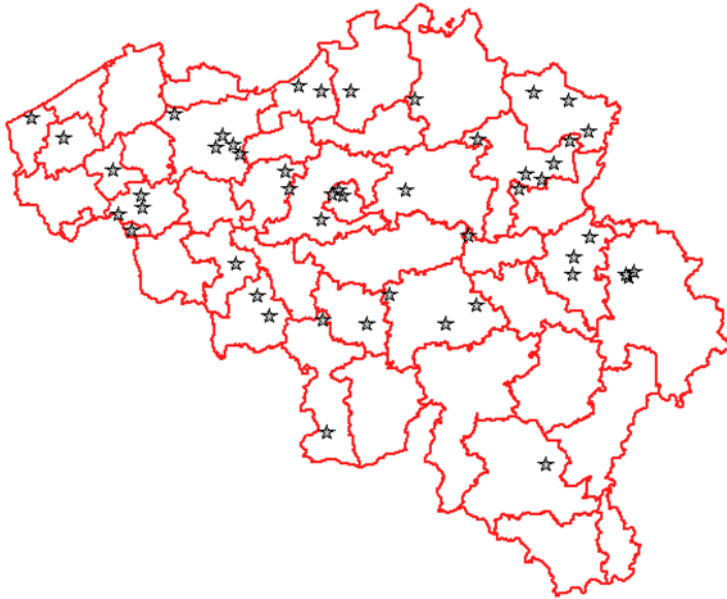
### 2. Overzicht van de activiteiten:

#### 2.1 Norovirus detectie

Er waren in totaal 108 meldingen van een mogelijke Norovirus uitbraak in residentiële instellingen en van sporadische gevallen met duidelijke symptomen van een gastro-enteritis. In 74 uitbraken kon Norovirus worden bevestigd (66%) via moleculaire detectie van Norovirus in de faeces. Voor de uitbraken die niet konden bevestigd worden als Norovirus infecties (37), waren deze vooral afkomstig van individuele gevallen waarbij slechts één staal werd doorgestuurd voor detectie (47%). Toch werden er ook 7 uitbraken gemeld waarbij meerdere stalen werden ontvangen maar waarbij we geen Norovirus hebben kunnen detecteren.

In 2015 werden 2 uitbraken gemeld waarbij voeding wellicht was betrokken (een buffetmaaltijd en een vlees salade). In de voeding kon Norovirus niet worden aangetoond maar uit de epidemiologische bevraging is het duidelijk dat de transmissie hierbij humaan-voeding-humaan was.

Figuur 1: de spreiding van het voorkomen van Norovirus in België in 2015



In totaal werden er 273 stalen geanalyseerd voor de detectie van Norovirus. Er werden 162 stalen toegezonden naar het NRC Norovirus in kader van onze NRC activiteit voor de detectie of de bevestiging van Norovirus uitgevoerd in de klinische laboratoria. Anderzijds werden er door het NRC Norovirus ook 111 stalen geanalyseerd in het kader van collectieve uitbraken gemeld aan de gemeenschappen (Zorg en gezondheid en CFWB).

In 54.3% van de stalen had het klinisch laboratorium een eerste diagnostische test uitgevoerd via PCR of een immunologische antigenetest (Tabel 1). In 29.3% van de faecesstalen werd een immunologische test uitgevoerd. In 2 van de 48 stalen werd een positief resultaat gemeld voor de antigenetest, in 1 geval kon dit niet via qPCR worden bevestigd. In 21 van de 46 stalen, die immunologisch negatief waren, werd Norovirus alsnog aangetoond via qPCR. Op 33.9% van de faecesstalen werd er een PCR uitgevoerd door het klinisch laboratorium (real-time PCR, film array, biofire), maar dit slechts door 3 klinische laboratoria. In 27 van de totaal 31 positieve PCR stalen kon het PCR resultaat worden bevestigd door het NRC. Bij 4 stalen kon Norovirus niet bevestigd worden door de verschillende gebruikte qPCR methoden binnen het NRC. In deze 4 stalen werd de film array gebruikt als eerste diagnostische test. Bij 1 staal werd Sapovirus gedetecteerd de andere 3 stalen waren negatief. De reden voor het niet bevestigen van het laboratorium resultaat kan enerzijds te wijten zijn aan een vals positief bekomen met de bepaalde commerciële kit gebruikt in het specifieke laboratorium of anderzijds door een lagere gevoeligheid van de qPCR methoden gebruikt in het NRC in vergelijking met deze gebruikt in het klinisch laboratorium.

In 25% van de qPCR negatieve stalen tijdens de eerste diagnose door het klinisch laboratorium werd door het NRC alsnog de aanwezigheid van Norovirus aangetoond.

De serologische kits zijn minder gevoelig dan de qPCR detectiekits, maar bij een uitbraak kunnen ze zeker verder worden ingezet om Norovirus aan te tonen gezien de hogere concentratie Norovirus in de stoelgang tijdens een uitbraak.

Tabel 1: overzicht van de gebruikte diagnostische testen door de klinische laboratoria en de bevestigingen door het NRC

		Bevestiging door PCR (NRC Norovirus)	
		pos	neg
Immuno assay	Pos (2)	1	1
	Neg (46)	21	25
	Niet uitgevoerd (114)	55	59
PCR assay	Pos (31)	27	4
	Neg (24)	6	18
	Niet uitgevoerd (107)	44	63

In 2015 heeft het NRC ook deelgenomen aan het BILULU project dr Stijn Jonckheere. Hierbij werden tijdens de periode november 2014-januari 2015 in 6 verschillende ziekenhuizen verspreid in Vlaanderen systematisch stalen van slappe tot vloeibare stoelgang geanalyseerd via een immunologisch sneltest en door een PCR detectiemethode. In totaal waren er 110 stalen PCR positief. Het RNA werd doorgestuurd naar het NRC Norovirus om het variant type te bepalen via sequenering. Echter in 18 stalen waarbij de antigen test positief was kon dit niet worden bevestigd via PCR door het klinisch laboratorium. In het NRC laboratorium werd in 3 van deze stalen Norovirus aangetoond met de Ridagene Norovirus detectie kit en in 9/18 stalen kon Norovirus wel gedetecteerd worden via de PCR methode die gebruikt wordt om de polymerase regio te sequencen. Een mutatie ter hoogte van primers gebruikt in de commerciële detectie kits (ORF1-ORF2) is waarschijnlijk de reden voor dit vals negatief resultaat. In 2013 werd dit fenomeen reeds waargenomen in het NRC Norovirus. Een detectie gericht op meerdere merkers zou hierbij een oplossing kunnen bieden.

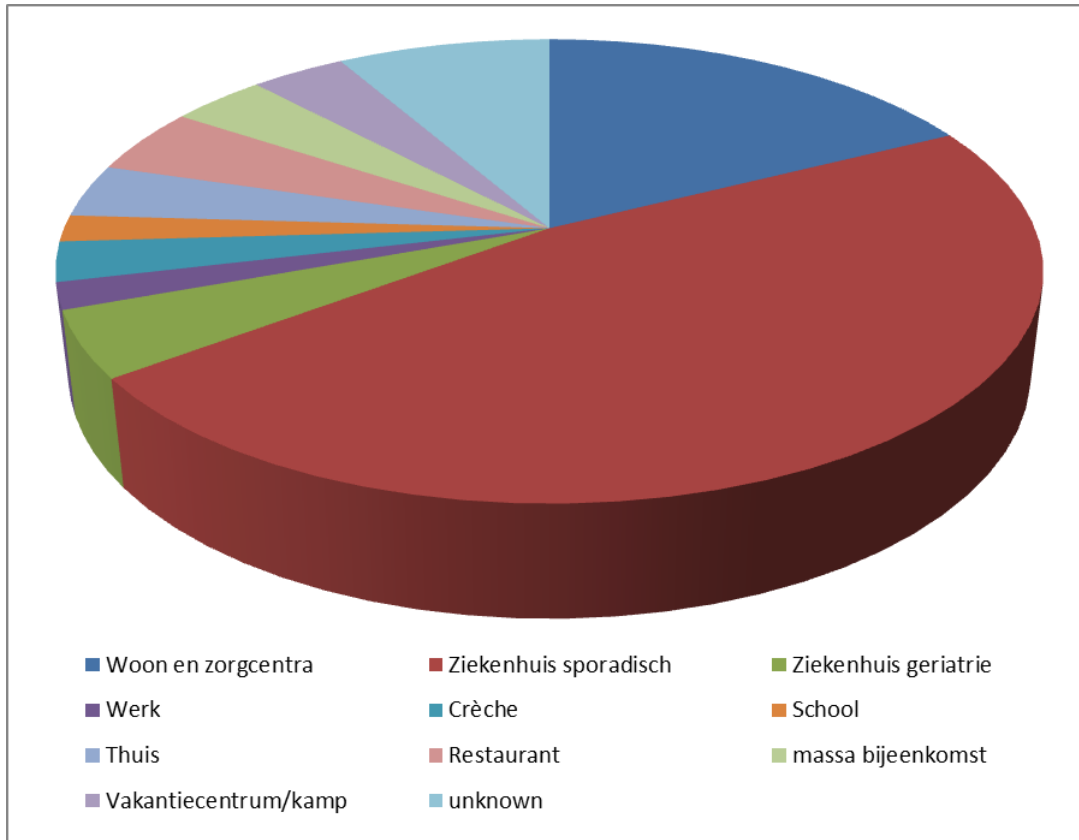
Van de in totaal 108 gemelde uitbraken gebeurde de Norovirus transmissie voornamelijk van persoon tot persoon. De symptomen waren vooral braken in combinatie met diarree. Figuur 2 en tabel 2 geven een overzicht van de plaats van de blootstelling aan Norovirus. De meldingen kwamen hoofdzakelijk vanuit ziekenhuizen en ook van rust- en verzorgingstehuizen (69%). Het NRC kreeg 3 meldingen van een Norovirus uitbraak in een crèche, slechts in één uitbraak werd Norovirus aangetoond terwijl het in een andere Sapovirus betrof. Er waren ook 2 meldingen van uitbraken op een school waar Norovirus werd teruggevonden in 9/11 doorgestuurde stoelgangstalen. Er waren ook 4 Norovirus meldingen waarbij kinderen ziek werden tijdens een jeugdverblijf of kamp. Bij 9 meldingen werd de blootstellingsplaats niet meegedeeld. Van de meldingen vanuit ziekenhuizen (56) betrof het in 5 uitbraken een melding uit de geriatrie afdeling, in 46 meldingen betrof het ambulante gevallen telkens van één persoon die de typische symptomen had van een gastro-enteritis.

Er wordt een lager aantal gerapporteerde en bevestigde uitbraken waargenomen tijdens de zomermaanden.

Tabel 2 : De plaats van de blootstelling aan Norovirus

plaats	Aantal meldingen
Woon- en zorgcentra	19
Ziekenhuis sporadisch	51
Ziekenhuis geriatrie	5
Werk	2
Crèche	3
School	2
Thuis	4

Restaurant	5
massa bijeenkomst	4
Vakantiecentrum/kamp	4
Niet gekend	9

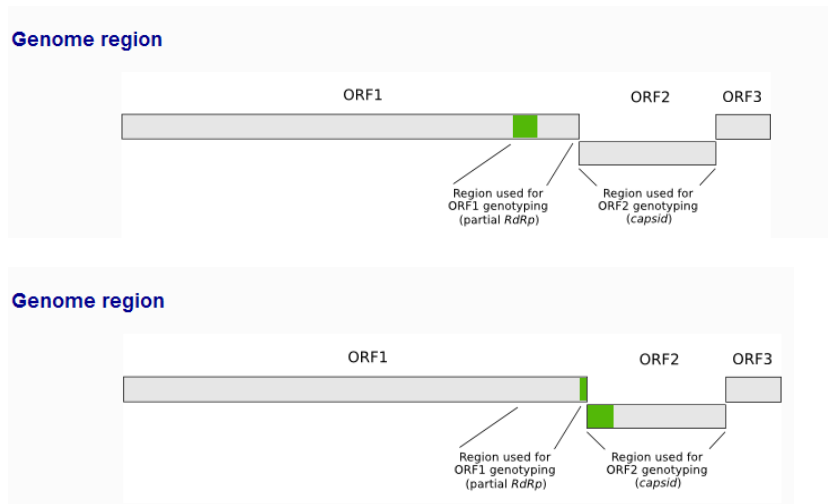


Figuur 2: Plaats van de blootstelling aan Norovirus

## 2.2 Norovirus genotyperingen

Het doel van de variant bepaling is om positieve Norovirus stalen verder moleculair te typeren via sequenering. Op deze manier kan de verspreiding en evolutie van Norovirus in kaart worden gebracht. Hiervoor werden twee differentiërende regio's van het NoV-genoom gesequeneerd.

Het genoom van Norovirus wordt gecodeerd door 3 open reading frames: ORF1 (polymerase), ORF2 (major capsid, VP1) en ORF3 (minor capsid, VP2). De genotypische en variantindeling wordt mogelijk gemaakt door de sequenering en bioinformatische homologieanalyse van verschillende regio's in het polymerase of in het voornaamste capsid eiwit.



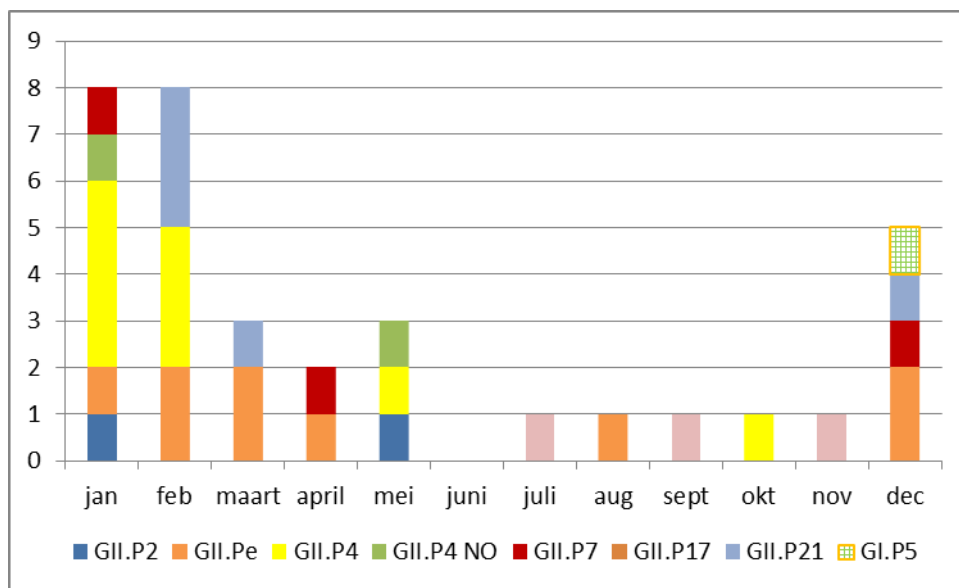
Figuur 3: Schematische voorstelling van de ligging van de genomische reregio's die gebruikt worden voor genotypering van Norovirus (Vinjé *et al* 2004).

Per uitbraak wordt er minstens één positief staal gebruikt voor het bepalen van het genotype en indien beschikbaar het variant type.

Voor 37 uitbraken werden het genotype en de variant bepaald, voor de andere uitbraken was de concentratie aan Norovirus te laag om een voldoende intense amplificatieband te bekomen om er een correcte sequencerig op uit te voeren.

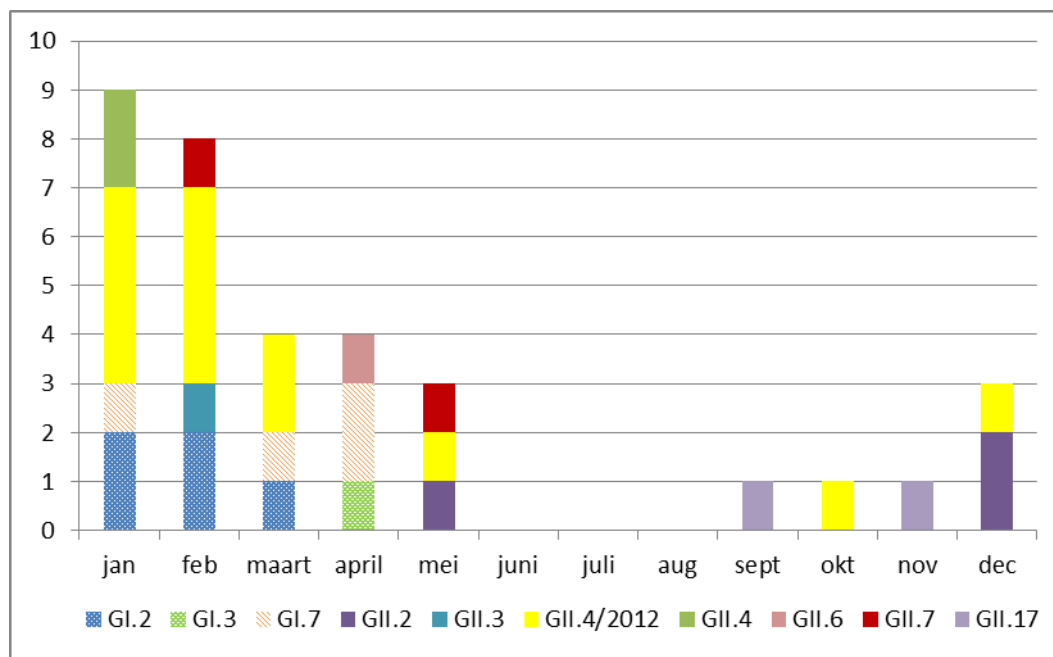
Op basis van polymorfismen gedetecteerd in het polymerase gen circuleerden er in 2015 8 verschillende genotypes in België (figuur 4) binnen de genogroep GII. Binnen genogroep GI werd er 1 genotype, namelijk GI.P5, gedetecteerd.

GII.P4 en GII.Pe waren de twee meest voorkomende genotypes in 11 en 9 uitbraken, respectievelijk. Ook het genotype GII.P21 is een veel voorkomend genotype (5)



Figuur 4 : voorkomen van de verschillende genotypes op basis van het polymerase gen

Ook op basis van polymorfismen gedetecteerd in het capside gen worden 8 verschillende genotypes binnen genogroep GII onderscheiden in België in 2015 (figuur 5). In totaal worden 3 verschillende genotypes onderscheiden voor genogroep GI. Het aantal bevestigingen van uitbraken op basis van de sequenering van het capside en polymerase gen is respectievelijk in 32 uitbraken en 31 uitbraken. Vorig jaar was er een heel groot verschil in dit aantal met dubbel zoveel bevestigde uitbraken op basis van het polymerase gen in vergelijking met het capside gen waarbij de mogelijke oorzaak gedacht werd aan eventuele mutaties ter hoogte van de primers gebruikt voor de amplificatie van de capside regio. Binnen het genotype GII.4 wordt vooral de nieuwe variant GII.4|Sydney 2012 gedetecteerd ter hoogte van het capside.

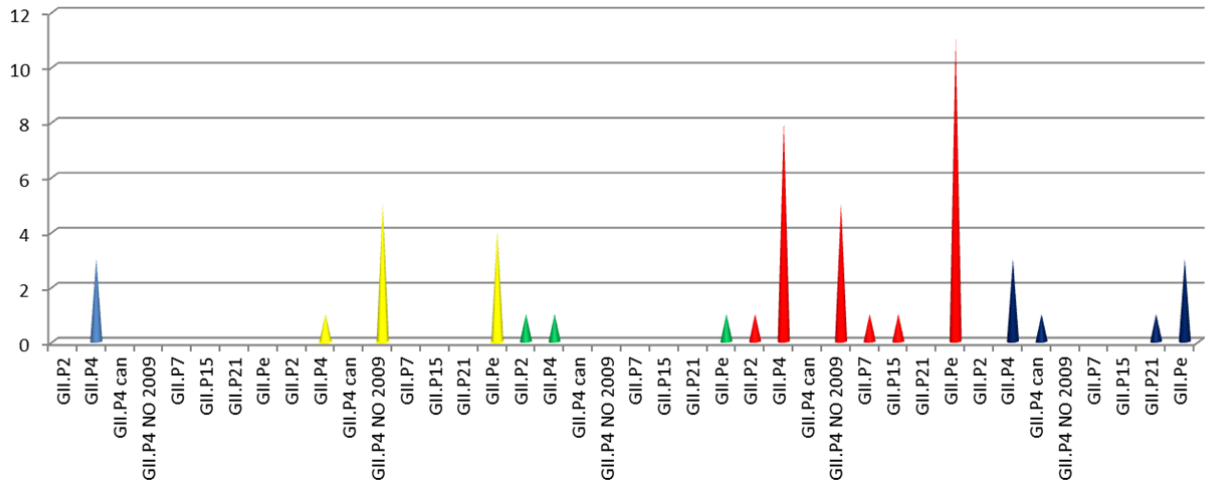


Figuur 5 : voorkomen van de verschillende genotypes op basis van het capside gen

Bij de uitbraken waarbij zowel een sequentie werd bekomen van het polymerase gen en van het capside gen is het meest voorkomend recombinante type GII.P4|GII.4 Sydney (7 uitbraken) gevolgd door GII.Pe|GII.4 Sydney (5 uitbraken). Het nieuwe opduikende type GII.P17|GII.17 werd in 3 uitbraken teruggevonden, dit na de zomer.

In het kader van het BILULU project werden er 110 positieve PCR stalen doorgestuurd om het genotype en variant type op te bepalen. De 110 stalen waren in totaal afkomstig van 5 verschillende ziekenhuizen in Vlaanderen. Hiervan waren 105 stalen GII positief en 5 GI positief. In totaal werden voor 82 GII positieve stalen en 1 GI positief staal de genogroep bevestigd en het variant genotype werd bepaald.

Op basis van het genotype, dat werd bepaald op basis van de polymerase regio, volgt het GII.4 genotype in alle ziekenhuizen voor. In één specifiek ziekenhuis merken we de grootste variatie aan genotypes op. In dit ziekenhuis was er ook de hoogste prevalentie aan Norovirus.



### 3. Epidemiologische karakteristieken:

Volgende figuur heeft de verspreiding in België weer van het aantal Norovirus uitbraken gerapporteerd in 2015

