

Rapportering voor het jaar 2016

Referentiecentrum voor NOROVIRUS.

Coördinator referentiecentrum

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

Geassocieerd laboratorium : niet van toepassing

1. Korte samenvatting van de voornaamste bevindingen 2016:

In 2016 werden er aan het NRC 95 uitbraken gemeld met Norovirus als vermoedelijk oorzakelijk agens en met in totaal minstens 1361 zieken. Voor 63 uitbraken kon Norovirus bevestigd worden als oorzakelijk agens (66%). Voor 41 uitbraken werd de Norovirus genogroep en genotype bepaald door verdere typering via sequencing, voor de 22 resterende uitbraken was dit technisch niet mogelijk. Norovirus genogroep GI werd in 2 uitbraken gedetecteerd, genogroep GII in 30 uitbraken. In 9 uitbraken kon de genogroep niet worden bepaald.

In 2016 waren er 14 meldingen van vermoedelijke Norovirus uitbraken waar voeding betrokken was in de transmissie van het virus. In 9 van deze uitbraken kon Norovirus worden aangetoond in de humane stalen. In 3 uitbraken kon de link met de voeding worden gemaakt, het betrof enerzijds oesters (2) of het drinkwater gebruikt op de kampplaats, anderzijds. De meldingen van Norovirus kwamen voornamelijk vanuit rust en ziekenhuizen. In 2016 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). Het Norovirus genotype GII.17 werd in 4 uitbraken teruggevonden.

2. Overzicht van de activiteiten:

2.1 Norovirus detectie

Er waren in totaal 95 meldingen van een mogelijke Norovirus uitbraak in residentiële instellingen en van sporadische gevallen met duidelijke symptomen van een gastro-enteritis. In 63 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 (32), waren deze vooral afkomstig van individuele gevallen waarbij slechts één staal werd doorgestuurd voor detectie.

In 2016 werden 14 uitbraken gemeld waarbij voeding wellicht was betrokken in de transmissie van Norovirus naar de mens. In drie uitbraken hebben we een duidelijke link met de voeding kunnen maken. In twee uitbraken waren oesters afkomstig van Nederland de bron van de infectie. In een andere uitbraak was het drinkwater verdeeld op de kampplaats besmet met Norovirus en resulteerde dit in minstens 115 zieken. Voor één uitbraak waarbij 4 personen ziek werden na een restaurantbezoek, kon Norovirus worden aangetoond in de omgeving.

Bij de andere vermoedelijke voedselgebonden uitbraken kon Norovirus niet worden aangetoond in de voeding maar uit epidemiologische bevraging is het waarschijnlijk dat de transmissie hierbij voornamelijk humaan-voeding-humaan was.

Figuur 1: de spreiding van het voorkomen van Norovirus in België in 2016



In totaal werden er 374 stalen (faeces, braaksel, RNA, cDNA) geanalyseerd voor de detectie van Norovirus. Er werden 127 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. In totaal waren de stalen afkomstig van 24 verschillende klinische laboratoria. Anderzijds werden er door het NRC Norovirus ook 247 stalen geanalyseerd in het kader van collectieve uitbraken gemeld aan de gemeenschappen (Zorg en gezondheid Vlaanderen en AVIQ). In totaal werd in 162 stalen Norovirus gedetecteerd (43.3%)

Voor 25.1% van de stalen had het klinisch laboratorium een eerste diagnostische test uitgevoerd via PCR of een immunologische antigentest (Tabel 1). Op 23.8% van de faecesstalen werd een immunologische test uitgevoerd. In 16 stalen werd een positief resultaat gemeld voor de antigentest, in 3 gevallen kon dit niet via qPCR worden bevestigd. In 25 van de 49 stalen, die immunologisch negatief waren, werd Norovirus alsnog aangetoond via qPCR. Op 4.5% van de faecesstalen werd er een PCR uitgevoerd door het klinisch laboratorium (real-time PCR, film array, biofire), maar dit slechts door 5 klinische laboratoria. In 4 van de 5 stalen die via PCR positief werden bevonden door het primaire laboratorium, kon het resultaat worden bevestigd door het NRC. Bij 1 staal kon Norovirus niet bevestigd worden maar het betrof één faecesstaal binnen één uitbraak waarbij meerdere stalen werden geanalyseerd en positief werden bevonden. In 6% 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. Echter om een correcte diagnose mogelijk te maken dienen ook de negatieve faeces stalen te worden doorgestuurd naar het NRC.

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

Bevestiging door PCR

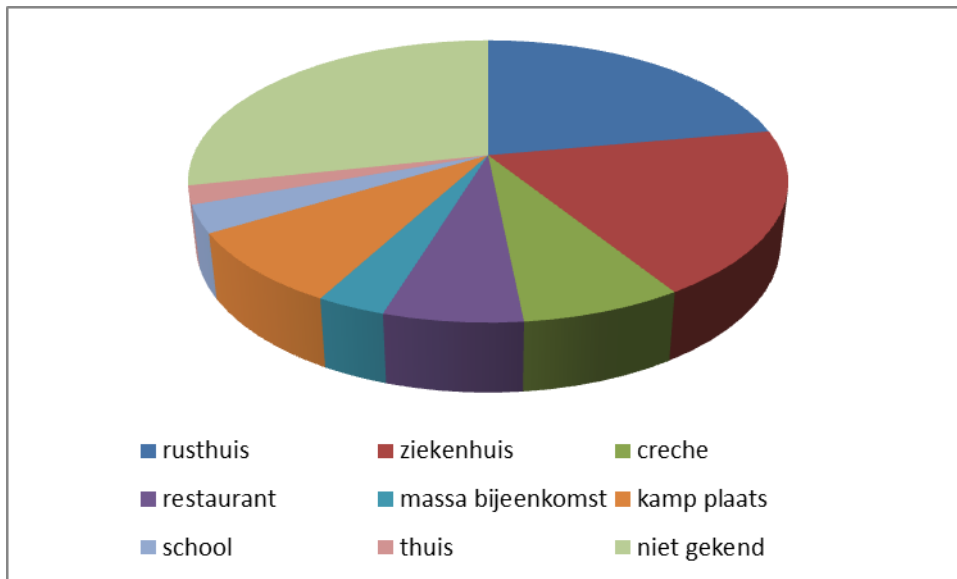
		(NRC Norovirus)	
		pos	neg
Immuno assay	Pos (16)	13	3
	Neg (73)	25	48
	Niet uitgevoerd (285)	124	161
PCR assay	Pos (5)	4	1
	Neg (12)	8	4
	Niet uitgevoerd (357)	150	207

Van de in totaal 95 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 rust- en verzorgingstehuizen (41%). Het NRC kreeg 7 meldingen van een vermoedelijke Norovirus uitbraak in een crèche, in twee ervan kon Norovirus niet worden aangetoond. Er waren ook 2 meldingen van uitbraken op een school maar Norovirus kon niet worden aangetoond in de doorgestuurde stoelgangstalen. Er waren ook 8 Norovirus meldingen waarbij er vele zieken waren tijdens een jeugdverblijf of kamp. Bij 27 meldingen werd de blootstellingsplaats niet meegedeeld.

Van de bevestigde voedselgebonden uitbraken werden er op twee onafhankelijke locaties (restaurant in Oost-Vlaanderen en Limburg) respectievelijk 3 en 30 personen ziek met symptomen van braken, diarree en koorts en waarbij er één persoon werd gehospitaliseerd, dit na de consumptie van oesters. Zowel in de oesters als in humane faecesstalen werd Norovirus GII.2|GII.P2 aangetoond. De oorsprong van de oesters kon voor beide uitbraken worden teruggebracht naar Nederland. De tweede uitbraak vond plaats op een kampeerterrein waarbij met Norovirus (genotype GI én GII) besmet bronwater werd gebruikt door de bezoekers. Hierbij werden minstens 115 personen ziek, waarvan 5 personen werden gehospitaliseerd. Na de installatie van een waterzuiveringssysteem op basis van chloor kon het water opnieuw worden aangeboden voor gebruik. Bij de patiënten werd de aanwezigheid van GII.17|GII.P17 aangetoond, voor Norovirus GI kon het type niet worden achterhaald.

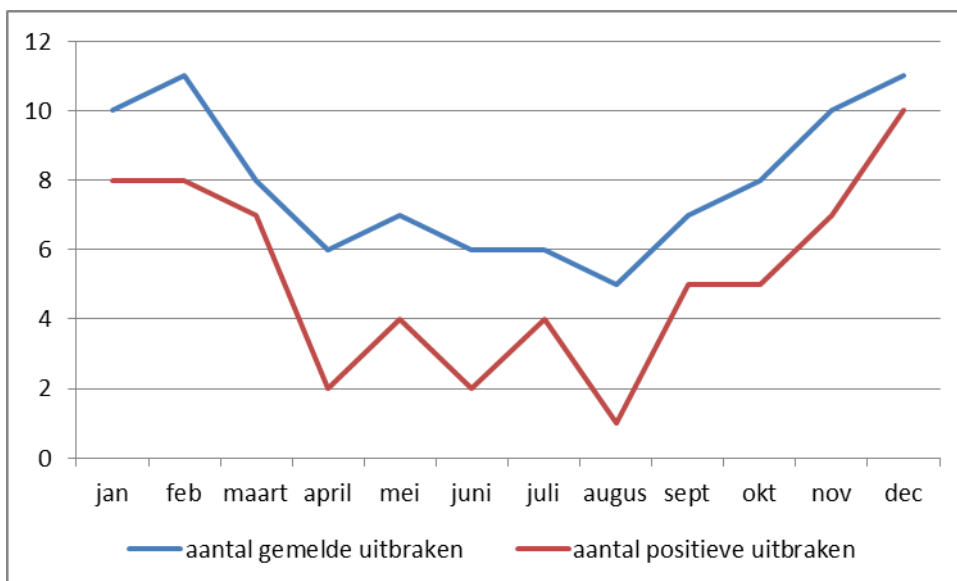
Tabel 2 : De plaats van de blootstelling aan Norovirus

plaats	Aantal meldingen
Woon- en zorgcentra	21
Ziekenhuis	18
Crèche	7
School	3
Thuis	2
Restaurant	6
massa bijeenkomst	3
Vakantiecentrum/kamp	8
Niet gekend	27



Figuur 2: Plaats van de blootstelling aan Norovirus

Er wordt een lager aantal gerapporteerde en bevestigde uitbraken waargenomen tijdens de zomermaanden. Figuur 3 geeft het aantal meldingen van uitbraken per maand, alsook het aantal Norovirus positief bevonden uitbraken



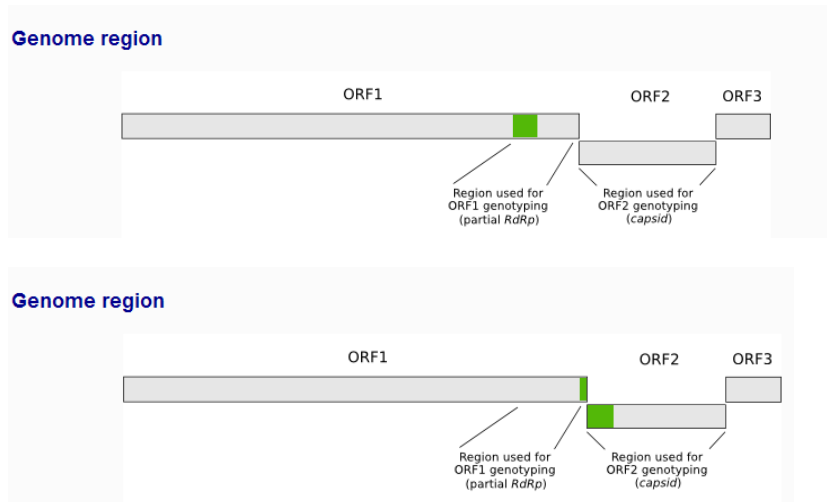
Figuur 3 : Het aantal gemelde uitbraken en het aantal Norovirus positief per maand

2.2 Norovirus genotyperingen

Het doel van de variant bepaling is om positieve Norovirus stalen verder moleculair te typeren via sequencering. 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 sequencering en bioinformatische

homologieanalyse van verschillende regio's in het polymerase of in het voornaamste capsid eiwit.



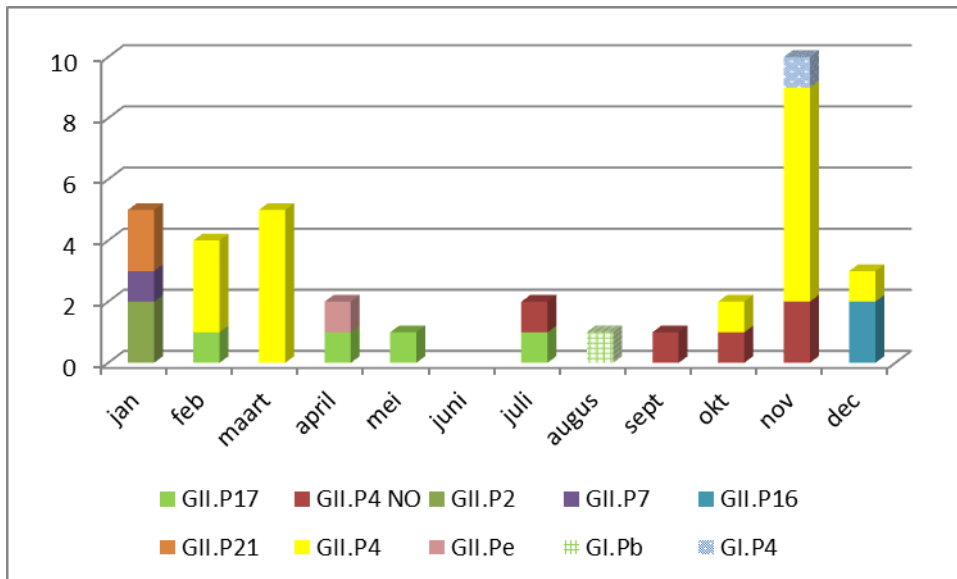
Figuur 4: Schematische voorstelling van de ligging van de genomische regio's die gebruikt worden voor genotypering van Norovirus (Vinjé *et al* 2004).

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

Voor 41 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.

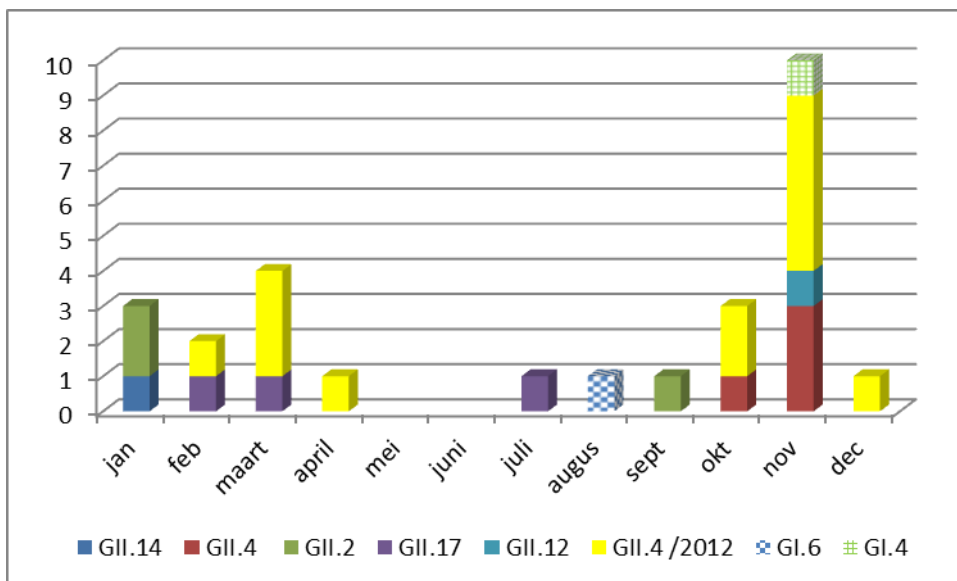
Op basis van polymorfismen gedetecteerd in het polymerase gen circuleerden er in 2016 8 verschillende genotypes in België (figuur 5) binnen de genogroep GII. Binnen genogroep GI werden er 2 genotypes, namelijk GI.Pb en GI.P4, gedetecteerd.

GII.P4 en GII.P4 New Orleans waren de twee meest voorkomende genotypes in 17 en 5 uitbraken, respectievelijk. Het genotype GII.P17 werd in 5 uitbraken gedetecteerd.



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

Ook op basis van polymorfismen gedetecteerd in het capside gen worden 6 verschillende genotypes binnen genogroep GII onderscheiden in België in 2016 (figuur 6). In totaal worden 2 verschillende genotypes onderscheiden voor genogroep GI. Het aantal bevestigingen van uitbraken op basis van de sequencerig van het capside en polymerase gen is respectievelijk in 27 uitbraken en 36 uitbraken. Dit grote verschil kan mogelijk te wijten zijn aan eventuele mutaties ter hoogte van de primers gebruikt voor de amplificatie van de capside regio. Binnen het genotype GII.4 wordt vooral de variant GII.4|Sydney 2012 gedetecteerd ter hoogte van het capside.



Figuur 6 : voorkomen van de verschillende genotypes op basis van het capsid gen

Bij de uitbraken waarbij zowel een sequentie werd bekomen van het polymerase gen en van het capsid 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. Er werd ook een nieuw recombinant type teruggevonden GII.4 Sydney|GII.P16 in 2016 welke ook voor het eerst werd gedetecteerd en beschreven in Brazilië in 2016 (Barreira *et al.*, 2017) en in de winter van 2016 in Frankrijk (Bidalot *et al.*, 2017).

3. Epidemiologische karakteristieken:

Volgende figuur geeft de verspreiding in België weer van het aantal Norovirus uitbraken gerapporteerd in 2016

