

Protocoles génériques pour

- (i) une surveillance à base hospitalière pour estimer la charge de la gastroentérite à rotavirus chez les enfants et**
- (ii) une enquête à base communautaire sur la fréquentation des services de soins de santé pour la gastroentérite chez les enfants**

Version test de terrain

Vaccins et Produits biologiques

Organisation mondiale de la Santé

**Le Département des Vaccins et Produits biologiques
remercie les bailleurs de fonds dont le soutien financier non spécifié
a permis de réaliser ce document.**

Ce document a été réalisé par
l'équipe Evaluation et Suivi des Vaccins
du Département des Vaccins et Produits biologiques

*Code de commande : WHO/N&B/02.15
Imprimé : Novembre 2002*

Ce document est disponible sur l'Internet à l'adresse suivante :
www.who.int/vaccines-documents/

Des copies peuvent être obtenues auprès de :
Organisation mondiale de la Santé
Département des Vaccins et Produits biologiques
CH-1211 Genève 27, Suisse
Fax: + 41 22 791 4227 Courrier électronique : vaccines@who.int

© Organisation mondiale de la Santé 2002

Tous droits réservés. Les publications de l'Organisation mondiale de la Santé peuvent être obtenues auprès de Marketing et Diffusion, Organisation mondiale de la Santé, 20 Avenue Appia, 1211 Genève 27, Suisse (tél. : +41 22 791 2476 ; fax : +41 22 791 4857 ; courrier électronique : bookorders@who.int). Toute demande de reproduction ou de traduction des publications de l'OMS – que ce soit pour la vente ou la distribution non commerciale – doit être adressée à Publications, à l'adresse susmentionnée (fax: +41 22 791 4806 ; courrier électronique : permissions@who.int).

Les désignations employées et les présentations du matériel dans cette publication n'expriment aucune opinion, quelle qu'elle soit, de la part de l'Organisation mondiale de la Santé concernant le statut juridique d'un pays, d'un territoire, d'une ville, d'un domaine ou de ses pouvoirs, ou concernant la délimitation de ses frontières ou limites. Les lignes en pointillées sur les cartes représentent des frontières approximatives qui ne font pas toujours l'accord de tous.

Les auteurs nommés sont responsables des vues exprimées dans cette publication.

La mention d'organisations spécifiques ou de produits de certains fabricants ne suppose pas qu'ils soient avalisés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé en préférence à d'autres de nature analogue qui ne sont pas mentionnés. A l'exception de toute erreur et omission, les noms des marques déposées sont indiqués en majuscules.

L'Organisation mondiale de la Santé ne se porte pas garant de l'exactitude ou du caractère intégral de l'information contenue dans cette publication et ne devrait pas être tenue pour responsable de tout dommage ou préjudice causé par son utilisation.

Table des Matières

<i>Préface</i>	v
<i>Remerciements</i>	vii
Première Partie : Protocole générique pour la surveillance à base hospitalière pour estimer la charge de la gastroentérite à rotavirus chez les enfants de moins de cinq ans.....	1
1. Introduction	3
2. Objectifs	10
3. Sélection de la population sous surveillance	11
4. Surveillance des hospitalisations associées aux rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans.....	17
5. Surveillance et caractérisation des souches	23
6. Autres questions	26
Références	29
Annexe 1 : Exemples de formulaires de données pour l'analyse d'études précédentes de la diarrhée à rotavirus.....	40
Annexe 2 : Formulaire de notification des cas de diarrhée.....	42
Annexe 3 : Exemple de registre d'échantillons de selles.....	43
Annexe 4 : Surveillance sentinelle dans les laboratoires régionaux pour le rotavirus.....	45

**Deuxième Partie : Protocole générique pour une enquête à base communautaire sur
La fréquentation des services de soins de santé pour la gastroentérite
chez les enfants de moins de 5 ans..... 49**

1. Introduction 51

2. Objectifs 52

3. Méthodes..... 53

4. Résultats et analyse de données 59

5. Divers points à envisager lorsqu'on planifie l'enquête 61

Références 62

**Annexe 1 : Questionnaire sur l'utilisation des services de soins de santé pour la
gastroentérite chez un enfant de moins de 5 ans..... 63**

Annexe 2 : Calculs de la taille de l'échantillon 67

Annexe 3 : Tableau des nombres aléatoires..... 68

Préface

Le Département des Vaccins et Produits biologiques (V&B) de l'OMS concourt depuis de nombreuses années à une recherche portant sur la diarrhée à rotavirus. Un certain nombre de candidats vaccins antirotavirus font l'objet d'essais menés actuellement sur le terrain, surtout dans le cadre d'études parrainées par l'OMS. Normalement, un ou plusieurs de ces vaccins devraient être disponibles dans les années à venir. Le présent document est élaboré pour présenter aux pays des données sur la charge de morbidité locale imputable aux rotaviroses chez l'enfant en bas âge. En effet, une telle information sera nécessaire à l'avenir quand les pays d'introduire le vaccin antirotavirus.

Ce document a été commandité par le Comité Directeur V&B sur les Maladies diarrhéiques et le Comité Directeur V&B sur l'Epidémiologie et la Recherche de Terrain. La Première Partie du document présente un protocole générique pour la surveillance à base hospitalière de la gastroentérite à rotavirus pédiatrique. Elle a été mise au point par des chercheurs de divers pays sous la direction du Centre collaborateur de l'OMS pour les Rotavirus et les Agents de la Gastroentérite virale qui fait partie des Centers for Disease Control and Prevention, des Etats-Unis. La Deuxième Partie du document contient un protocole générique pour une enquête sur l'utilisation des services de soins de santé pour la gastroentérite pédiatrique. Une telle enquête permettra aux chercheurs de vérifier si des hôpitaux donnés conviennent à une étude de surveillance en milieu hospitalier et elle dégagera par ailleurs des données servant à ajuster les résultats hospitaliers afin de mieux saisir la charge morbide imputable à la gastroentérite à rotavirus pédiatrique au sein de la population entière.

Chacun des deux protocoles génériques présente des directives utiles sur les principales méthodes, ainsi que des formulaires proposés de collecte de données. Il n'en reste pas moins que chaque protocole devra également être adapté à la situation locale. Aussi, les enquêteurs et chercheurs locaux qui ont de l'expérience en matière d'études de maladies diarrhéiques devraient-ils ajouter les détails des travaux de terrain et des méthodes de travail.

L'OMS partage ces protocoles génériques gratuitement. En retour, V&B souhaite être informé des études dans le cadre desquelles ils sont utilisés. De plus, ce document devrait être mentionné dans toute publication résultant de son utilisation.

Les commentaires ou suggestions pour l'amélioration de ces protocoles génériques devraient être envoyés au Département des Vaccins et Produits biologiques, Organisation mondiale de la Santé, CH-2111 Genève 27, Suisse.

Remerciements

Il convient de faire une mention toute spéciale des personnes suivantes qui ont revu ce document et qui ont prêté un concours précieux tout au long de son élaboration :

John V. Bennett, Ruth Bishop, Maureen Birmingham, Redda T. Haimanot, Paul Kilgore, F. Marc LaForce, Thea K. Fisher Perch, Susan E. Robertson, Lorenz von Seidlein, Sriluck Simasathien, Duncan Steele, Chris Wolff et Timo Vesikari.

Première Partie :
**Protocole générique pour la surveillance à base hospitalière
pour estimer la charge de la gastroentérite à rotavirus chez
les enfants de moins de cinq ans**

Joseph Bresee, Umesh Parashar, Robert Holman, Jon Gentsch et Roger Glass
Centre collaborateur de l'OMS pour les Rotavirus et les Agents de la Gastroentérite virale
Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Etats-Unis

Bernard Ivanoff
Département Vaccins et Produits biologiques
Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse

Alexandre da Costa Linhares
Instituto Evandro Chagas, FUNASA, Belem, Brésil

Kare Molbak
Statens Serum Institut, Copenhague, Danemark

1. Introduction

Les rotavirus sont la cause la plus fréquente de gastroentérite grave et de la déshydratation qui s'en suit chez les jeunes enfants, tant dans les pays industrialisés que dans ceux en développement. Un examen d'études des rotavirus, réalisé sous l'égide de l'OMS, constate que 20% à 70% de toutes les hospitalisations et 20% des décès suite à la diarrhée sont imputables aux rotavirus (*de Zoysa and Feachem 1985*). D'après des études récentes, 500 000 à 600 000 enfants meurent chaque année, selon les estimations, des suites de la gastroentérite à rotavirus (*Miller and McCann 2000, Molbak et al. 2001*). Devant un tel poids de maladie, plusieurs vaccins antirotavirus ont été développés ou sont en cours de mise au point (*Bresee et al. 1999*). Pourtant, dans bien des pays, on ne connaît pas la charge de morbidité et l'épidémiologie des rotavirus à cause d'un manque de données adéquates ou alors parce qu'aucune étude n'a été réalisée récemment. C'est surtout dans les pays en développement que l'on note cette insuffisance des données. L'introduction prévue d'un vaccin efficace met en exergue le besoin de disposer de nouvelles données sur la charge de morbidité des rotavirus dans les pays en développement où la morbidité et la mortalité imputables aux rotavirose sont élevées.

Le présent protocole générique a pour objet de présenter en détail une méthode destinée à une surveillance en milieu hospitalier de la gastroentérite à rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans. Les données collectées par de telles études permettront aux enquêteurs et chercheurs de réunir les caractéristiques se rapportant à l'épidémiologie et à la virologie locales des rotavirus et d'estimer la charge de morbidité dans les populations sous surveillance. Le protocole se veut un guide pour les Ministères de la Santé, les représentants sanitaires locaux et les chercheurs afin de faciliter la réalisation de telles études. Les données qu'elles dégagent seront utiles aux décideurs qui visent à déterminer si la vaccination contre les rotavirus s'avère nécessaire dans leurs pays.

1.1 Caractéristiques cliniques de la diarrhée à rotavirus

Les rotaviroses entraînent une gastroentérite aiguë et se caractérisent par l'apparition aiguë de la diarrhée aqueuse, de fièvre et de vomissement (*Linhares et al. 1983, Mata et al. 1983a, Rodriguez et al. 1977, Zaki et al. 1986*). Généralement, la diarrhée dure de 3 à 8 jours et elle est spontanément résolutive (*Bass et Greenberg 1995, Black et al. 1989, Mata et al. 1983b, Wyatt et al. 1979*). Par ailleurs, on connaît des cas où cette diarrhée dure jusqu'à 22 jours (*Wyatt et al. 1979*) et, chez les nourrissons, elle risque d'être plus longue que chez les enfants plus âgés (*Black et al. 1982a*). La fièvre et les vomissements sont surtout présents lors des premiers jours de la maladie. Les rotaviroses sont souvent plus graves que la diarrhée provoquée par d'autres causes courantes et sont plus susceptibles d'entraîner un état de déshydratation (*Black et al. 1982b, Rodriguez et al. 1977 et 1985, Zaki et al. 1986*) et l'hospitalisation (*Brandt et al. 1983*). Par conséquent, la proportion d'enfants hospitalisés pour la diarrhée causée par les rotavirus est généralement plus élevée que la proportion constatée dans la communauté ou dans les

services de consultations externes (*Bhan et al. 1988, Black et al. 1982a, Cunliffe et al. 2001*).

Bon nombre des infections à rotavirus sont asymptomatiques, surtout chez les nourrissons de moins de 3 mois, les enfants plus âgés et les adultes (*Abiodun et al. 1985, Araya et al. 1986, Black et al. 1989, Champsaur et al. 1984, Cravioto et al. 1990, Georges-Courbot et al. 1988, Linhares et al. 1989, Losonsky and Reymann 1990, Mata et al. 1983b, Schorling et al. 1990, Simhon et al. 1985*). La proportion élevée d'infections asymptomatiques chez les nouveau-nés et les nourrissons n'a pas été expliquée clairement. Il se pourrait que la présence d'anticorps maternels et l'immaturation physiologique de l'intestin du nouveau-né entrent en ligne de compte (*Hoshino et al. 1985*). L'immunité provenant d'un contact répété aux rotavirus explique probablement le ratio élevé infection-à-maladie chez les enfants plus âgés et les adultes. Les rotaviroses peuvent être à l'origine d'une maladie grave (*Kapikian et Chanock 1990, Wood et al. 1988, Yolken et al. 1982*) et d'une effusion prolongée des virus (*Eiden et al. 1985, Hundley et al. 1987, Oishi et al. 1991, Pedley et al. 1984*) chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Par ailleurs, une étude récente montre que les enfants au Malawi infectés par le VIH ne contractent pas de maladie plus grave et n'éliminent pas pendant plus longtemps le virus que les enfants qui sont séronégatifs (*Cunliffe et al. 2001*).

1.2 Charge de la morbidité des rotavirus

Lors d'un examen réalisé en 1985, les rotavirus étaient responsables, d'après les estimations, de 20% à 70% d'hospitalisations de diarrhée et de 20% de tous les décès imputables à la diarrhée chez les enfants de moins de 5 ans, à l'échelle mondiale (*de Zoysa and Feachem 1985*). En 1986, d'après les estimations, 130 millions d'enfants contractaient la diarrhée causée par les rotavirus chaque année, dont 18 millions ont souffert de déshydratation modérée ou grave entraînant 873 000 décès (*United States Institute of Medicine 1986*). D'après des estimations prudentes faites récemment, entre 500 000 et 600 000 enfants meurent chaque année des suites des rotaviroses (*Miller et McCann 2000, Molbak et al. 2001*) et jusqu'à 85% de ces décès surviennent dans des pays à faibles revenus, tels que définis par la Banque mondiale (*Miller and McCann 2000*). Un examen d'études épidémiologiques faites dans des pays en développement constate que les rotavirus sont responsables de 6% de tous les épisodes diarrhéiques, d'une médiane de 28% des consultations externes ou en milieu clinique pour la diarrhée et 34% des hospitalisations pour la diarrhée chez les jeunes enfants (*de Zoysa et Feachem 1985*). Des études et des examens plus récents de pays en développement arrivent à des conclusions analogues (*Cook et al. 1990, Cunliffe et al. 1998 and 2001, Van Man et al. 2001*).

Les taux d'hospitalisation varient grandement, tant entre les pays industrialisés et ceux en développement qu'entre des pays avec des niveaux de revenus analogues (Tableau 1). Les données limitées provenant de pays en développement indiquent que les taux de maladie grave exigeant l'hospitalisation sont plus susceptibles d'être plus élevés que dans les pays développés.

Table 1. Incidence annuelle des hospitalisations imputables à la gastroentérite à rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans dans 12 pays

Pays	Années	Référence	Incidence annuelle pour 100 000 enfants de moins de 5 ans	Risque d'hospitalisation par enfant âgé de 5 ans
Espagne	1989–1995	Visser et al., 1999	250	1:80
Pays-Bas	1998	de Wit et al. 2000	270	1:74
Etats-Unis	1993–1995	Parashar et al.	274*	-
Pologne	1996	Mrukowicz et al.	310	1:65
Suède	1993–1996	Johansen et al.	370**	-
Royaume-Uni	1993–1994	Ryan et al.	520	1:39
Finlande	1985–1995	Vesikari et al.	610	1:33
Argentine	1991	Gomez et al.	645	1:31
Australie	1993–1996	Carlin et al.	750	1:27
Hongrie	1993–1996	Szucs et al.	840**	-
Australie	1991–1993	Ferson 1996	870	1:23
Irlande	1997–1998	Lynch et al. 2001	1080	1:19
Venezuela	1990	Perez-Schael et al.	3000***	-

* Incidence calculée à partir de données pour la diarrhée imputable à toutes les causes.

** Incidence pour les enfants de moins de 4 ans.

*** Incidence pour les enfants de moins de 2 ans.

1.3 Epidémiologie des rotavirus

Presque tous les enfants sont infectés par les rotavirus en bas âge. Dans le cadre d'études prospectives de cohortes communautaires réalisées dans des pays en développement, l'incidence de la diarrhée à rotavirus chez les jeunes enfants varie, allant de 0,07 à 0,8 épisode par enfant et par an et presque tous les enfants avaient eu au moins un épisode de diarrhée à rotavirus avant l'âge de 24 mois (*Black et al. 1982a, Grinstein et al. 1989, Kantharidis et al. 1987, Linhares et al. 1989, Oishi 1985, Reves et al. 1989, Simhon et al. 1985, Zaki et al. 1986*). Dans les pays en développement, 65%-80% des enfants avaient développé des anticorps aux rotavirus à l'âge de 12 mois et 95% avaient été infectés avant l'âge de 24 mois. En général, les enfants infectés par les rotavirus lors des 3 premiers mois de la vie sont asymptomatiques, alors que ceux infectés pour la première fois après l'âge de 3 mois sont généralement symptomatiques. L'infection naturelle conférant une certaine immunité à la maladie lors de contacts ultérieurs et cette protection augmentant lors de chaque exposition subséquente, la prévalence la plus élevée des rotaviroses est notée entre 3 mois et 2 ans (*Velazquez et al. 1996*). L'incidence de la

maladie symptomatique recule rapidement après l'âge de 24 mois dans la plupart des contextes.

Dans les pays industrialisés, 80% des enfants contractent la diarrhée à rotavirus lors des 3 premières années de la vie (*Gurwith et al. 1981, Rodriguez et al. 1987*) et les taux les plus élevés de la maladie se présentent pendant la deuxième année. Toutefois, dans un grand nombre de pays en développement, les taux les plus élevés de la maladie surviennent chez les enfants âgés de 6 à 11 mois. Dans certains pays en développement, il arrive souvent que les nouveau-nés contractent des rotaviroses nosocomiales survenant généralement sans symptôme (*Kilgore et al. 1996, Omoigneraleet Abiodun 1995, Perez-Schael et al. 1984, Sukumaran et al. 1992*). En Inde, des rotaviroses ont été constatées chez 40% à 50% des nouveau-nés hospitalisés pendant trois jours ou plus (*Cicirello et al. 1994*). Les enfants avec des infections néonatales peuvent être protégés contre une grave maladie ultérieure et, par conséquent, les taux élevés d'infection néonatale pourraient affecter les résultats des études sur l'efficacité des vaccins dans certains pays en développement.

Dans les climats tempérés, la diarrhée à rotavirus est essentiellement une maladie hivernale et peu, voire aucun cas ne se présente si ce n'est lors du pic saisonnier (*Ho et al. 1988, LeBaron et al. 1990, Ryan et al. 1996*). Dans certains pays tropicaux, il existe des pics saisonniers (*Molbak et al. 2001, Sitbon et al. 1985*) mais, dans la plupart des régions tropicales, la diarrhée à rotavirus existe toute l'année et ne connaît pas de pic saisonnier ou seul un léger pic (*Cook et al. 1990, Cunliffe et al. 1998*).

Tableau 2. Principales caractéristiques de l'épidémiologie des rotavirus

1.4 Caractéristiques virologiques

Les rotavirus sont des virus de 100-nm de diamètre avec une structure caractéristique en forme de roue (rota) et ils appartiennent à la famille des réoviridés. Le virus a trois enveloppes : une capsid externe, une capsid interne et un nucléoïde. Ils entourent 11 segments d'un ARN bicaténaire qui encodent six protéines de structure (VP1–VP4, VP6, VP7) et cinq protéines non structurales (NSP1–NSP5). Les deux protéines de structure,

la glycoprotéine VP7 (ou protéine G) et la VP4 clivée par une protéase (ou protéine P), constituent la couche extérieure et sont jugées importantes pour la mise au point de vaccins puisqu'elles définissent les sérotypes viraux contre lesquels sont élaborés les anticorps neutralisants (*Prasad et al. 1990, Yeager et al. 1990*). La protéine de la capsid interne, la VP6, est la protéine la plus abondante et elle fait l'objet des tests de détection les plus simples de l'antigène. NSP4 parmi les protéines non structurales est un facteur de virulence putative (*Ball et al. 1996*).

1.5 Prévalence des souches de rotavirus

La classification des rotavirus repose sur les différences dans les protéines des capsides VP7 (G) et VP4 (P). Ce sont les sérotypes G 1-4 et génotypes P P[8] et P[4] qui prédominent dans le monde (*Gentsch et al. 1996, Gunasena et al. 1993, Mphahlele et Steele 1995, Steele et al. 1993, Wu et al. 1994*). Un examen des types G et P provenant de plus de 2700 spécimens constate que le génotype P[8] était presque toujours associé à G1, G3 ou G4 et que P[4] était presque toujours associé à G2 (*Gentsch et al. 1996*). Dans cette étude, 96% des souches qui ont pu être classées par type et qui provenaient de spécimens fécaux avec une seule souche contenaient l'une de ces quatre combinaisons courantes. Parmi ces dernières, P[8]G1 était prédominante, représentant 53% de toutes les souches, suivies par P[8]G3 (14%), P[4]G2 (11%) et P[8]G4 (5%). Divers types moins courants ont été détectés. Certes, peu courants pris individuellement, chacun représentant moins de 1% des souches, ils n'en constituaient pas moins 3% ensemble. De plus, deux types P peu courants, P[6] et P[9], qui ont été trouvés avec des types G plus courants et un réassorti naturel, P[4]G1, ont chacun été notifié de la part de six pays, indiquant ainsi une vaste distribution géographique. Par la suite, d'autres sérotypes ont été notifiés, dont les sérotypes G5, G8, G9 et G10. Chacun a été notifié dans un certain nombre de pays, comptant souvent une variété de protéines P et parfois étant la souche dominante dans ce pays. Cela nous montre que ces sérotypes rares pourraient être plus courants qu'on ne l'avait pensé jusqu'alors (*Bon et al. 2000, Cunliffe et al. 1999, Gouvea et al. 1994 and 1999, Griffin et al. 2000, Holmes et al. 1999, Leite et al. 1996, Palombo et al. 2000, Santos et al. 1998, Unicomb et al. 1999*). Ce sont les comptes rendus récents des souches du sérotype G9 au Bangladesh, au Royaume-Uni, aux Etats-Unis et dans plusieurs autres pays qui sont tout particulièrement intrigants. Ces souches sont notées avec des prévalences élevées (0,4%-13%) depuis 1995, elles sont répandues dans plusieurs pays et existent sous la forme d'au moins cinq combinaisons de génocides. Aussi, est-il possible que les souches G9 représentent un cinquième des sérotypes importants dans le monde qui soit sont apparus récemment, soit ont été sous-diagnostiqués par le passé à cause d'une surveillance inadéquate.

Différents modes de distribution des souches sont constatés dans certains pays en développement. Au Brésil, un tiers des infections uniques étaient associées à des sérotypes qui étaient peu courants ailleurs, dont P[6]G1, P[6]G3, P[6]G4 et P[3]G1 (*Timenetsky et al. 1994*). De plus, P[8]G5 représentait 13% des infections uniques dans certaines régions du Brésil, étant ainsi la seconde souche la plus courante détectée. Au Bangladesh, 10% des souches étaient soit des réassortis naturels (P[4]G1 ou P[4]G4) ou des souches peu communes (P[6]G1) (*Bern et al. 1992*). En Inde, les souches P[6] avec

des types G communs, représentaient 43% de souches pouvant être classées par type, dépistées dans les selles des enfants souffrant de diarrhée, alors que les quatre types courants ne représentaient que 33% du total (*Ramachandran et al. 1996*) ; les souches qui avaient été reconnues auparavant essentiellement ou uniquement chez des nouveau-nés asymptomatiques (P[6]G9, P[11]G9 et P[11]G10) ont été trouvées chez des nourrissons souffrant de diarrhée. Les souches P[6] ont été dépistées dans 8% des spécimens provenant d'enfants hospitalisés en Afrique du Sud (*Mphahlele and Steele 1995*) et chez 38% des enfants étudiés en Guinée-Bissau (*Fischer et al. 2000*).

Tous les pays qui cherchent à réaliser une surveillance des rotavirus devraient inclure un volet de surveillance des souches au regard de la variabilité régionale de la prévalence des souches et du fait qu'on a trouvé que certains sérotypes que l'on pensait rares pouvaient être bien plus importants à l'échelle mondiale qu'on ne l'avait cru auparavant.

1.6 Vaccins antirotavirus

Actuellement, il n'existe aucun vaccin antirotavirus qui figure au calendrier des programmes nationaux de vaccination. Deux vaccins sont pourtant homologués à l'heure actuelle. Aux Etats-Unis, un vaccin réassorti, association tétravalente de rotavirus humains - rhéus (RRV-TV) (Rotashield® , Wyeth Laboratories, Inc., Etats-Unis) a été homologué en août 1998. Il est recommandé pour la vaccination routinière des nourrissons aux Etats-Unis à l'âge de 2, 4 et 6 mois (*Centers for Disease Control and Prevention 1999b*). Toutefois, en 1999, on a constaté que Rotashield était associé à l'intussusception entre les personnes vaccinées et, par conséquent, il a été retiré du marché aux Etats-Unis et des programmes de vaccination (*Centers for Disease Control and Prevention 1999a et 1999b*) (voir section 1.6.1 ci-après). Avant d'être autorisé sur le marché, plusieurs essais importants d'efficacité ont été réalisés avec le vaccin RRV-TV (*Bernstein et al. 1995, Joensuu et al. 1997, Lanata et al. 1996, Linhares et al. 1996, Perez-Schael et al. 1997, Rennels et al. 1996, Santosham et al. 1997*). Les estimations ainsi obtenues sur l'efficacité étaient environ de l'ordre de 50%-60% contre tous les cas de diarrhée à rotavirus et de 70%-90% contre des maladies graves à rotavirus causant une diarrhée avec déshydratation et demandant l'hospitalisation. De plus, un vaccin de souches d'agneau, LLR, (Lanzhou Institute for Biological Products, Chine) est homologué actuellement aux fins d'utilisation en Chine, mais n'a pas encore été intégré au système routinier des vaccinations infantiles (*Vaccins et Produits biologiques 2000*).

Il existe d'autres vaccins contre les rotavirus qui en sont aux dernières étapes de la mise au point et qui pourraient être disponibles dans le commerce d'ici quelques années. On est en train de mettre au point un vaccin réassorti polyvalent de souches humaines et bovines. Aux Etats-Unis, un vaste essai sur le terrain a constaté qu'une version quadrivalente antérieure de ce vaccin conférait une protection d'environ 70% contre la gastroentérite à rotavirus dans le cadre d'un important essai sur le terrain (*Clark et al. 1995*). Un candidat vaccin monovalent vivant de souches humaines G1, 89-12, comptait une efficacité de 89% contre la gastroentérite à rotavirus grave dans le cadre d'un seul essai (*Bernstein et al. 1999*). D'autres essais sur le terrain sont prévus pour ces deux vaccins. On est en train de faire le test de divers autres vaccins et diverses approches pour

mettre au point des vaccins contre les rotavirus, notamment en utilisant d'autres souches humaines vivantes et des souches néonatales comme vaccins candidats, des souches animales, des vaccins parentéraux inactivés et des sous-unités vaccinales et autres (Bresee et al. 1999).

Tous les chefs de file candidats sont des vaccins vivants administrés par voie orale qui doivent être donnés en multidoses en bas âge, de pair avec d'autres vaccinations administrées couramment. A l'exemple de l'infection naturelle par les rotavirus, les vaccins doivent conférer une immunité partielle après une seule dose et une protection plus grande lors de doses ultérieures. La vaccination contre les rotavirus devant surtout être efficace contre la maladie grave, il serait souhaitable que la surveillance se concentre sur les cas graves, à savoir ceux demandant l'hospitalisation.

1.6.1 Vaccin RRV-TV et intussusception

La formulation homologuée du vaccin RRV-TV (Rotashield® , Wyeth Laboratories, Etats-Unis) semble avoir donné suite à un risque accru d'intussusception (Centers for Disease Control and Prevention 1999a, Kramarz et al. 2001, Murphy et al. 2001). Le risque semble limité aux deux semaines suivant les deux premières doses du vaccin et il est le plus élevé trois à sept jours après la première dose (Kramarz et al. 2001, Murphy et al. 2001). Le risque général semble faible. Les estimations qui reposent sur des études faites par les Centers for Disease Control and Prevention aux Etats-Unis indiquent un risque imputable d'environ un cas pour 4600 à 11 000 personnes vaccinées (Kramarz et al. 2001, Murphy et al. 2001).

Toutefois, les études écologiques ultérieures ont donné des estimations d'un risque nettement plus faible (un cas pour 66 000 à 302 000 personnes vaccinées) (Chang et al. 2001, Simonsen et al. 2001). Lors d'un Atelier sur l'Intussusception, les Rotavirus et les Vaccins par voie orale, qui s'est tenu du 5 au 7 septembre 2001 à Arlington, Virginie, Etats-Unis, un groupe d'experts en matière de rotavirus se sont mis d'accord sur un chiffre imputable d'intussusception d'un cas pour 10 000 récipiendaires du vaccin antirotavirus (G. Peter, communication personnelle, 2002). Le mécanisme biologique de l'association n'est pas encore compris clairement. Toutefois, suite à ces risques, le vaccin a été retiré du calendrier des vaccinations des Etats-Unis. On ne sait pas si l'intussusception serait liée à d'autres vaccins antirotavirus ou à ce vaccin utilisé dans d'autres milieux, à savoir dans des pays en développement ou chez les nouveau-nés. Même si le risque imputable d'intussusception suivant la vaccination est aussi élevé dans les pays en développement qu'il l'est aux Etats-Unis, les avantages liés à la vaccination contre les rotavirus dépassent de loin les risques. Néanmoins, tous les futurs essais concernant les vaccins devraient prévoir une surveillance pour cette réaction adverse possible, tel que le recommande l'OMS (Vaccins et Produits biologiques 2000). Au regard de ces résultats, les systèmes de surveillance des rotavirus conçus pour évaluer les taux d'hospitalisation pourraient intégrer une surveillance de l'intussusception. On disposerait ainsi de données initiales sur les taux d'intussusception qui seraient utiles pour évaluer l'innocuité d'un vaccin suivant son introduction.

2. Objectifs

La mise en place d'un système de surveillance des rotavirus a pour objet principal de collecter des données qui faciliteront et soutiendront l'introduction de la vaccination contre les rotavirus une fois qu'un vaccin est disponible. Aussi, les objectifs généraux de la surveillance décrits dans ce protocole générique consistent-ils à déterminer la charge de morbidité et l'épidémiologie du rotavirus dans un pays ou d'autres zones géographiques déterminées. Dans le long terme, une fois les vaccins contre les rotavirus disponibles, le système de surveillance peut être utilisé pour suivre leur impact.

Les objectifs spécifiques sont les suivants :

1. Estimer l'incidence de l'hospitalisation due au rotavirus au sein d'une population définie d'enfants de moins de 5 ans.
2. Déterminer l'âge et la distribution saisonnière des hospitalisations associées au rotavirus au sein de la population d'enfants de moins de 5 ans sous surveillance.
3. Estimer la proportion d'hospitalisations due à la diarrhée chez les enfants de moins de 5 ans qui sont imputables au rotavirus.
4. Identifier les souches courantes de rotavirus au sein de la population sous surveillance.
5. Suivre les tendances temporelles de l'incidence de l'hospitalisation, la distribution par âge, le caractère saisonnier et les souches.

3. Sélection de la population sous surveillance

3.1 Pourquoi se concentrer sur les hospitalisations : justification

Ce protocole générique décrit la surveillance en milieu hospitalier pour la gastroentérite à rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans. Ce type de surveillance dépend d'une estimation exacte des caractéristiques démographiques de la population sous surveillance, de la capacité à réaliser une surveillance pour la gastroentérite aiguë dans les hôpitaux qui desservent la population et de la capacité à obtenir des spécimens de selles pour confirmer la présence du rotavirus et démontrer les prévalences des sérotypes. Aussi, les raisons pour lesquelles on se concentre sur les hospitalisations sont-elles les suivantes :

- *L'hospitalisation permet la surveillance des rotaviroses graves qui seront ciblées par les vaccins aux fins de prévention.* Aussi, les données hospitalières sont-elles importantes pour voir si on a affectivement besoin d'un vaccin. Une fois que l'on dispose d'un vaccin contre les rotavirus, une telle surveillance permettra de faire une évaluation fiable et rapide de la réussite ou de l'échec d'un programme de vaccinations.
- *Les hospitalisations sont faciles à détecter.* Quand la plupart des enfants souffrant de diarrhée grave à rotavirus sont susceptibles de se présenter à un hôpital pour traitement, il est plus facile de trouver les cas que dans d'autres contextes, par exemple, dans la communauté et cette recherche exige un nombre moindre de ressources. Une enquête devra être faite, telle que décrite dans la Deuxième Partie de ce document pour voir où les enfants sont traités pour la gastroentérite pédiatrique.
- *Les hospitalisations prennent une part importante sur les ressources pour la santé.* L'estimation du coût de la diarrhée à rotavirus pour les ressources de santé aidera à voir s'il faut effectivement inclure le vaccin antirotavirus au programme national de vaccinations.
- *Les hôpitaux disposeront probablement de la capacité nécessaire pour faire des tests de laboratoire,* et il sera donc comparativement facile de prélever des échantillons des enfants et de dépister l'éventuelle présence des rotavirus.
- *Il est possible d'intégrer la surveillance pour intussusception dans une étude en milieu hospitalier.* Il est important de déterminer le taux initial d'intussusception au sein d'une population où sera introduit le vaccin contre les rotavirus. Un système de suivi des hospitalisations imputables à une gastroentérite aiguë peut être aisément modifié pour couvrir également l'intussusception puisque la maladie se présente dans le même groupe d'âge et demande probablement l'hospitalisation. L'OMS est en train de mettre au point des directives sur la manière de réaliser une surveillance pour l'intussusception.

3.2 Sélection de la population sous surveillance et des hôpitaux participants

Plusieurs facteurs peuvent influencer le choix d'une population destinée à la surveillance. Elle devra être bien démarquée du point de vue démographique et géographique et des données devraient être disponibles sur la distribution par âge ainsi que sur le nombre de naissances et de décès. Il faudra connaître le nombre d'enfants dans les groupes d'âges spécifiques (0–2, 3–5, 6–8, 9–11, 12–17, 18–23, 24–35, 36–47 et 48–59 mois) pour pouvoir calculer le taux d'hospitalisation par âge. La surveillance pour l'hospitalisation imputable aux rotavirus demande que l'on prenne des enfants de moins de 5 ans puisque la charge de morbidité dans les pays développés et en développement n'affecte pratiquement que ce groupe d'âge.

La surveillance sera démarrée dans une population qui est stable et dont on pense qu'elle le restera tout au long de la période de surveillance. Une telle population comprendra les caractéristiques suivantes : peu de changement prévu dans la taille de la population par âge, dans l'accès aux soins et les modes d'immigration et d'émigration. Les populations au sein desquelles un grand nombre d'enfants meurent suite à la diarrhée avant de se présenter à l'hôpital entraîneront probablement des sous-estimations de la morbidité imputable à la diarrhée à rotavirus et, par conséquent, ne conviennent pas aux fins de surveillance. Les enquêteurs devraient obtenir ou préparer une carte de la zone de l'étude indiquant les frontières géographiques exactes.

Une population qui fréquente un seul hôpital ou un petit nombre d'hôpitaux et qui dispose d'un bon accès à ces établissements convient tout particulièrement bien. L'étude est facile à réaliser si un seul hôpital important dessert la population et si les services qu'il dispense sont gratuits. Chose importante, il faut inclure tous les hôpitaux publics et privés desservant la population définie et ces établissements devraient apporter des soins à des enfants de moins de 5 ans. Si le protocole ne demande pas une surveillance dans les consultations externes ou autres structures de soins de santé à part les hôpitaux, il est pourtant recommandé de connaître les sources de soins de santé que consulte la population sous surveillance, ainsi que le nombre de patients pris en charge. Les prestataires de soins en consultation externe sont divers : ils appartiennent au secteur public, font partie de services spécialisés de traitement de la diarrhée ou encore sont des médecins privés, des pharmaciens et des guérisseurs traditionnels. L'accès à un hôpital peut être déterminé en mesurant la distance pour se rendre à l'hôpital à partir des différents endroits sous surveillance en tenant compte de ceux avec des routes en mauvais état ou sans route, du manque de transport public et de barrières naturelles, telles que les rivières.

Chaque hôpital où l'on réalise une surveillance pour les cas de rotavirus doit disposer soit de la capacité de laboratoire pour réaliser le dépistage des rotavirus en utilisant des méthodes de dépistage rapide des antigènes, soit d'un système fiable pour transporter les échantillons à un laboratoire de référence. Il faudra également qu'il dispose de l'équipement nécessaire pour prélever les échantillons de selles avec les précautions qui s'imposent et dans les délais voulus, qu'il puisse conserver les échantillons dans un réfrigérateur ou un congélateur jusqu'au moment où les tests sont réalisés, qu'il dispose

du personnel qualifié pour réaliser des tests ainsi que de bonnes méthodes de tenue de dossier permettant la coordination des données cliniques et de laboratoire.

3.3 Taille de la population sous surveillance

La population desservie par les hôpitaux participants doit être relativement grande pour qu'on puisse s'attendre à un nombre suffisant d'hospitalisations imputables aux rotavirus pendant la période de la surveillance. Le taux d'hospitalisation pour la diarrhée à rotavirus chez les enfants dans les pays en développement étant plusieurs fois de l'ordre de celui des enfants dans les pays développés, la population nécessaire pour l'observation d'un nombre suffisant d'hospitalisations associées aux rotavirus pendant une période de surveillance de deux ans sera plus grande dans les pays développés que dans les pays en développement.

Chaque site pourra choisir des hôpitaux dont on pense qu'ils traiteront au moins 250–500 enfants pour la gastroentérite chaque année. Si l'on prend une estimation prudente de 30% de cas graves de gastroentérite imputables au rotavirus, cela nous donnerait 75-150 cas de rotavirus par an. En supposant une incidence annuelle (estimation prudente) d'hospitalisations associées aux rotavirus dans les pays en développement de 12 pour 1000 enfants de moins de 5 ans (en fonction du taux annuel du Venezuela de 30/1000 enfants âgés de moins de 2 ans indiqué sur le Tableau et en supposant aucun autre cas supplémentaire chez les enfants âgés de 24 à 59 mois), il suffira probablement d'un groupe de 6 250 à 12 500 enfants de moins de 5 ans pour arriver à des estimations précises de la charge de morbidité. Toutefois, il est difficile de déterminer la taille exacte d'une population de surveillance qui rapporterait des estimations exactes au vu de l'insuffisance de données sur les hospitalisations dans les pays en développement et de la méconnaissance de la sensibilité avec laquelle chaque système dépiste et examine les cas de gastroentérite. Aussi, les enquêteurs seraient-ils avisés de réaliser une surveillance au sein d'une population plus grande pour disposer d'une certaine marge d'erreur et tenir compte de la variation aléatoire dans les taux escomptés d'hospitalisations imputables aux rotavirus.

3.4 Fréquentation des services de soins de santé

Ce protocole générique se fonde sur le suivi des résultats dans les hôpitaux et, par conséquent, les membres de la population devraient avoir un bon accès aux soins médicaux sur le site de la surveillance. En outre, les habitants de la zone de surveillance ne devraient pas consulter dans une mesure importante les hôpitaux à l'extérieur de cette région. On cherchera à inclure tous les hôpitaux qui se trouvent dans la zone sous surveillance.

S'ils veulent s'assurer que les hôpitaux choisis pour l'étude de surveillance obtiennent un nombre suffisant de patients souffrant de diarrhée à rotavirus, les enquêteurs pourraient faire un recensement de tous les hôpitaux, centres de santé ou autres endroits où sont traités les enfants avec diarrhée aiguë. Les emplacements des établissements peuvent être portés sur une carte et on peut calculer le nombre d'enfants âgés de moins de 5 ans qui

ont été traités pour la diarrhée l'année précédente. Cette information dégagera des données préliminaires montrant si les hôpitaux proposés semblent bien couvrir la population en question. Une information communautaire s'avérera pourtant nécessaire sur les modes de fréquentation des services de santé de la population proposée pour la gastroentérite pédiatrique.

Chaque site souhaitant réaliser une surveillance des rotavirus conformément aux méthodes dont il est question dans ce protocole devra effectuer une enquête de la fréquentation des services de soins de santé pour la gastroentérite pédiatrique au début de l'étude. La Deuxième Partie de ce document présente la méthodologie pour une enquête de 30 grappes avec 600 enfants et cette enquête montrera où se rendent les parents pour faire soigner leurs enfants souffrant de grave diarrhée. La connaissance des structures où sont dispensés les soins pour la gastroentérite, ainsi que les attitudes et les pratiques de la population concernant la gastroentérite et son traitement sont de toute première importance pour concevoir la meilleure surveillance possible afin de comprendre la charge de morbidité et de comparer les données entre des études de différents endroits. L'idéal serait bien sûr que 100% des patients souffrant de grave diarrhée se fassent soigner dans un hôpital participant à l'étude. Si une enquête indique que le chiffre est inférieur à 70%, il faudrait songer à recruter d'autres hôpitaux dans la région ou à utiliser une autre population. Par ailleurs, si tout semble indiquer que le site convient à la surveillance, l'enquête dégagera une information permettant aux enquêteurs d'ajuster leurs données finales pour tenir compte de la proportion d'enfants souffrant de gastroentérite qui, probablement, ne seront pas hospitalisés. Les méthodes pour réaliser une telle enquête sont expliquées dans la Deuxième Partie du présent document.

3.5 Examen de données provenant d'études précédentes

Plusieurs aspects revêtent de l'importance au moment de déterminer les meilleures méthodes de surveillance pour un pays ou une région dont les ressources financières et le personnel disponible, la structure et les modes d'orientation-recours du système local de soins de santé, les compétences scientifiques locales et l'intérêt en la matière, la présence de systèmes de surveillance pour d'autres maladies évitables par vaccin, ainsi que les travaux de recherche précédents sur les rotavirus, tant épidémiologiques que de laboratoire. A cet effet, on peut revoir et analyser les données locales sur les rotavirus collectées par des études précédentes. On pourra arriver à des estimations générales de la charge de morbidité des rotavirus à partir de données rétrospectives telles que les enquêtes nationales sur les décès et les dossiers des hôpitaux et des laboratoires. Par ailleurs, des données pourront être obtenues de la littérature médicale régionale, de publications de sociétés médicales locales et de journaux des hôpitaux, ainsi que de la littérature avec examen collégial. Parfois, une telle information utile n'est pas publiée, par exemple, les données sur les maladies diarrhéiques que l'on peut obtenir auprès des Ministères de la Santé ou dans les hôpitaux locaux ainsi que les résultats des tests des rotavirus que l'on peut obtenir dans les laboratoires des hôpitaux locaux. Un examen de toutes les sources possibles de données aide à définir l'épidémiologie locale des rotavirus dont l'âge probable de la maladie, ainsi que le lieu primaire de celle-ci, à savoir les hôpitaux et les services de réhydratation.

Il est important, en choisissant les études qui seront examinées, d'envisager leur durée et les méthodes de test des rotavirus. En effet, la diarrhée à rotavirus étant une maladie saisonnière, il est bon de se pencher sur des études durant au moins un an de sorte à ce que les taux de dépistage ne soient pas affectés par les fluctuations saisonnières de l'incidence. Des différences annuelles dans l'activité des rotavirus sont possibles et peuvent être évaluées en examinant les tendances au niveau des résultats des études (par exemple, hospitalisations) pour les rotavirus sur plusieurs années.

Il faudrait compiler une liste prioritaire comportant des informations sur l'emplacement et la date des études, la gamme d'âge et le nombre de sujets étudiés, les tests utilisés pour dépister les rotavirus, ainsi que le nombre et le pourcentage d'enfants affectés par les rotavirus dans chaque étude (voir Annexe 1 pour des exemples de tableaux de l'analyse). Une estimation récapitulative devrait être faite de la médiane et de la gamme du taux de dépistage des rotavirus. Il convient d'examiner les taux de dépistage des rotavirus par âge ainsi que la fréquence cumulative des résultats liés aux rotavirus (hospitalisations) par âge pour déterminer les groupes d'âge d'enfants souffrant le plus de la maladie. Il faudrait également évaluer le caractère saisonnier en examinant les taux de dépistage mensuels des rotavirus.

4. Surveillance des hospitalisations associées aux rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans

4.1 Vue d'ensemble

Ce protocole générique décrit une surveillance prospective de deux ans pour les hospitalisations imputables aux rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans. Un échantillon de selles de chaque enfant souffrant de gastroentérite aiguë hospitalisé dans un établissement participant à l'étude est examiné pour détecter la présence du rotavirus. Un ensemble fondamental de données est collecté lors du séjour hospitalier dont les détails sur le lieu de résidence du patient. L'étude est faite auprès d'une population bien définie pour pouvoir calculer l'incidence de l'hospitalisation, mesure principale de la charge de morbidité. Chaque endroit devrait disposer de la capacité nécessaire pour déterminer les sérotypes présents dans un sous-ensemble d'échantillons de selles contenant le rotavirus ou devrait prendre les dispositions nécessaires à cette fin en collaborant avec un laboratoire de référence.

4.2 Définitions des cas

Il est essentiel de décider et d'utiliser des définitions uniformes pour arriver à faire une surveillance exacte dans des contextes multiples et, dans le temps, dans le même milieu.

Aux fins de surveillance, on définira un **cas suspect de diarrhée à rotavirus** comme un enfant de moins de 5 ans qui est hospitalisé pour le traitement de la diarrhée dans un établissement participant à l'étude. Un **cas confirmé de diarrhée à rotavirus** sera défini comme un cas suspect où l'on démontre la présence de rotavirus dans les selles par l'entremise du dosage par une technique immunoenzymatique.

4.3 Système de surveillance

4.3.1 *Registre des hospitalisations imputables à la diarrhée*

Le registre des hospitalisations dues à la diarrhée est utilisé pour recenser et suivre tous les enfants de moins de 5 ans qui sont hospitalisés à cause de la diarrhée, à savoir les cas suspects. Chaque cas possible d'un enfant de moins de 5 ans qui est hospitalisé devrait être marqué dans ce registre. Pour remplir le registre, il faudra probablement faire une enquête quotidienne des services où les enfants sont hospitalisés, des registres d'admission ou autres méthodes suivant le contexte. L'information contenue dans ce registre précisera la date de l'admission, le nom du patient ou le numéro d'identification, le diagnostic au moment de l'hospitalisation ainsi que l'emplacement du patient dans l'hôpital. Chaque endroit, suivant ses besoins particuliers, pourra saisir toute information supplémentaire.

4.3.2 Formulaire de notification des cas de diarrhée à rotavirus

Un formulaire traitant de l'information démographique clinique et de laboratoire devrait être rempli pour chaque cas de diarrhée à rotavirus détecté (voir Annexe 2 pour un exemple de formulaire de notification des cas). Avant que ne commence la surveillance, on fera un prétest du formulaire de notification des cas en vérifiant de noter l'information d'une manière uniforme. Les données sont saisies dans un fichier EpiInfo.QES.

4.4 Méthodes de laboratoire

4.4.1 Registre sur les échantillons de selles

Chaque laboratoire gardera à jour un registre sur les échantillons de selles pour noter l'information concernant tous les enfants qui sont hospitalisés à cause de la diarrhée (voir Annexe 3 pour un exemple d'un registre des échantillons de selles). Au fur et à mesure que l'on dispose des données de laboratoire, à savoir les résultats des tests de dépistage des rotavirus, on les ajoutera au registre des échantillons. L'information qui figure dans le registre des échantillons de selles devrait correspondre à l'information du registre des hospitalisations dues à la diarrhée. En comparant fréquemment les écritures des deux registres, on pourra vérifier que la surveillance couvre tous les patients et que chacun est identifié correctement.

4.4.2 Collecte et manutention des échantillons

Une quantité suffisante de selles, environ 5 ml, devrait être prélevée de chaque cas soupçonné lors de la maladie aiguë, de préférence le jour de la présentation à l'hôpital. L'écouvillonnage rectal, ou écouvillons placés dans le milieu de culture bactérienne, ne représentent pas les meilleures méthodes de dépistage ou de caractérisation des rotavirus et, par conséquent, il convient de les éviter. On essaiera d'obtenir un échantillon de selles pour tous les cas possibles dans les 48 heures suivants l'hospitalisation, de sorte à éviter le dépistage d'une infection nosocomiale. L'échantillon de selles devra être placé dans un récipient stérile dont le couvercle peut être vissé et fermé hermétiquement, par exemple, un verre de recueil d'urines portant une étiquette avec l'information concernant le numéro d'identification et la date du prélèvement. Il faut vérifier que l'information sur l'étiquette de l'échantillon corresponde au registre sur les échantillons de selles. Tous les échantillons de selles doivent être conservés dans un congélateur à -20°C jusqu'au moment où le test est exécuté, et il faut faire attention à éviter les cycles de décongélation, si c'est possible. En cas de conservation prolongée, il est préférable d'avoir une température de -70°C puisque certains faits semblent montrer que la capacité de caractériser les rotavirus diminue lors d'une conservation durant des années à -20°C (*O'Ryan et al. 1990, Unicom et al. 1989*).

Il faut faire particulièrement attention aux conditions de conservation à long terme des échantillons de selles prélevés dans des pays où la poliomyélite est endémique. Des échantillons de selles prélevés pour l'enquête des rotavirus pourraient contenir, sans qu'on le sache, des poliovirus sauvages s'ils sont prélevés dans des pays où la

poliomyélite est endémique. De tels échantillons représenteront peut-être la seule source restante de poliovirus sauvage une fois atteint le but de l'Initiative de l'Eradication de la Poliomyélite. Pour prévenir la réintroduction des poliovirus sauvages, l'Initiative de l'Eradication de la Poliomyélite a formulé un Plan d'Action mondial pour le contrôle en laboratoire des poliovirus sauvages. Le Plan d'Action décrit les mesures de précaution que devraient adopter les laboratoires lorsqu'ils conservent des échantillons qui risquent de contenir des poliovirus sauvages (*Département des Vaccins et des Produits biologiques de l'OMS, 1999*). Tous les laboratoires avec de tels échantillons sont tenus de s'inscrire à l'Inventaire national des Laboratoires avec des Poliovirus sauvages de leur pays et de conserver ces échantillons dans les conditions dont il est question dans ce document. Pour de plus amples informations, prière de consulter le document dont il est question ou de contacter l'Initiative de l'Eradication de la Poliomyélite, Département des Vaccins et Produits biologiques de l'OMS, CH-1211 Genève 27, Suisse (+41 22 791 4524 / 4372; labnet@who.int).

Si les échantillons doivent être conservés temporairement avant d'être mis dans un congélateur, il faudra les réfrigérer à 4°C-8°C. Le pouvoir infectant des rotavirus dans les matières fécales et les milieux de culture est relativement stable à ces températures (*Meng et al. 1987, Ramos et al. 2000*). Si les échantillons doivent être transportés avant d'être congelés, on utilisera des packs de glace pour les maintenir entre 4°C à 8°C. Toutefois, les rotavirus sont relativement stables dans diverses conditions. Tel est le cas de certaines souches emmagasinées à température ambiante dans un milieu de culture (*Meng et al. 1987*). Par conséquent, même en cas de problème de manutention, à savoir si les échantillons sont conservés à température ambiante pendant plus de quatre heures, on peut encore faire un test, bien qu'il faille tenir compte de la perte possible de sensibilité lors d'analyses ultérieures.

Si on fait également un test des échantillons de selles pour détecter des pathogènes bactériens ou parasitaires, il faudra transporter les échantillons au laboratoire dans les deux heures qui suivent les prélèvements et les mettre dans le milieu approprié. Il faudra obtenir auprès d'autres sources des directives spéciales sur le prélèvement, la manutention et le test d'échantillons pour d'autres entéropathogènes.

4.4.3 Méthodes pour le dépistage des rotavirus

Un examen sera fait de toutes les selles prélevées pour dépister les antigènes associés aux rotavirus à l'aide d'un kit d'immunoenzymologie. Les autres méthodes de détection – microscopie électronique, électrophorèse ARN et amplification en chaîne par polymérase – sont généralement plus compliquées, demandent plus de ressources et une formation plus poussée. Aussi, ne sont-elles pas recommandées pour l'utilisation routinière lors de la surveillance. Il existe plusieurs kits d'immunoenzymologie pour le dépistage rapide des rotavirus. A l'exception du test ID EIA, les trousseaux indiqués sur le Tableau 3 sont très utilisés et ont fait l'objet de nombreuses évaluations (*Dennehy et al. 1990 et 1999, Lipson et al. 2001, Lipson et Zelinsky-Papez 1989, Sanchez et al. 1993*). Le test ID EIA est inclus car il est sous une forme pratique et a été utilisé lors d'une étude précédente (*Wilhelmi et al. 1999*).

Tableau 3. Kits d'immunoenzymologie* pour les études de surveillance des rotavirus

Produit	Fabricant	Présentation	Nombre de tests dans chaque kit
Premier Rotaclone® qualitative or quantitative antigen enzyme immunoassay	Meridian Diagnostics, Inc., Etats-Unis	12 bandes	48
Abbott Testpack® qualitative antigen enzyme immunoassay	Abbott Laboratories, Etats-Unis	Disques de réaction individuels	20
Pathfinder® rotavirus qualitative antigen enzyme immunoassay	Sanofi Diagnostics Pasteur, France	Tubes individuels	50
ID EIA Rotavirus Test	DAKO Diagnostics Ltd, Royaume-Uni	12 bandes	96

* Note : La liste ci-dessus de produits et de fabricants des kits d'immunoenzymologie ne signifie pas une approbation spéciale de ces produits ou fabricants. Prière de suivre attentivement les instructions du fabricant lors de l'utilisation de ces produits.

Le Tableau 3 n'est pas une liste complète des tests disponibles mais, pour l'essentiel, il représente les kits avec des sensibilités et spécificités comparables qui sont largement disponibles. Chaque établissement doit consulter le laboratoire le plus proche pour obtenir plus d'information sur les trousse et leur disponibilité locale. Il vaut mieux utiliser une seule trousse pendant l'étude entière pour arriver à une meilleure comparabilité et uniformité de données. Une fois achevé le dépistage des antigènes, tout échantillon restant et toute suspension de selle doivent être conservés à environ -20°C, à moins de vouloir tester immédiatement les extraits par analyse des sérotypes. Dans ce cas, les suspensions doivent être gardées entre 4°C à 8°C pendant quelques jours.

4.5 Analyse de données

La première étape de l'analyse de données consiste à caractériser les cas notifiés de diarrhée à rotavirus par personne, endroit ou moment, pour les enfants vivant au sein de la population de référence définie au début de la surveillance. Une analyse particulière traitera des aspects suivants :

1. Le nombre d'hospitalisations pour la diarrhée chez les enfants de moins de 5 ans.
2. Le pourcentage d'hospitalisations imputables à la diarrhée chez les enfants de moins de 5 ans.
3. La distribution des hospitalisations pour diarrhée par étiologie, dont la diarrhée à rotavirus.

-
4. Le pourcentage d'hospitalisations de la diarrhée causée par les rotavirus.
 5. Les taux d'hospitalisations liés à la diarrhée et aux rotavirus par 1000 enfants et par an au sein de la population de surveillance en générale et par groupe d'âge 0–2, 3–5, 6–8, 9–11, 12–17, 18–23 et 24–59 mois.
 6. Le pourcentage d'hospitalisations dues à la diarrhée associée aux rotavirus par groupe d'âge 0–2, 3–5, 6–8, 9–11, 12–17, 18–23 et 24–59 mois.
 7. Le nombre et le pourcentage d'hospitalisations pour la diarrhée et pour la diarrhée à rotavirus par mois de l'année.
 8. La médiane et la durée du séjour hospitalier pour toutes les hospitalisations imputables à la diarrhée et pour les hospitalisations imputables à la diarrhée à rotavirus.
 9. Le nombre et le taux de décès imputables à la diarrhée à rotavirus.
 10. Le calcul des données susmentionnées par année de surveillance.

4.6 Suivi de la qualité des données

Un examen périodique des données collectées permet de mettre à jour des problèmes au niveau de la collecte de données, de la participation des patients ou du prélèvement et de la manutention des échantillons. Certains signes sont donnés ci-après montrant que des problèmes peuvent exister au niveau des méthodes de l'étude.

Un nombre moindre que prévu de sujets se présentant au test de dépistage des rotavirus

Les données collectées avant l'étude sur le nombre d'hospitalisations pour une gastroentérite aiguë chez les enfants de moins de 5 ans par mois devraient indiquer, pour chaque endroit, le nombre approximatif d'enfants dont on pense qu'ils seront hospitalisés pendant la période de l'étude. Si le nombre participant à l'étude, à savoir les enfants avec diarrhée aiguë (cas soupçonnés), est inférieur à 75% du nombre escompté pendant deux mois de suite, cela pourrait montrer que les méthodes pour trouver les cas sont inadéquates. Le nombre escompté peut être calculé comme étant le nombre moyen d'hospitalisations pour gastroentérite par mois lors des trois années précédentes, en partant de l'hypothèse qu'il n'existe aucun grand changement dans les modes d'orientation-recours ou dans la taille de la population. Par contre, si de tels changements surviennent, il faudra vérifier les méthodes de détection des nouvelles hospitalisations.

Moins de 15% des enfants avec un test positif indiquant la présence de rotavirus

Vu que la plupart des études en milieu hospitalier ont dépisté une infection à rotavirus dans 20%-50% des enfants hospitalisés pour diarrhée aiguë, un taux de dépistage

inférieur à 15% pourrait signaler un problème au niveau de la détection. Un taux de dépistage inférieur à 15% poussera les enquêteurs à se poser les questions suivantes :

1. Est-ce que le système de surveillance rate les groupes d'âge les plus jeunes ?
2. Est-ce que la quantité de selles prélevées est insuffisante ?
3. Existe-t-il des problèmes au niveau des méthodes de manutention des échantillons ?
4. Existe-t-il au niveau de l'utilisation des kits d'immunoenzymologie ?
5. Est-ce que les réactifs des kits d'immunoenzymologie sont périmés ?
6. Est-ce que les échantillons sont examinés dans les bons délais ?
7. Est-ce que les échantillons sont emmagasinés dans de bonnes conditions ?
8. Est-ce que le personnel a été formé adéquatement ?

Bien des contextes connaîtront des pics saisonniers dans la circulation des rotavirus et, par conséquent, la fréquence avec laquelle on notera les problèmes devant être étudiés peut être moindre lors de certains mois. Des flambées d'autres agents entériques dans une zone de surveillance peuvent entraîner une diminution de la proportion des échantillons contenant des rotavirus, bien que le nombre absolu de tests positifs ne doive pas changer énormément.

4.7 Durée de la surveillance

Il serait bon, dans l'idéal, que la surveillance soit effectuée pendant au moins deux années entières pour évaluer les variations annuelles et saisonnières de la charge de morbidité. Une fois que l'on disposera d'un vaccin contre les rotavirus, un tel système sera mis sur pied pendant au moins une année complète avant l'introduction des vaccins pour disposer d'une estimation initiale fiable permettant de calculer l'efficacité de la vaccination contre le rotavirus.

5. Surveillance et caractérisation des souches

L'information sur la prévalence des souches de rotavirus en circulation est importante pour évaluer l'impact possible des vaccins et pour comprendre les raisons pour lesquelles un programme pourrait échouer. Dans chaque contexte où l'on réalise une surveillance des rotavirus, il faudra obtenir une information sur les souches locales de rotavirus. Sur un site donné, il sera utile de classer par type sérologique les souches avec l'aide des experts et laboratoires locaux afin de pouvoir participer à un réseau régional de surveillance des souches (voir Annexe 4) et/ou collaborer avec un laboratoire de référence international.

5.1 Données générales sur les méthodes de caractérisation des souches

Les études cliniques et épidémiologiques de rotavirus dépendent de la disponibilité de méthodes sensibles qui permettent de détecter les rotavirus dans les échantillons fécaux obtenus auprès d'enfants infectés. Les premiers travaux ont été réalisés à l'aide d'une microscopie électronique. Par la suite, la mise au point des essais immunologiques, des tests d'agglutination au latex et d'électrophorèse ont rendu le diagnostic possible dans le monde entier. Ces tests sont rapides, sensibles, spécifiques, peu chers et faciles à exécuter et ils peuvent être utilisés dans les contextes de laboratoire les plus simples. La sensibilité des diagnostics routiniers est élevée puisque le nombre de virus excrétés par un enfant souffrant de diarrhée à rotavirus, environ 10^{10} - 10^{12} de virus par gramme de selles, est bien plus élevé que la limite de détection d'environ 10^7 de virus par gramme de selles en utilisant le dosage par technique immunoenzymatique. Les virus peuvent être cultivés à partir d'échantillons de selles et il existe des méthodes de détection moléculaire, par exemple, hybridation par buvardage en taches et amplification en chaîne par polymérase-transcriptase inverse (RT-PCR) pour des études spéciales qui ne sont pourtant pas nécessaires pour un diagnostic routinier.

Les gènes qui encodent les deux protéines associées à la neutralisation se séparent indépendamment et, par conséquent, il a fallu adopter un système de double classement des types sérologiques pour tenir compte des spécificités des sérotypes de VP7 (G) et VP4 (P) (*Gentsch et al. 1996*). Les sérotypes G sont déterminés en utilisant une technique immunoenzymatique avec quatre anticorps monoclonaux dirigés vers les épitopes spécifiques à la protéine VP7 sur les quatre types G courants. Les sérotypes G peuvent être détectés par méthodes moléculaires, telles que RT-PCR, hybridation avec des sondes formées d'oligonucléotides et séquençage des nucléotides. Les sérotypes P sont difficiles à déterminer en utilisant des méthodes traditionnelles de neutralisation du virus et, bien que l'on ait décrit des essais immunologiques intégrant des anticorps monoclonaux (*Coulson 1993, Masendycz et al. 1997, Padilla-Noriega et al. 1993 and 1998*), ils n'ont pas été appliqués à grande échelle au classement des types sérologiques P. Par conséquent, les génotypes P sont définis sur la base des différences prévues dans les acides aminés et comparés à des souches de sérotype P connues. Cette méthode corrèle la neutralisation des virus et les virus avec une analogie de plus de 89% à la séquence des

acides aminés VP4 n'est généralement pas différenciable du point de vue sérologique (Gorziglia *et al.* 1990). Des exceptions ont été notées à ces corrélations (Hoshino *et al.* 1998, Li *et al.* 1996). Sur la base de la corrélation entre les sérotypes et la séquence des acides aminés, des amorces et des sondes spécifiques au génotype ont été mis au point pour déterminer les génotypes P par l'entremise des méthodes RT-PCR et d'hybridation (Gentsch *et al.* 1992).

5.2 Sélection d'échantillons pour une caractérisation plus poussée

Il faudrait obtenir un sous-ensemble de selles avec des rotavirus grâce à la surveillance routinière pour une caractérisation plus poussée. Le type et la taille des échantillons dépendent du nombre de tests positifs, des ressources de l'institution en question, du nombre et de l'hétérogénéité des hôpitaux qui participent, de la variabilité des souches dans les études passées et d'autres facteurs. Tous les hôpitaux du système de surveillance devraient fournir des échantillons de selles avec des rotavirus pour une caractérisation plus poussée, de sorte à ce que le système soit davantage représentatif. Des échantillons pour les examens devraient être réunis sur l'ensemble de l'année. On ne prendra que des échantillons de volume adéquat pour plusieurs tests (plus de 3 ml) afin de ne pas manquer de matériel avant que les tests ne soient achevés. Enfin, la sélection devrait être aussi aléatoire et uniformisée que possible pour minimiser les biais de sélection. On pourra décider, à la fin de chaque année de surveillance, des échantillons qui seront soumis au test sur la base de la distribution mensuelle et par âge des souches et des aspects susmentionnés.

5.3 Méthodes de caractérisation des souches

Les rotavirus sont caractérisés le plus souvent par rapport à leurs protéines VP7 (G) et VP4 (P). Il s'agit des antigènes viraux contre lesquels sont élaborés les anticorps neutralisants et qui constituent la base de la nomenclature des rotavirus. Les vaccins antirotavirus qui sont en train d'être mis au point doivent induire une protection des virus courants G et P et, par conséquent, la connaissance des types courants pourrait s'avérer importante pour les décisions concernant l'utilisation des vaccins. Deux méthodes principales sont très utilisées pour le typage sérologique : le classement avec des anticorps monoclonaux pour déterminer la protéine G et RT-PCR pour détecter les types G et P.

Dans le cadre d'une stratégie de typage sérologique, les souches sont d'abord classées par type sérologique G en utilisant l'immunoenzymologie avec des anticorps monoclonaux spécifiques au type pour les sérotypes prédominants (généralement, G1–G4), et peut-être pour deux autres souches suivant les données locales précédentes. Par exemple, on a constaté que les virus G5, G8, G9 et G10 étaient assez courants dans certains pays et G6 et G12 ont également été dépistés dans divers endroits. Les anticorps monoclonaux ont été produits pour des types communs et inhabituels G5, G6, G8 et G10, de pair avec des méthodes pour leur utilisation (Coulson *et al.* 1987, Taniguchi *et al.* 1987). Les enquêteurs peuvent prévoir un typage G de 50% à 80% des souches rien qu'avec les anticorps monoclonaux. Des échantillons emmagasinés sur une durée minimale avant

l'analyse ont permis d'obtenir le pourcentage le plus élevé de souches pouvant être classées par type, probablement parce que la capsid externe se désagrège lentement lors du stockage, faisant que les anticorps monoclonaux spécifiques au sérotype ne se fixent pas. (*Matson et al. 1990*). La congélation et la décongélation des selles réduit également la capacité de classer par type sérologique les rotavirus à l'aide d'anticorps monoclonaux. Les souches qui ne peuvent pas être classées par type sérologique par l'entremise des anticorps monoclonaux devraient être classées par génotype en utilisant les techniques RT-PCR et d'hybridation (*Das et al. 1994, Gentsch et al. 1992, Gouvea et al. 1990, Gunasena et al. 1993*). L'analyse de souches ne pouvant pas être classée par type sérologique à l'aide de ces méthodes est importante pour dépister des souches inhabituelles qui peuvent influencer les stratégies de vaccination (*Griffin et al. 2000, Unicomb et al. 1999*).

La seconde stratégie, celle d'ailleurs que nous recommandons, consiste à effectuer le typage sérologique uniquement avec RT-PCR. Dans le cadre de la première stratégie, à savoir le typage avec les anticorps monoclonaux, 20-50% des spécimens analysés n'ont pas pu être regroupés par type sérologique et, par conséquent, ils ont dû être réanalysés par méthode de groupement selon le génotype, quel que soit le soin avec lequel on effectue le prélèvement et le stockage des échantillons. Aussi, est-il probablement plus facile pour la plupart des laboratoires d'adopter une seule méthode de typage sérologique, à savoir RT-PCR. Qui plus est, le classement par génotype RT-PCR s'est avéré hautement efficace dans la plupart des contextes, permettant le classement de 90-95% des souches (*Bon et al. 2000, Griffin et al. 2000, Iturriza-Gomara et al. 1999, Ramachandran et al. 1998*), et cette approche est nécessaire pour le classement des génotypes P d'un sous-ensemble représentatif de souches que nous recommandons. Les souches qui ont des types G et/ou P inhabituels pourront faire l'objet d'une analyse complémentaire par électrophorèse de gel polyacrylamide qui aide à comprendre l'ampleur de la diversité entre les souches grâce à la détermination des modes migratoires ARN (court ou long). Un ensemble complet de protocoles de caractérisation des souches avec des détails sur les sources des réactifs dont certains réactifs tels que les amorces RT-PCR peuvent être obtenus en contactant Dr Jon Gentsch, WHO Collaborating Centre for Rotavirus and Agents of Viral Gastroenteritis, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, N.E., MailstopG-04, Atlanta, GA 30333, USA (courrier électronique : jrg4@cdc.gov ; Fax : + 1 404 639 3645).

6. Autres questions

6.1 Rôle du coordinateur de la surveillance

Dans le cadre de chaque étude, il faudrait nommer un coordinateur qui est responsable de mettre en place et de suivre le système, ainsi que de la rédaction des rapports. Sur les sites réalisant une surveillance (laboratoire, hôpital, Ministère de la Santé), le coordinateur devrait nommer des personnes-contacts chargées de collecter les données. Le coordinateur devrait contacter périodiquement les sites, disons par exemple à des intervalles d'une semaine, pour vérifier que la collecte de données fiables continue et il devrait faire des visites sur place, disons à des intervalles mensuels, pour évaluer si des rapports complets sont tenus à jour. Le coordinateur devrait également s'assurer que toute information manquante est obtenue et que toute information erronée est corrigée et, si possible, il devrait superviser la saisie de données dans une base de données informatiques aux fins d'analyse facile.

6.2 Surveillance concernant les autres résultats

La surveillance à base hospitalière pour la gastroentérite à rotavirus est probablement le type le plus pratique de surveillance dans un grand nombre de milieux. Toutefois, dans certaines situations, il est souhaitable de mettre en place une surveillance pour d'autres résultats ou pour l'utilisation d'autres méthodes. Par exemple, dans certains contextes, on pourra envisager une surveillance dans les ménages ou une surveillance des cas de gastroentérite pédiatrique qui se présentent dans les centres de santé communautaires. Si on utilise davantage les séjours prolongés dans les services de réhydratation des hôpitaux à la place de l'hospitalisation d'enfants souffrant de gastroentérite, il faudra inclure ces établissements à la surveillance des maladies graves. L'utilisation de bases de données codées ICD a été décrite pour estimer les hospitalisations et la mortalité associées aux rotavirus et cela convient dans les contextes où de telles données sont disponibles (*Parashar et al. 1998 and 1999*). Par contre, quand les ressources sont insuffisantes pour assurer une surveillance en milieu hospitalier, tel que décrit dans ce protocole, il convient probablement de participer à un réseau de surveillance régional des souches de rotavirus (voir Annexe 4). Le résultat le plus pertinent pouvant varier d'un site à l'autre, il faudra revoir les modes de traitement locaux sur chaque type avant de démarrer la surveillance.

L'estimation de la mortalité imputable aux rotavirus s'avère probablement particulièrement importante pour définir les priorités de la santé publique. Elle peut être estimée dans des contextes où l'on dispose d'information sur les données mensuelle de mortalité par âge, ainsi que de certaines données se rapportant aux syndromes (obtenues par exemple par le biais d'autopsies verbales) conjuguées à des données provenant de la surveillance à base hospitalière pour la fraction à rotavirus. L'emploi de cette méthode a été notifié récemment par la Guinée-Bissau (*Molbak et al. 2001*).

6.3 Inclusion de données sur les coûts et l'utilisation de ressources

La surveillance ayant pour but implicite d'orienter judicieusement la politique publique et les ressources de la santé, il est probablement utile, pour un système de surveillance, de collecter des données sur les coûts des rotavirus, soit du point de vue ressources, soit du point de vue argent dépensé pour le traitement et les soins des enfants malades. C'est particulièrement utile dans les pays où la mortalité imputable aux rotavirus est faible mais où les taux d'hospitalisation sont élevés. Les coûts qu'il faudra étudier dépendent du contexte de la surveillance, des questions/préoccupations de l'organisme qui collecte ou suit les données et de l'endroit où sont collectées les données. Par exemple, si un Ministère de la Santé est responsable de financer les hôpitaux qui soignent des enfants souffrant de rotavirose, il sera probablement utile de collecter des données se rapportant aux coûts monétaires liés au personnel et au matériel pour le soin de ces enfants hospitalisés. L'information sur les coûts associée aux rotavirus peut ensuite être utilisée pour étayer les décisions à propos du coût-avantage de l'introduction des vaccins. Des directives sont en train d'être formulées pour les études de détermination des coûts pour la gastroentérite à rotavirus.

6.4 Possibilité pour des réseaux régionaux et une collaboration régionale

Une fois mise en place l'étude de surveillance à base hospitalière, il est possible que plusieurs pays souhaitent coordonner les activités et constituer un groupe de surveillance régional (voir Annexe 4). En effet, une telle collaboration a pour avantage de partager les ressources (en organisant, par exemple, un laboratoire régional de surveillance des souches), d'apprendre davantage à propos de l'épidémiologie des maladies à rotavirus et de comparer les données en cherchant à déterminer les meilleures stratégies de prévention possibles. En outre, des possibilités de recherche peuvent se présenter. En dernier lieu, des organismes tels que l'OMS et les Centers for Disease Control and Prevention des Etats-Unis souhaiteront peut-être collaborer ou fournir une consultation technique pour certaines activités, par exemple, les tests en laboratoire ainsi que la conception et l'exécution de la surveillance (voir des adresses de contact dans l'encadré ci-après).

Destinataires

Dr Duncan Steele
Département des Vaccins et des Produits biologiques
Organisation mondiale de la Santé
Genève 27
CH-1211 Suisse
Courrier électronique : steeled@who.int
Fax : 41 22 791-4860

Dr Joseph Bresee
WHO Collaborating Centre for Rotavirus and the Agents of Viral
Gastroenteritis
Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road, N.E., MS G-04
Atlanta, GA 30333
USA
Courrier électronique : jbresee@cdc.gov
Fax : +1 404 639-3645

Références

- Abiodun P, Ihongbe J, Ogbimi A (1985): Asymptomatic rotavirus infection in Nigerian day-care centres. *Annals of Tropical Paediatrics* 5:163–165.
- Araya M, Figueroa G, Espinoza J, Zarur X, Brunser O (1986): Acute diarrhoea and asymptomatic infection in Chilean preschoolers of low and high socio-economic strata. *Acta Paediatrica Scandinavica* 75:645–651.
- Ball JM, Tian P, Zeng CQ-Y, Morris AP, Estes MK (1996): Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science* 272:101–104.
- Bass DM, Greenberg HB (1995): Group A rotaviruses. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds). *Infections of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Press; 967–981.
- Bern C, Unicomb L, Gentsch JR, Banul N, Yunus M, Sack RB, Glass RI (1992): Rotavirus diarrhea in Bangladeshi children: correlation of disease severity with serotypes. *Journal of Clinical Microbiology* 30:3234–3238.
- Bernstein DI, Glass RI, Rodgers G, Davidson BL, Sack DA (1995): Evaluation of rhesus rotavirus monovalent and tetravalent reassortant vaccines in US children. *Journal of the American Medical Association* 273:1191–1196.
- Bernstein DI, Sack DA, Rothstein E, Reisinger K, Smith VE, O’Sullivan D, Spriggs DR, Ward RL (1999): Efficacy of live, attenuated, human rotavirus vaccine 89–12 in infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 354:287–290.
- Bhan MK, Raj P, Bhandari N, Svensson L, Stintzing G, Prasad AK, Jayashree S, Srivatsava R (1988): Role of enteric adenoviruses and rotaviruses in mild and severe acute enteritis. *Pediatric Infectious Disease Journal* 7:320–323.
- Black RE, Brown KH, Becker S, Alim AR, Huq I (1982a): Longitudinal studies of infectious disease and physical growth of children in rural Bangladesh 2. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. *American Journal of Epidemiology* 115:315–324.
- Black RE, Greenberg HB, Kapikian AZ, Brown KH, Becker S (1982b): Acquisition of serum antibody to Norwalk virus and rotavirus and relation to diarrhea in a longitudinal study of young children in rural Bangladesh. *Journal of Infectious Diseases* 145:483–489.
- Black RE, Lopez de Romana G, Brown KH, Bravo N, Grados Bazalar O, Kanashiro HC (1989): Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar, Peru. *American Journal of Epidemiology* 129:785–799.
- Bon F, Fromantin C, Aho S, Pothier P, Kohli E (2000): G and P genotyping of rotavirus strains circulating in France over a three year period: detection of G9 and P[6] strains at low frequencies. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1681–1683.

Brandt CD, Kim HW, Rodriguez JO, Arrobio WJ, Jeffries BC, Stallings EP, Lewis C, Miles AJ, Chanock RM, Kapikian AZ, Parrott RH (1983): Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *Journal of Clinical Microbiology* 18:71–78.

Bresee J, Glass RI, Ivanoff B, Gentsch JR (1999): Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation and implementation in developing countries. *Vaccine* 17:2207–2222.

Carlin JB, Chondros P, Masendycz P, Bugg H, Bishop RF, Barnes GL (1998): Rotavirus infection and rates of hospitalisation for acute gastroenteritis in young children in Australia, 1993–1996. *Medical Journal of Australia* 169:252–256.

Centers for Disease Control and Prevention (1999a): Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morbidity and Mortality Weekly Report* 48 (No. RR-2):1–23.

Centers for Disease Control and Prevention (1999b): Intussusception among recipients of rotavirus vaccine, United States, 1998–1999. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 48:577–581.

Champsaur H, Questiaux E, Prevot J, Henry-Amar M, Goldszmidt D, Bourjouane M, Bach C (1984): Rotavirus carriage, asymptomatic infection, and disease in the first two years of life. I. Virus shedding. *Journal of Infectious Diseases* 149:667–674.

Chang H-G, Smith PF, Ackelsberg J, Morse DL, Glass RI (2001): Intussusception, rotavirus diarrhea, and rotavirus vaccine use among children in New York State. *Pediatrics* 108:54–60.

Cicirello HG, Das BK, Gupta A, Bhan MK, Gentsch JR, Kumar R, Glass RI (1994): High prevalence of rotavirus infection among neonates born at hospitals in Delhi, India: predisposition of newborns for infection with unusual rotavirus. *Pediatric Infectious Disease Journal* 13:720–724.

Clark HF, White CJ, Offit PA et al. (1995): Preliminary evaluation of safety and efficacy of quadrivalent human-bovine rotavirus vaccine. *Pediatric Research* 37:172A.

Cook SM, Glass RI, LeBaron CW, Ho M-S (1990): Global seasonality of rotavirus infections. *Bulletin of the World Health Organization* 68:171–177.

Coulson BS (1993): Typing of human rotavirus VP4 by an enzyme immunoassay using monoclonal antibodies. *Journal of Clinical Microbiology* 31:1–8.

Coulson B, Unicomb LE, Pitson GA, Bishop RF (1987): Simple and specific enzyme immunoassay using monoclonal antibodies for serotyping human rotaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 25:509–515.

Cravioto A, Reyes RE, Trujillo F, Uribe F, Navarro A, De La Roca JM, Hernandez JM, Perez G, Vazquez V (1990): Risk of diarrhea during the first year of life associated with initial and subsequent colonization by specific enteropathogens. *American Journal of Epidemiology* 131:886–904.

Cunliffe NA, Kilgore PE, Bresee JS, Steele AD, Luo N, Hart CA, Glass RI (1998): Epidemiology of rotavirus diarrhoea in Africa: a review to assess the need for rotavirus immunization. *Bulletin of the World Health Organization* 76:525–537.

Cunliffe NA, Gondwe JS, Broadhead RL, Molyneux ME, Woods PA, Bresee JS, Glass RI, Gentsch JR, Hart CA (1999): Rotavirus G and P types in children with acute diarrhea in Blantyre, Malawi, from 1997 to 1998: predominance of novel P[6]G8 strains. *Journal of Medical Virology* 57:308–312.

Cunliffe NA, Gondwe JS, Kirkwood CD, Graham SM, Nhlane NM, Thindwa BDM, Dove W, Broadhead RL, Molyneux ME, Hart CA (2001): Effect of concomitant HIV infection on presentation and outcome of rotavirus gastroenteritis in Malawian children. *Lancet* 358:550–555.

Das BK, Gentsch JR, Cicirello HG, Woods PA, Gupta A, Ramachandran M, Kumar R, Bhan MK, Glass RI (1994): Characterization of rotavirus strains from newborns in New Delhi, India. *Journal of Clinical Microbiology* 32:1820–1822.

Dennehy PH, Gauntlett DR, Spangenberger SE (1990): Choice of reference assay for the detection of rotavirus in fecal specimens: electron microscopy versus enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology* 28:1280–1283.

Dennehy PH, Hartin M, Nelson SM, Reising SF (1999): Evaluation of the ImmunoCardSTAT: rotavirus assay for detection of group A rotavirus in fecal specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 37(6):1977–1979.

de Wit MAS, Koopmans MPG, van der Blig JF, van Duynhoven YTHP (2000): Hospital admissions for rotavirus infection in the Netherlands. *Clinical Infectious Diseases* 31:698–704.

de Zoysa I, Feachem RG (1985): Interventions for the control of diarrhoeal disease among young children: rotavirus and cholera immunization. *Bulletin of the World Health Organization* 63:569–583.

Eiden J, Lososnyk GA, Johnson J, Yolken RH (1985): Rotavirus RNA variation during chronic infection of immunocompromised children. *Pediatric Infectious Disease Journal* 4:632–637.

Ferson MJ (1996): Hospitalizations for rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in New South Wales. *Medical Journal of Australia* 164:273–276.

Fischer TK, Steinsland H, Molbak K, Ca R, Gentsch JR, Valentiner-Branth P, Aaby P, Sommerfelt H (2000): Genotype profiles of rotavirus strains from children in a suburban community in Guinea-Bissau, Western Africa. *Journal of Clinical Microbiology* 38:264–267.

Gentsch JR, Glass RI, Woods P, Gouvea V, Gorziglia M, Flores J, Das BK, Bhan MK (1992): Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 30:1365–1373.

Gentsch JR, Woods PA, Ramachandran M, Das BK, Leite JP, Alfieri A, Kumar R, Bhan MK, Glass RI (1996): Review of G and P typing results from a global collection of strains: implications for vaccine development. *Journal of Infectious Diseases* 174(Suppl 1):S30–S36.

Georges-Courbot MC, Monges J, Beraud-Cassel AM, Gouandjika I, Georges AJ (1988): Prospective longitudinal study of rotavirus infections in children from birth to two years of age in Central Africa. *Annals de l'Institut Pasteur Virology* 139:421–428.

Gomez JA, Nates S, De Castagnaro NR, Espul C, Borsa A, Glass RI (1998): Anticipating rotavirus vaccines: review of epidemiologic studies of rotavirus diarrhea in Argentina. *Pan American Journal of Public Health* 3:69–78.

Gorziglia M, Larralde G, Kapikian AZ, Chanock RM (1990): Antigenic relationships among human rotaviruses as determined by outer capsid protein VP4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87:7155–7159.

Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguichi K, Clark HF, Forrester B, Fang ZY (1990): Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 28:276–282.

Gouvea V, de Castro L, do Carmo Timenetsky M, Greenberg H, Santos N (1994): Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children. *Journal of Clinical Microbiology* 32:1408–1409.

Gouvea V, Santos (1999): Detection and characterization of novel rotavirus strains in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 37:2385–2386.

Griffin DD, Kirkwood CD, Parashar UD, Woods PA, Bresee JS, Glass RI, Gentsch JR (2000): Surveillance of rotavirus strains in the United States: identification of unusual strains. *Journal of Clinical Microbiology* 38:2784–2787.

Grinstein S, Gomez JA, Bercovich JA, Biscotti EL (1989): Epidemiology of rotavirus infection and gastroenteritis in prospectively monitored Argentine families with young children. *American Journal of Epidemiology* 130:300–308.

Gunasena S, Nakagomi O, Isegawa Y, Kaga E, Nakagomi T, Steele AD, Flores J, Ueda S (1993): Relative frequency of VP4 gene alleles among human rotaviruses recovered over a 10 year period (1982–1991) from Japanese children with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 31:2195–2197.

Gurwith M, Wenman W, Hinde D, Feltham S, Greenberg H (1981): A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. *Journal of Infectious Diseases* 144:218–224.

Ho M-S, Glass RI, Pinsky PF, Anderson LJ (1988): Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. *Journal of Infectious Diseases* 158:1112–1116.

Holmes JL, Kirkwood CD, Gerna G, Clemens JD, Rao MR, Naficy AB, Abu-Elyazeed R, Savarino SJ, Glass RI, Gentsch JR (1999): Characterization of unusual G8 rotavirus strains isolated from Egyptian children. *Archives of Virology* 144:1381–1396.

Hoshino Y, Wyatt RG, Flores J, Midthun K, Kapikian AZ (1985): Serotypic characterization of rotaviruses derived from asymptomatic human neonatal infections. *Journal of Clinical Microbiology* 21:425–430.

Hoshino Y, Jones RW, Kapikian AZ (1998): Serotypic characterization of outer capsid spike protein VP4 of vervet monkey rotavirus SA11 strain. *Archives of Virology* 143:1233–1244.

Hundley F, McIntyre M, Clark B, Beards G, Wood D, Chrystie I, Desselberger U (1987): Heterogeneity of genome rearrangements in rotaviruses isolated from a chronically infected immunodeficient child. *Journal of Virology* 61:3365–3372.

Iturriza-Gomara M, Green J, Ramsay M, Brown D, Desselberger U, Gray JJ (2000): Molecular epidemiology of human group A rotavirus infections in the United Kingdom between 1995 and 1998. *Journal of Clinical Microbiology* 38:4394–4401.

Joensuu J, Koskenniemi E, Pang X-L, Vesikari T (1997): Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe rotavirus gastroenteritis. *Lancet* 350:1205–1209.

Johansen K, Bennet R, Bondesson K, Eriksson M, Hedlund K-O, De Verdier Klingenberg K, Uhnoo I, Svensson L (1999): Incidence and estimates of the disease burden of rotavirus in Sweden. *Acta Paediatrica Supplement* 426:20–23.

Kantharidis P, Dyall-Smith ML, Holmes IH (1987): Marked sequence variation between segment 4 genes of human RV–5 and simian SA–11 rotavirus. *Archives of Virology* 93:111–121.

Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM (2001): Rotaviruses (Chapter 55). In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B, Straus SE (eds). *Fields Virology*, Fourth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1787-1833.

Kilgore PE, Unicomb LE, Gentsch JR, Albert MJ, McElroy CA, Glass RI (1996): Neonatal rotavirus infection in Bangladesh: strain characterization and risk factors for nosocomial infection. *Pediatric Infectious Disease Journal* 15:672–677.

Kramarz P, France EK, Destefano F, Black SB, Shinefield H, Ward JI, Chang EJ, Chen RT, Shatin D, Hill J, Lieu T, Ogren JM (2001): Population-based study of rotavirus vaccination and intussusception. *Pediatric Infectious Disease Journal* 20:410–416.

Lanata CF, Midthun K, Black RE, Butron B, Huapaya A, Penny ME, Ventura G, Jett-Goheen M, Davidson BL (1996): Safety, immunogenicity, and protective efficacy of one and three doses of the tetravalent rhesus rotavirus vaccine in infants in Lima, Peru. *Journal of Infectious Diseases* 174:268–275.

LeBaron CW, Lew J, Glass RI, Weber JM, Ruiz-Palacios GM, The Rotavirus Study Group (1990): Annual rotavirus epidemic patterns in North America: results of a five-year retrospective survey of 88 centers in Canada, Mexico, and the United States. *Journal of the American Medical Association* 264:983–988.

Leite JPG, Alfieri AA, Woods PA, Glass RI, Gentsch JR (1996): Rotavirus G and P types circulating in Brazil: characterization by RT-PCR, probe hybridization, and sequence analysis. *Archives of Virology* 141:2365–2374.

Li B, Hoshino Y, Gorziglia M (1996): Identification of a unique VP4 serotype that is shared by a human rotavirus (69M strain) and an equine rotavirus (H–2 strain). *Archives of Virology* 141:155–160.

Linhares AC, Moncao HC, Gabbay YB, de Araujo VL, Serruya AC, Loureiro ECB (1983): Acute diarrhea associated with rotavirus among children in Belize, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 77:384–390.

Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RB, da Rosa ES, Mascarenhas JD, Loureiro EC (1989): Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belem, Brazil. *Epidemiology and Infection* 102:129–145.

Linhares AC, Gabbay YB, Mascarenhas JDP, de Freitas RB, Olivera CS, Bellesi N, Monteiro TAF, Lins-Lainson Z, Ramos FP, Valente SA (1996): Immunogenicity, safety and efficacy of tetravalent rhesus-human, reassortant rotavirus vaccine Belem, Brazil. *Bulletin of the World Health Organization* 74:491–500.

Lipson SM, Zelinsky-Papez KA (1989): Comparison of four latex and three enzyme linked immunosorbent assays for the detection of rotavirus in fecal specimens. *Journal of Clinical Pathology* 92(5):637–643.

Lipson SM, Svenssen L, Goodwin L, Porti D, Danzi S, Pergolizzi R (2001): Evaluation of two current generation enzyme immunoassays and an improved isolation-based assay for rapid detection and isolation of rotavirus from stool. *Journal of Clinical Virology* 21(1):17–27.

Losonsky GA, Reymann M (1990): The immune response in primary asymptomatic and symptomatic rotavirus infection in newborn infants. *Journal of Infectious Diseases* 161:330–332.

Lynch M, O'Halloran F, Whyte D, Fanning S, Cryan B, Glass RI (2001): Rotavirus in Ireland: national estimates of disease burden, 1997 to 1998. *Pediatric Infectious Disease Journal* 20:693–698.

Masendycz PJ, Palombo EA, Gorrell RJ, Bishop RF (1997): Comparison of enzyme immunoassay, PCR, and type-specific cDNA probe techniques for identification of group A rotavirus gene 4 types. *Journal of Clinical Microbiology* 35:3104–3108.

Mata L, Simhon A, Padilla R, del Mar Gamboa M, Vargas G, Hernandez F, Mohs E, Lizano C (1983a): Diarrhea associated with rotaviruses, enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Campylobacter*, and other agents in Costa Rican children 1976–1981. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 32:146–153.

Mata L, Simhon A, Urrutia JJ, Kronmal RA, Fernandez R, Garcia B (1983b): Epidemiology of rotaviruses in a cohort of 45 Guatemalan Mayan Indian children observed from birth to the age of three years. *Journal of Infectious Diseases* 148:452–461.

Matson DO, Estes MK, Burns JW, Greenberg HB, Taniguchi K, Urasawa S (1990): Serotype variation of human group A rotaviruses in two regions of the USA. *Journal of Infectious Diseases* 162:605–614.

Meng Z-D, Birch C, Heath R, Gust I (1987): Physical stability and inactivation of human and simian rotaviruses. *Applied and Environmental Microbiology* 53:727–730.

Miller MA, McCann L (2000): Policy analysis of the use of hepatitis B, *Haemophilus influenzae* type b-, *Streptococcus pneumoniae*-conjugate, and rotavirus vaccines, in national immunization schedules. *Health Economics* 9:19–35.

Molbak K, Fischer-Perch TK, Mikkelsen CS (2001): The estimation of mortality due to rotavirus infections in sub-Saharan Africa. *Vaccine* 19:393–395.

Mphahlele MJ, Steele AD (1995): Relative frequency of human rotavirus VP4 (P) genotypes recovered over a ten-year period from South African children with diarrhea. *Journal of Medical Virology* 47:1–5.

Mrukowicz JZ, Krobicka B, Duplaga M, Kowalska-Duplaga K, Domanski J, Szajewska, Kantecki M, Iwanczak F, Pytrus T (1999): Epidemiology and impact of rotavirus diarrhoea in Poland. *Acta Paediatrica Supplement* 426:53–60.

Murphy TV, Gargiullo PM, Massoudi MS, Nelson DB, Jumaan AO, Okoro CA, Zanardi LR, Setia S, Fair E, LeBaron CW, Schwartz B, Wharton M, Livingood JR (2001): Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *New England Journal of Medicine* 344:564–572.

Oishi I (1985): Three-year survey of the epidemiology of rotavirus, enteric adenovirus, and some small spherical viruses including Osaka-agent: associated with infantile diarrhea. *Biken Journal* 28:9–19.

Oishi I, Kimura T, Murakami T, Haruki K, Yamazaki K, Seto Y, Minekawa Y, Funamoto H (1991): Serial observation of chronic rotavirus infection in an immunodeficient child. *Microbiology and Immunology* 35:953–961.

Omoigenerale AI, Abiodun PO (1995): Nosocomial rotavirus infection in newborns. *East African Medical Journal* 72:220–221.

O’Ryan M, Matson D, Estes M, Bartlett A, Pickering L (1990): Molecular epidemiology of rotavirus in children attending day care centers in Houston. *Journal of Infectious Diseases* 162:810–816.

Padilla-Noriega L, Werner-Eckert R, Mackow ER, Gorziglia M, Larralde G, Taniguchi K, Greenberg HB (1993): Serologic analysis of human rotavirus serotypes P1A and P2 by using monoclonal antibodies. *Journal of Clinical Microbiology* 31:622–628.

Padilla-Noriega L, Mendez-Toss M, Menchaca G, Contreas JF, Romero-Guido P, Puerto FI, Guiscafre H, Mota F, Herrera I, Cedillo R, Munoz O, Calva J, Guerrero ML, Coulson BS, Greenberg HB, Lopez S, Arias CF (1998): Antigenic and genomic diversity of human rotavirus VP4 in two consecutive epidemic seasons in Mexico. *Journal of Clinical Microbiology* 36:1688–1692.

Palombo EA, Masendycz PJ, Bugg HC, Bogdanovic-Sakran N, Barnes GL, Bishop RF (2000): Emergence of serotype G9 human rotaviruses in Australia. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1305–1306.

Parashar UD, Holman RC, Clarke MJ, Bresee JS, Glass RI (1998): Hospitalizations associated with rotavirus diarrhea in the United States, 1993 through 1995: surveillance based on the new ICD–9-CM rotavirus-specific diagnostic code. *Journal of Infectious Diseases* 177:13–17.

Parashar UD, Chung MA, Holman RC, Ryder RW, Hadler JL, Glass RI (1999): Use of state hospital discharge data to assess the morbidity from rotavirus diarrhea and to monitor the impact of a rotavirus immunization program: a pilot study in Connecticut. *Pediatrics* 104:489–494.

Pedley S, Hundley F, Chrystie I, McCrae MA, Desselberger U (1984): The genomes of rotaviruses isolated from chronically infected immunodeficient children. *Journal of General Virology* 65:1141–1150.

Perez-Schael I, Daoud G, White L, Urbina G, Daoud N, Perez M, Flores J (1984): Rotavirus shedding by newborn children. *Journal of Medical Virology* 14:127–136.

Perez-Schael I, Guntinas MJ, Perez M, Pagone V, Rojas AM, Gonzalez R, Cunto W, Hoshino Y, Kapikian AZ (1997): Efficacy of the rhesus rotavirus-based quadrivalent vaccine in infants and young children in Venezuela. *New England Journal of Medicine* 337:1181–1209.

Prasad BV, Burns JW, Marietta E, Estes MK, Chiu W (1990): Localization of VP4 neutralization sites in rotavirus by 3-dimensional cryo-electron microscopy. *Nature* 343:476–479.

Ramachandran M, Das BK, Vij A, Kumar R, Bhambal SS, Kesari N, Rawat H, Bahl L, Thakur S, Woods PA, Glass RI, Bhan MK, Gentsch JR (1996): Unusual diversity of human rotavirus G and P genotypes in India. *Journal of Clinical Microbiology* 34:436–439.

Ramachandran M, Gentsch JR, Parashar UD, Jin S, Woods PA, Holmes JL, Kirkwood CD, Bishop RF, Greenberg HB, Urasawa S, Gerna G, Coulson BS, Taniguchi K, Bresee JS, Glass RI, The National Rotavirus Strain Surveillance System Collaborating Laboratories (1998): Detection and characterization of novel rotavirus strains in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 36:3223–3229.

Ramos AP, Stefanelli CC, Linhares RE, de Brito BG, Santos N, Gouvea V, de Cassia Lima R, Nozawa C (2000): The stability of porcine rotavirus in feces. *Veterinary Microbiology* 71 (1–2):1–8.

Rennels MB, Glass RI, Dennehy PH, Bernstein DI, Pichichero ME, Zito ET, Mack ME, Davidson BL, Kapikian AZ (1996): Safety and efficacy of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccines: report of the national multicenter trial. *Pediatrics* 97:7–13.

Report of the meeting on future directions for rotavirus vaccine research in developing countries, Geneva, 9–11 February 2000, Geneva, 2000 (unpublished document WHO/V&B/00.23; available from Vaccines and Biologicals, World Health Organization, CH-1211 Geneva 27, Switzerland and on the Internet at www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF00/www531.pdf).

Reves RR, Hossain MM, Midthun K, Kapikian AZ, Naguib T, Zaki AM, DuPont HL (1989): An observational study of naturally acquired immunity to rotaviral diarrhea in a cohort of 363 Egyptian children. *American Journal of Epidemiology* 130:981–988.

Rodriguez WJ, Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Chanock RM, Kapikian AZ, Wyatt RG, Parrott RH (1977): Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agent in infants and young children. *Journal of Pediatrics* 91:188–193.

Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Schwartz RH, Gardner MK, Jeffries B, Parrott RH, Kaslow RA, Smith JI, Takiff H (1985): Fecal adenoviruses from a longitudinal study of families in metropolitan Washington, DC: laboratory, clinical, and epidemiologic observations. *Journal of Pediatrics* 107:514–520.

Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Schwartz RH, Gardner MK, Jeffries B, Parrott RH, Kaslow RA, Smith JI, Kapikian AZ (1987): Longitudinal study of rotavirus infection and gastroenteritis in families served by a pediatric medical practice: clinical and epidemiologic observations. *Pediatrics and Infectious Diseases* 6:170–176.

Ryan MJ, Ramsay M, Brown D, Gay NJ, Farrington CP, Wall PG (1996): Hospital admissions attributable to rotavirus infection in England and Wales. *Journal of Infectious Diseases* 174 (Suppl 1):S12-S18.

Sanchez R, Munoz P, Catalan P, Fernandez-Baca V, Rodriguez-Creixems M, Bouza E (1993): Evaluation of 2 fast methods for the detection of rotaviruses in fecal samples. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica* 11:314–316.

Santos N, Lima RCC, Pereira CFA, Gouvea V (1998): Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 36:2727–2729.

Santosham M, Moulton LH, Reid R, Croll J, Weatherholt R, Ward R, Forro J, Zito E, Mack M, Brenneman G, Davidson BL (1997): Efficacy and safety of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in Native American populations. *Journal of Pediatrics* 131:632–638.

Schorling JB, Wanke CA, Schorling SK, McAuliffe JF, Auxiliadora de Souza M, Guerrant RL (1990): A prospective study of persistent diarrhea among children in an urban Brazilian slum. *American Journal of Epidemiology* 132:144–156.

Simhon A, Mata L, Vives M (1985): Low endemicity and low pathogenicity of rotaviruses among rural children in Costa Rica. *Journal of Infectious Diseases* 152:1134–1142.

Simonsen L, Morens D, Elixhauser A, Gerber M, Van Raden M, Blackwelder W (2001): Effect of rotavirus vaccination programme on trends in admission of infants to hospital for intussusception. *Lancet* 358:1224–1229.

Sitbon M, Lecerf A, Garin Y, Ivanoff B (1985): Rotavirus prevalence and relationships with climatological factors in Gabon, Africa. *Journal of Medical Virology* 16:177–182.

Steele AD, Garcia D, Sears J, Gerna G, Nakagomi O, Flores J (1993): Distribution of VP4 gene alleles in human rotaviruses by using probes to the hyperdivergent region of the VP4 gene. *Journal of Clinical Microbiology* 31:1735–1740.

Sukumaran M, Gowda K, Maiya PP, Scrinivas TP, Kumar MS, Aijaz S, Reddy RR, Padilla L, Greenberg HB, Rao CD (1992): Exclusive asymptomatic neonatal infections by human rotavirus strains having subgroup I specificity and 'long' RNA electropherotype. *Archives of Virology* 126:239–251.

Szucs G, Uj M, Mihaly I, Deak J (1999): Burden of human rotavirus-associated hospitalizations in three geographic regions of Hungary. *Acta Paediatrica Supplement* 426:61–65.

Taniguchi K, Urasawa T, Morita Y, Greenberg HB, Urasawa S (1987): Direct serotyping of human rotavirus in stools using serotype 1-, 2-, 3-, and 4-specific monoclonal antibodies to VP7. *Journal of Infectious Diseases* 155:1159–1166.

Timenetsky M do C, Santos N, Gouvea V (1994): Survey of rotavirus G and P types associated with human gastroenteritis in Sao Paulo, Brazil, from 1986 to 1992. *Journal of Clinical Microbiology* 32:2622–2624.

Unicomb L, Coulson B, Bishop R (1989): Experience with an enzyme immunoassay for serotyping human group A rotaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 27:586–588.

Unicomb LE, Podder G, Gentsch JR, Woods PA, Hasan KZ, Faruque ASG, Albert MJ, Glass RI (1999): Evidence of high-frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in Bangladesh: emergence of type G9 in 1995. *Journal of Clinical Microbiology* 37:1885–1891.

United States Institute of Medicine (1986): The prospects of immunizing against rotavirus. In: *New vaccine development: diseases of importance in developing countries*. Washington DC: National Academy Press; D13–1 to D13–12.

Van Man N, Van Trang N, Lien HP, Trach DD, Thanh NTH, Tu PV, Long NT, Luan LT, Ivanoff B, Gentsch JR, Glass RI, Vietnam Rotavirus Surveillance Network (2001): The epidemiology and disease burden of rotavirus in Vietnam: sentinel surveillance at 6 hospitals. *Journal of Infectious Diseases* 183:1707–1712.

Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero ML, Morrow AL, Carter-Campbell S, Glass RI, Estes MK, Pickering LK, Ruiz-Palacios GM (1996): Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *New England Journal of Medicine* 335:1022–1028.

Vesikari T, Rautanen T, Von Bonsdorff CH (1999): Rotavirus gastroenteritis in Finland: burden of diseases and epidemiological features. *Acta Paediatrica Supplement* 426:24–30.

Visser LE, Portero RC, Gay NJ, Martinez-Navarro JF (1999): Impact of rotavirus disease in Spain: an estimate of hospital admissions due to rotavirus. *Acta Paediatrica Supplement* 426:72–76.

Wilhelmi I, Mier C, Roman E, Colomina J, Prat J, Sanchez-Fauquier A (1999): The molecular epidemiology of the rotavirus in Spanish children. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 18:78.

WHO Department of Vaccines and Biologicals (1999). *WHO global action plan for laboratory containment of wild polioviruses*. (Note: Second edition, 2002, in press.)

Geneva: World Health Organization. Document WHO/V&B/99.23; available from Vaccines and Biologicals, World Health Organization, CH-1211 Geneva 27, Switzerland and on the Internet at www.polioeradication.org.

Wood DJ, David TJ, Chrystie IL, Totterdell B (1988): Chronic enteric virus infection in two T-cell immunodeficient children. *Journal of Medical Virology* 24:435–444.

Wu H, Taniguchi K, Wakasugi F, Ukae S, Chiba S, Ohseto M, Hasegawa A, Urasawa T, Urasawa S (1994): Survey on the distribution of the gene 4 alleles of human rotaviruses by polymerase chain reaction. *Epidemiology and Infection* 112:615–622.

Wyatt RG, Yolken RH, Urrutia JJ, Mata L, Greenberg HB, Chanock RM, Kapikian AZ (1979): Diarrhea associated with rotavirus in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 28:325–328.

Yeager M, Dryden KA, Olson NH, Greenberg HB, Baker TS (1990): Three dimensional structure of rhesus rotavirus by cryoelectron microscopy and image reconstruction. *Journal of Cell Biology* 110:2133–2144.

Yolken RH, Bishop CA, Townsend TR (1982): Infectious gastroenteritis in bone-marrow transplant recipients. *New England Journal of Medicine* 306:1009–1012.

Zaki AM, DuPont HL, El Alamy MA, Arafat RR, Amin K, Awad MM, Bassiouni L, Imam IZ, El Malih GS, El Marsafie A, Mohieldin MS, Naguib T, Rakha MA, Sidaros M, Wasef N, Wright CE, Wyatt RG (1986): The detection of enteropathogens in acute diarrhea in a family cohort population in rural Egypt. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 35:1013–1022.

Annexe 1:
Exemples de formulaires de données pour l'analyse
d'études précédentes de la diarrhée à rotavirus

Tableau A. Classement d'études locales précédentes de la diarrhée à rotavirus

Emplacement et contexte de l'étude	Durée de l'étude	Fourchette d'âge des sujets (mois)	Test utilisé pour dépister le rotavirus	Résultats des tests	
				Nombre d'échantillons testés	Nombre (%) positifs- rotavirus

Tableau B. Hospitalisations pour gastroentérite par âge imputable au rotavirus chez les enfants âgés de 0 à 59 mois

Groupe d'âge (mois)	Nombre d'hospitalisations pour gastroentérite	Nombre (%) d'hospitalisations pour gastroentérite imputable aux rotavirus	Nombre cumulatif (%) d'hospitalisations pour gastroentérite à rotavirus
0-2			
3-5			
6-8			
9-11			
12-17			
18-23			
24-35			
36-47			
48-59			
Total			

Annexe 2 :

Formulaire de notification des cas de diarrhée

Hôpital notifiant : _____ Dossier médical No. : _____

Date d'hospitalisation : ____/____/____ (jour/mois/année)

Information sur le patient

Nom de famille : _____ Prénom : _____

Adresse : _____ Ville : _____ District : _____

Age (mois) : _____ Date de naissance : ____/____/____ (jour/mois/année) Sexe : M F (encercler)

Information clinique

Température : _____ °C

Vomissement : _____ (Oui/Non) No d'épisodes/24 h : _____ Durée (jours) : _____

Diarrhée : _____ (Oui/Non) No d'épisodes/24 h : _____ Durée (jours) : _____

Issue

Date de sortie ou décès : ____/____/____ (jour/mois/année)

Information de laboratoire

Date de prélèvement des échantillons de selles : ____/____/____ (jour/mois/année)

Bactérie dépistée dans les selles ? _____ (Oui/Non) Si « Oui », quelle bactérie ? _____

Parasites dépistés dans les selles ? _____ (Oui/Non) Si « Oui », quelle bactérie ? _____

Pour les rotavirus, prière de remplir :

Rotavirus dépisté dans les selles ? _____ (Oui/Non) Si « Oui », par quelle méthode ? _____

Quel était le sérotype G (si connu) ? _____

Personne remplissant le formulaire :

Nom : _____ Signature : _____

Date du rapport : ____/____/____ (jour/mois/année)

Annexe 3 :
Exemple de registre sur les échantillons de selles

No ID	Date obtenu (jour/mois/année)	Nom du patient	Age (mois)	Quantité estimée de selles (grammes)	Résultats du dépistage des selles			Caractérisation des selles positives-rotavirus			Emplacement du stockage des extraits de selles	Emplacement du stockage des spécimens
					Test bactérien	Test parasitaire	Technique immunoenzymatique	Type E	Sérotype G	Génotype G		
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											
	__/__/__											

Annexe 4 :

Surveillance sentinelle dans les laboratoires régionaux pour le rotavirus

Un volet laboratoire est essentiel pour toute activité de surveillance des rotavirus. Cela implique parfois un système à base hospitalière uniquement ou alors, un réseau de laboratoires qui signalent les dépistages de rotavirus et une petite quantité de données démographiques ou caractérisation des souches. La discussion suivante concerne un réseau de laboratoires qui notifient essentiellement les données du dépistage. Toutefois, il serait utile, en rapport avec un volet laboratoire d'un système, quel qu'il soit, à savoir une surveillance sentinelle en milieu hospitalier.

Choix des laboratoires

On pourra utiliser un réseau de laboratoires qui signalent des données sur le nombre de dépistages hebdomadaires de rotavirus pour évaluer les tendances temporelles et géographiques de l'activité des rotavirus dans une région donnée. Il faudra vérifier que les laboratoires qui participent sont représentatifs du point de vue géographique, qu'ils traitent un nombre suffisant d'échantillons de selles chaque mois et qu'ils utilisent des méthodes avec des sensibilités et spécificités analogues pour le dépistage des rotavirus, de sorte à ce que les données qu'ils dégagent soient des données solides et comparables. Les laboratoires participant devraient, dans la mesure du possible, travailler avec un hôpital pédiatrique ou général de sorte à ce que les données de laboratoire puissent être reliées à l'information clinique sur les enfants dont les échantillons de selles contiennent des rotavirus.

Système de surveillance

Les laboratoires qui participent devraient utiliser un formulaire de notification de cas afin de faire un compte rendu hebdomadaire du nombre total de spécimens fécaux traités, du type de test réalisé (par exemple, test de dépistage rapide des antigènes, microscopie électronique), et du nombre de spécimens qui contiennent des rotavirus (voir exemple d'un formulaire de notification des cas d'un laboratoire). Certes, il est souhaitable de disposer d'une information démographique sur un sous-ensemble de patients, notamment leur âge, sexe, gravité de la maladie et emplacement (par exemple, consultation externe ou service hospitalier), mais il est parfois difficile à obtenir à cause du surcroît d'effort que cela demande au personnel du laboratoire et parce que certains laboratoires de référence n'ont pas toujours accès aux données en question. Même si l'on ne dispose pas de l'information démographique, les données sur le nombre de dépistages mensuels de rotavirus devraient être suffisantes pour évaluer les tendances géographiques et temporaires de l'activité des rotavirus. Si l'on veut renforcer la communication, les laboratoires pourraient fournir une information hebdomadaire par le biais d'un système téléphonique ou d'un système informatique dans les pays où existent de telles possibilités.

Analyse de données

Un examen sera fait des indicateurs de l'activité des rotavirus pour chaque laboratoire, notamment le nombre d'échantillons fécaux analysés, le nombre de dépistages de rotavirus et le pourcentage d'échantillons positifs à rotavirus. Si l'on veut examiner les tendances saisonnières, il faudra étudier les taux de dépistage des rotavirus sur la base mensuelle ou hebdomadaire. Dans les régions où les rotavirus ont un caractère saisonnier bien déterminé, on pourra définir le pic de l'activité à rotavirus comme étant les deux semaines consécutives avec le nombre le plus élevé de dépistages de rotavirus. Le début de la saison à rotavirus sera défini comme étant la semaine où le nombre de dépistages de rotavirus dépasse pour la première fois le nombre moyen de dépistages de rotavirus par semaine pour l'année entière. La durée de la saison à rotavirus sera définie comme étant le nombre de semaines pendant lesquelles les dépistages dépassent la moyenne hebdomadaire. Il faudra examiner les différences spatiales en ce qui concerne le moment de l'activité saisonnière des rotavirus en évaluant le moment de l'activité pic dans les sites individuels. On pourra les porter sur des cartes grâce à un logiciel informatique sophistiqué.

Caractérisation des souches

La caractérisation des souches de rotavirus qui existent couramment au niveau local avant que ne soit réalisé un programme de vaccinations, généralement par typage sérologique, est utile pour évaluer l'impact possible d'un vaccin et l'efficacité d'un programme et pour mieux comprendre les éventuelles raisons qui expliquent l'échec d'un programme. Un personnel qualifié de laboratoire et un matériel spécifique sont les atouts nécessaires pour la caractérisation des souches et celles-ci demandent un nombre relativement important de ressources. Aussi, ne peut-on pas s'attendre à ce que tous les sites de surveillance intègrent cette caractérisation à leur système ou que tous les échantillons contenant des rotavirus puissent être caractérisés plus dans le détail. Toutefois, il est possible de mettre sur pied des réseaux régionaux ou d'organiser des collaborations régionales car ainsi, d'autres laboratoires intéressés pourront caractériser les souches.

Sélection des échantillons pour une caractérisation plus poussée

Un échantillon de selles positives contenant des rotavirus obtenues d'une surveillance à base hospitalière ou d'une surveillance à base de laboratoire sera retenu pour une caractérisation plus poussée. Le type et la taille de l'échantillon dépendent du nombre de tests positifs, des ressources de l'institution en question, du nombre et de l'hétérogénéité des sites de surveillance, de la variabilité des souches lors d'études passées, ainsi que d'autres facteurs. Il faut couvrir tous les sites d'un système de surveillance pour que les résultats soient aussi représentatifs que possibles. Des échantillons prélevés tout au long de l'année devront être examinés. Seuls les échantillons qui ont un volume suffisant pour plusieurs tests seront choisis pour éviter d'épuiser le matériel avant d'avoir pu achever le nombre adéquat de tests. La sélection devrait être aussi aléatoire et standardisée que possible pour diminuer les biais de la sélection et devrait être simple de sorte à vérifier qu'il n'y a pas de perte de données et pour favoriser l'observance. Par exemple, un site peut inclure les trois premiers échantillons positifs-rotavirus chaque mois à chaque laboratoire ou hôpital qui participe.

Examen des méthodes

Les rotavirus sont le plus souvent caractérisés par rapport à leurs protéines VP7 (G) et VP4 (P). Il s'agit des antigènes viraux que visent les anticorps neutralisant. C'est la base de la nomenclature des rotavirus. En outre, les vaccins qui sont en train d'être mis au point visent à induire une protection à partir de virus avec des types G et P spécifiques et, par conséquent, il pourrait être important de connaître les types courants pour prendre les décisions quant aux meilleurs vaccins dans le contexte local.

La caractérisation des souches locales consiste notamment à faire un type sérologique G par l'entremise des techniques immunoenzymatiques avec les anticorps monoclonaux spécifiques au type pour les sérotypes prédominants (généralement G1–G4) et peut-être d'autres souches suivant les données locales précédentes. Le classement du type P se fait par amplification en chaîne par polymérase et hybridation et, par conséquent, il risque d'être trop difficile à exécuter pour tous les échantillons positifs-rotavirus. Il sera pourtant envisagé pour un sous-ensemble. L'électrophorèse sur gel polyacrylamide est une autre méthode utilisée couramment pour caractériser les rotavirus, comprise parfois dans un algorithme de test mais elle est probablement moins utile que le typage sérologique G.

Exemple de formulaire de données à utiliser pour la surveillance à base de laboratoire

Compte rendu hebdomadaire – système de notification des laboratoires à rotavirus

Numéro d'identification du laboratoire : _____

Semaine de surveillance		Test utilisé (type de test et fabricant)	Nombre de tests exécutés	Nombre positifs-rotavirus
Date de début	Date de fin			
___/___/___				
___/___/___				
___/___/___				
___/___/___				
___/___/___				
___/___/___				
___/___/___				

Deuxième Partie :
**Protocole générique pour une enquête à base communautaire
sur la fréquentation des services de soins de santé pour la
gastroentérite chez les enfants de moins de 5 ans**

Richard B. Biritwum
Department of Community Health
Ghana Medical School, Accra, Ghana

Joseph Bresee
WHO Collaborating Centre for Rotavirus and the Agents of Viral Gastroenteritis
Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Etats-Unis

1. Introduction

Les rotavirus sont une des causes les plus fréquentes de la diarrhée aiguë chez les enfants dans le monde entier et une causes prédominante des décès imputables à la diarrhée lors de la prime enfance (*de Zoysa and Feachem 1985, Miller and McCann 2000*). Les améliorations portées à l'assainissement et à la qualité de la nourriture et de l'eau n'ont pas réussi à modifier l'incidence de l'infection rotavirale dans un grand nombre de pays. Aussi juge-t-on que les vaccins représentent l'intervention qui est la plus susceptible de prévenir la maladie et un certain nombre de vaccins contre les rotavirus font l'objet de tests cliniques à l'heure actuelle. (*Vaccins et Produits biologiques 2000*).

Aux fins de préparer les pays pour qu'ils puissent prendre les bonnes décisions concernant l'introduction des nouveaux vaccins contre les rotavirus, la Première Partie de ce document décrit une méthode pour la surveillance à base hospitalière de la gastroentérite rotavirale chez les enfants de moins de 5 ans. Parallèlement à la surveillance hospitalière, il est important de déterminer le mode d'utilisation des services hospitaliers chez les mères dont les enfants souffrent de grave diarrhée dans les zones desservies. Nous savons que les comportements de consultation des services de santé et les traitements pour les enfants souffrant de maladies diarrhéiques varient considérablement d'un pays à l'autre. D'après les enquêtes récentes, on cherche de plus en plus à obtenir des soins pour la diarrhée à l'extérieur du domicile (*Mururi et al. 1996*). Au regard de cette tendance, il est important de connaître les structures dans lesquelles sont dispensés les soins pour la gastroentérite, ainsi que les attitudes et les pratiques de la population face à la gastroentérite pédiatrique et son traitement afin de pouvoir concevoir la meilleure étude possible de la charge de morbidité liée au rotavirus et de comparer les données entre les études faites dans différents contextes.

2. Objectifs

Cette enquête à base communautaire a pour objet essentiel de déterminer la proportion d'enfants souffrant de diarrhée grave qui sont traités dans les hôpitaux et qui doivent participer à l'étude de surveillance de la gastroentérite rotavirale. Cette information permet de déterminer si certains hôpitaux particuliers sont de bons sites convenant à une telle surveillance. La surveillance à base hospitalière ayant pour but de saisir les cas graves de gastroentérite à rotavirus qui se présentent chez les enfants de moins de 5 ans, les modes de consultation des services de santé au sein de la population concernés représentent un indicateur important de l'adéquation des structures pour les activités de surveillance. L'enquête doit dégager les éléments suivants : (i) quelles sont les mesures que prennent les mères dont les enfants ont eu un épisode grave de diarrhée pendant une période spécifiée d'un mois précédent l'enquête ; et (ii) que feraient les mères si leur enfant souffrait de diarrhée grave.

Les résultats de cette enquête permettront d'estimer la proportion de gastroentérites chez les enfants de moins de 5 ans dont la maladie sera ratée par le système de surveillance à base hospitalière. Cette information peut être utilisée pour ajuster les données à base hospitalière afin de mieux refléter la véritable charge de la maladie au sein de la communauté.

3. Méthodes

3.1 Conception de l'étude

L'enquête utilise une procédure d'échantillonnage par grappe pour choisir les ménages au sein de la zone d'orientation-recours de l'hôpital ou des hôpitaux proposés de l'étude. La mère (ou autre personne) qui s'occupe d'un enfant concerné sera retenue pour l'interview qui sera faite à l'aide d'un questionnaire uniforme (Annexe 1). La technique d'échantillonnage par grappe permet de retenir un petit nombre de membres de la population ciblée tout en dégagant des données qui sont valides du point de vue statistique. Il est nécessaire de connaître la zone desservie par l'hôpital ou les hôpitaux proposés, le nombre d'unités d'échantillonnage au sein de la zone desservie ainsi que la taille de la population dans chaque unité d'échantillonnage.

La zone d'orientation-recours ou zone desservie par l'hôpital sera utilisée comme la base de l'échantillonnage. Pour un grand nombre d'hôpitaux, la zone desservie géographiquement peut être définie administrativement à l'aide d'une carte pour montrer les zones administratives où habite la population desservie. Lorsque la zone desservie par l'hôpital n'est pas clairement définie, l'enquêteur devra prendre d'autres facteurs, tels que la distance séparant de l'hôpital ou des hôpitaux ou les adresses dans les dossiers des enfants hospitalisés dans l'hôpital proposé sur une période donnée. Une fois définie la base de l'échantillonnage, l'enquêteur devra déterminer si toutes les unités d'échantillonnage identifiables se situent à l'intérieur de cette zone géographique. Les unités d'échantillonnage peuvent être définies de diverses manières : la définition d'une unité d'échantillonnage dépend en fin de compte du type d'information disponible localement. D'autres enquêtes retiennent comme unité d'échantillonnage les pâtés de maisons dans les zones urbaines, les villages dans les zones rurales, les délimitations d'un recensement, les quartiers et autres districts administratifs. Au sein de la base de sondage, chaque zone doit être incluse dans l'une des unités d'échantillonnage. On pourra faire une carte de la base de sondage et des unités d'échantillonnage pour vérifier qu'aucune zone géographique n'est oubliée.

Pour ce protocole générique, nous avons choisi un exemple adapté (avec quelques modifications) d'une région sous-métropolitaine d'Accra, au Ghana, desservie par un important hôpital public. Cette zone géographique constitue la base de l'échantillonnage de l'enquête. Cette base comprend 16 blocs administratifs qui constituent les unités d'échantillonnage de l'étude. La Figure 1 indique une carte avec la base de l'échantillonnage, l'emplacement de l'hôpital (marqué « H ») et les 16 unités d'échantillonnage.

Il faut connaître le nombre d'habitants estimés le plus récent pour chaque unité d'échantillonnage. Ce nombre sera relativement facile à obtenir s'il existe un recensement récent. Dans les faits, c'est parfois plus difficile qu'on ne le pense si un temps assez long s'est écoulé depuis le dernier recensement. La chose la plus importante est de vérifier que les tailles relatives des unités d'échantillonnage sont approximativement correctes.

Figure 1. Carte indiquant la base de l'échantillon de l'enquête et les 16 unités d'échantillonnage, H indique l'hôpital

Please, insert Figure

3.2 Taille de l'échantillon

L'enquête bien connue du PEV à 30 grappes utilise une taille d'échantillon de 210 enfants, à savoir 30 grappes de sept enfants chacune (*Programme élargi de Vaccinations 1991, Henderson et Sundaresan 1982, Lemeshow et Robinson 1985*). Cela se fonde sur un taux prévu de couverture vaccinale de 50%, avec une précision de 10% et un niveau de confiance de 95%. Plusieurs modifications de la méthode ont été appliquées à différentes situations (*Malilay et al. 1996*).

Dans l'enquête actuelle, l'on suppose que la prévalence de la diarrhée grave au sein d'une population d'enfants âgés de moins de 5 ans est de 30% et que 90% des mères emmènent à l'hôpital les enfants souffrant de diarrhée grave. Une taille d'échantillon de 600 est nécessaire avec une précision de 5% et un niveau de confiance de 95%. L'Annexe 2 apporte des détails supplémentaires sur le calcul de la taille de l'échantillon.

Un échantillon de 600 sera couvert par des interviews de 20 mères dans chacune des 30 grappes.

3.3 Choix des 30 grappes

Un tableau sera fait avec quatre colonnes avec le nom de chaque unité d'échantillonnage dans la première colonne et la taille de la population ou la taille estimée de la population dans la seconde colonne (voir Tableau 1). La troisième colonne est celle de la population cumulative qui sera calculée par l'enquêteur. La quatrième colonne indique les grappes particulières choisies pour l'enquête sur la base de l'intervalle d'échantillonnage (S) et un choix d'un nombre aléatoire (N) entre 1 et l'intervalle d'échantillonnage.

Tableau 1. Liste des unités d'échantillonnage de la base d'échantillonnage avec leur population et population cumulative

Unités d'échantillonnage	Population	Population cumulative	Grappes choisies pour l'enquête
Chorkor	34 846	34 846	
Lower Zongo	17 904	54 750	
Mamprobi	37 300	91 050	
Laterbiokorshie	15 925	106 975	
Zamrama Line	12 145	119 120	
Banana-inn	34 840	153 960	
Upper Zongo	15 440	169 400	
Town Council Line	12 082	181 482	
Sukura/Rassia	12 875	194 357	
Mabruk	18 717	213 074	
Agege	10 582	223 656	
Abose-Okai	10 807	234 463	
Old Dansoman	19 000	253 463	
Mataheko	73 000	326 463	
Korle Gonno	90 100	416 563	
Korle Bu	4 200	420 763	
Gbebu	29 837	450 600	
Total	450 600		

Dans l'exemple donné sur le Tableau 1, la population totale de l'échantillon est de 450 600. L'intervalle d'échantillonnage S est obtenu en divisant la population totale par 30.

$$S = 450\,600/30 = 15\,020.$$

Ensuite, l'enquêteur devra choisir un nombre aléatoire d'un tableau de nombres aléatoires (Annexe 3). Une colonne et une rangée sont choisies aléatoirement en fonction des instructions. Le nombre aléatoire à cinq chiffres à leur intersection est le point de départ. Le premier nombre qui se situe entre 1 et l'intervalle d'échantillonnage est choisi comme N. Dans cet exemple, nous avons choisi aléatoirement la colonne 3 et la rangée 21, d'où un point de départ de 26 382. En restant dans la rangée 21, le premier nombre aléatoire à droite du point de départ qui est égal ou inférieur à l'intervalle d'échantillonnage (S) est de 01100, situé à la colonne 8.

Par conséquent, N = 1100.

Les calculs pour choisir les 30 grappes sont indiqués sur le Tableau 2. La première des 30 grappes devant être choisie se situe dans la première unité d'échantillonnage avec une population cumulative égale ou supérieure à N. La seconde grappe se situe dans l'unité d'échantillonnage avec une population cumulative contenant le nombre aléatoire plus un intervalle d'échantillonnage (N + S). La troisième grappe est située dans l'unité d'échantillonnage dont la population cumulative est égale ou dépasse (N + S + S). Les grappes restantes sont choisies de la même manière en ajoutant l'intervalle d'échantillonnage au chiffre précédent et en identifiant l'unité d'échantillonnage correspondante avec une population cumulative égale ou supérieure à la somme calculée.

Tableau 2. Calculs pour le choix des 30 grappes

Numéro de la grappe	Formule	Calcul	Population cumulative	Emplacement de la grappe
1	N	1 100	1 100	Chorkor
2	N + S	1100 + 15 020	16 120	Chorkor
3	N + S + S	1100 + (2 * 15 020)	31 140	Chorkor
4	N + S + S + S	1100 + (3 * 15 020)	46 160	Lower Zongo
5	N + S + S + S + S	1100 + (4 * 15 020)	61 180	Mamprobi
-				
-				
29	N + (28 * S)	1100 + (28 * 15 020)	421 660	Gbebu
30	N + (29 * S)	1100 + (29 * 15 020)	436 680	Gbebu

Le Tableau 3 indique les résultats finals de la méthode de sélection des grappes. Lorsque deux grappes ou plus se situent dans une seule unité d'échantillonnage, comme c'est le cas à Chorkor, Mamprobi, Laterbiokorshie, etc. dans l'exemple, l'unité d'échantillonnage devra être sous-divisée par le nombre de grappes prévues qui ne doivent pas se chevaucher.

Tableau 3. Les 30 grappes choisies pour l'enquête

Unités d'échantillonnage	Population	Population cumulative	Grappes choisies pour l'enquête
Chorkor	34 846	34 846	1, 2, 3
Lower Zongo	17 904	54 750	4
Mamprobi	37 300	91 050	5, 6
Laterbiokorshie	15 925	106 975	7, 8
Zamrama Line	12 145	119 120	
Banana-inn	34 840	153 960	9, 10, 11
Upper Zongo	15 440	169 400	12
Town Council Line	12 082	181 482	13
Sukura/Rassia	12 875	194 357	
Mabruk	18 717	213 074	14, 15
Agege	10 582	223 656	
Abose-Okai	10 807	234 463	16
Old Dansoman	19 000	253 463	17
Mataheko	73 000	326 463	18, 19, 20, 21, 22
Korle Gonno	90 100	416 563	23, 24, 25, 26, 27, 28
Korle Bu	4 200	420 763	
Gbebu	29 837	450 600	29, 30
Total	450 600		

Dans notre exemple, il existe plusieurs grappes situées dans une seule unité d'échantillonnage. Dans cette situation, il faudra sous-diviser l'unité d'échantillonnage et revoir la carte. La Figure 2 montre une carte indiquant l'emplacement de toutes les 30 grappes et, chaque fois que nécessaire, les unités d'échantillonnage ont été sous-divisées.

Figure 2. Carte indiquant l'emplacement des 30 grappes dans la base d'échantillonnage, H indique l'hôpital

3.5 Choix du premier ménage

Dans chaque unité d'échantillonnage (ou sous-division de l'unité d'échantillonnage) où une grappe a été choisie, une maison est choisie au hasard en tant que ménage marquant le point de départ de l'enquête. Un ménage est défini comme un groupe de personnes qui vivent et mangent ensemble. Une maison peut contenir un ou plusieurs ménages.

On utilisera les trois étapes suivantes pour choisir le ménage de départ. Etape 1 : un emplacement unique est retenu dans la grappe choisie ; il peut s'agir d'un cinéma, d'un marché, d'un restaurant ou d'un endroit populaire. Etape 2 : une des routes ou un des sentiers rejoignant l'emplacement est choisi au hasard. Etape 3 : la première maison pour l'enquête est choisie au hasard le long de la route ou du sentier, soit à gauche, soit à droite.

3.6 Choix au hasard

Le tirage au sort peut être utilisé pour choisir au hasard, soit la route, soit la maison. S'il existe quatre routes ou rues menant à l'emplacement, on utilise des morceaux de papier et sur chacun est inscrit le nom de l'une des routes. Les morceaux de papier sont mis dans une enveloppe pour que les noms ne soient pas visibles et l'on demande à quelqu'un de choisir un morceau de papier. La même méthode peut être utilisée pour les maisons le long de la route choisie (par exemple, s'il existe neuf maisons le long d'une route choisie, l'une peut être retenue comme maison de départ en faisant un tirage au sort). Des interviews sont faites dans tous les ménages concernés de la maison choisie à l'aide d'un questionnaire (Annexe 1).

3.7 Population

L'étude de la population comprend les enfants de moins de 5 ans (c'est-à-dire de moins de 60 mois) qui habitent dans la zone de la base de l'échantillonnage qui est la région desservie par l'hôpital ou les hôpitaux envisagés pour l'étude de surveillance des rotavirus.

3.8 Délais

Les questions de l'enquête entrent dans deux catégories. Premièrement, on demande aux mères qu'elles ont été les maladies de leurs enfants de moins de 5 ans pendant le mois précédent. Deuxièmement, on demande aux mères ce qu'elles feraient si leur enfant avait une diarrhée grave avec déshydratation. La gastroentérite à rotavirus chez les enfants tend à avoir un caractère saisonnier dans les régions tempérées avec une incidence pic en hiver. Par contre, dans les régions tropicales, le caractère saisonnier du rotavirus est moins évident, bien qu'il y ait souvent une légère élévation pendant la saison sèche (*Biritwum et al. 1984, Molbak et al. 2001*). Aussi, serait-il bon pour les enquêteurs de consulter les pédiatres dans les hôpitaux proposés de l'étude pour voir quand se situe la saison locale des rotavirus. En effet, si on réalise l'enquête pendant la saison pic, on obtiendra probablement plus de cas et un meilleur rappel des événements de la part des mères.

3.9 Administration du questionnaire de l'enquête

L'Annexe 1 présente le questionnaire de l'enquête. Les données collectées concernent des informations sur le ménage et la structure familiale, les maladies diarrhéiques récentes chez les enfants de moins de 5 ans qui vivent dans le ménage, les soins administrés pour les maladies diarrhéiques et la fréquentation des services de soins de santé pour les éventuels cas de diarrhée grave chez les enfants. Il faudra probablement modifier les questions pour qu'elles conviennent bien à chaque endroit. Toutefois, aux fins de comparaison entre les divers sites, les enquêteurs devraient retenir les principaux éléments du questionnaire. Dans certains pays, par exemple, les dates de naissance des enfants ne sont pas connues et il faudra peut-être utiliser un calendrier d'événements pour estimer les âges.

La première question de l'enquête demande si un enfant de moins de 5 ans vit dans le ménage en question. Si la réponse est négative, il faudra l'indiquer sur le questionnaire et l'enquêteur passera au ménage suivant. Un nouveau questionnaire est utilisé pour chaque ménage, de sorte à ce que chaque ménage, qu'il ait un enfant de l'âge retenu ou non, dispose d'un questionnaire dans la base de données. Par contre, seuls les questionnaires concernant des enfants de moins de 5 ans sont comptés dans le total des 600 qui sont nécessaires. Le questionnaire devrait toujours être administré à une mère ou autre personne qui s'occupe de l'enfant puisque ce sont probablement ces personnes qui apportent les meilleures données pour l'enquête. Si la mère ou l'autre personne s'occupant essentiellement de l'enfant n'est pas disponible, on l'indiquera sur le questionnaire et l'enquêteur passera au prochain ménage. Un message sera laissé dans chaque ménage où aucune réponse n'a été obtenue indiquant que l'enquêteur repassera probablement. S'il n'y a toujours pas de réponse après deux visites supplémentaires, le ménage est remplacé en continuant après avoir interviewé le dernier ménage dans la grappe en question.

Après avoir rempli le questionnaire dans le premier ménage, d'autres ménages sont choisis en fonction de la proximité la plus proche au ménage où l'interview a été achevée (*Henderson and Sundaesan 1982, Lemeshow and Robinson 1985*). Les interviews sont réalisées dans tous les ménages présentant les conditions requises dans une maison jusqu'à ce que l'on ait atteint la taille de l'échantillon escomptée de 20 par grappe.

4. Résultats et analyse de données

La question qui revêt le plus d'intérêt pour l'enquête est la suivante : « Quelle est la proportion d'enfants de moins de 5 ans avec diarrhée grave qui obtiennent des soins dans l'un des hôpitaux participant à l'étude de la surveillance du rotavirus ? » Cette information permet de faire une évaluation de l'adéquation de l'hôpital pour l'étude de surveillance du rotavirus. Les résultats de l'enquête permettent également d'estimer la véritable incidence de la diarrhée rotavirale grave dans la communauté à la fin de la période de la surveillance hospitalière.

4.1 Définitions

Voici des définitions de la **diarrhée grave**.

Tableau 4. Définitions de la diarrhée grave

1	Diarrhée aqueuses et aiguë (plus de trois selles liquides ou aqueuses lors d'une période de 24 heures dans présence de sang) et au moins deux des signes suivants : <ul style="list-style-type: none">• léthargie/perte de connaissance ;• yeux enfoncés ;• incapable de boire ou ne boit que très peu
2	Nom local pour la diarrhée grave (le cas échéant)
3	L'enfant a reçu une réhydratation par voie intraveineuse

Si *l'une quelconque* des définitions susmentionnées s'applique, l'enfant peut être considéré comme souffrant de diarrhée grave.

4.2 Analyse des données

Les 600 enquêtes remplies constituent l'ensemble de données. Une analyse de fréquence initiale devra être faite pour toutes les variables pour détecter les données manquantes ou incomplètes.

A. La proportion de cas de diarrhée grave qui obtiennent un traitement à un hôpital ou des hôpitaux participant à la surveillance

Numérateur = nombre utilisant l'hôpital (les hôpitaux) participant (**Q13**).

Dénominateur = nombre qui ont souffert de diarrhée grave pendant la période spécifiée (variable qui sera créée à partir de **Q9, Q10 et Q11**).

Conditions

1. « Oui » pour **Q9** et **Q10a** avec l'un quelconque de **Q10b** à **Q10h**.
2. « Non » pour **Q11**.

B. Estimation de la proportion de mères qui se rendraient à l'hôpital ou aux hôpitaux participant si leur enfant souffrait de diarrhée grave

Numérateur = nombre de mères qui choisiraient un hôpital participant.

Dénominateur = nombre de mères interviewées.

Il convient de noter que les mères qui choisiraient un hôpital non participant ou une autre source de soins de santé, telle qu'un centre de santé ou une pharmacie, pourraient être envoyées par la suite à l'hôpital participant. Aussi faut-il considérer les estimations ci-dessus comme des valeurs minimales.

Toutes ces estimations peuvent être calculées avec des logiciels statistiques tels que EPI INFO et SPSS ou peuvent être calculées manuellement. On calculera un intervalle de confiance de 95% pour chaque estimation.

4.3 Utilisation de l'estimation

L'estimation est une mesure de l'ordre de grandeur relative des cas traités à l'hôpital ou aux hôpitaux participant. Toutefois, quel que soit le niveau de cas traités à l'hôpital, les activités de surveillance qui sont conçues pour suivre les tendances restent valides si le mode ou l'utilisation de l'établissement est inchangée. Le taux d'incidence peut être estimé si l'on compte tous les enfants de moins de 5 ans avec diarrhée grave pendant la période d'un mois et tous les enfants appartenant à ce groupe d'âge au sein de la population. Cependant, dans bien des situations, la taille de l'échantillon pour cette enquête sera probablement trop faible pour arriver à des estimations valides de l'incidence.

4.4 Autre information du questionnaire

Le reste des données du questionnaire devraient être analysées pour comprendre davantage les facteurs se rapportant à la cause et à la qualité de la prise en charge de la diarrhée grave. Par exemple, le statut socioéconomique de la famille peut influencer le niveau de soins dispensés (**Q6** à **Q8**, **Q19**, **Q20**). La qualité des soins médicaux dispensés lors des épisodes de diarrhée grave peut être dégagée des questions **Q14** à **Q18**.

5. Divers points à envisager lorsqu'on planifie l'enquête

Plusieurs points seront envisagés au départ de la phase de planification.

1. L'enquête doit être revue et approuvée par le comité éthique local.
2. Le chef d'équipe doit avoir de l'expérience en matière de conception d'enquête et de réalisation et analyse des enquêtes.
3. Une carte ou un schéma de la zone desservie par l'hôpital (base d'échantillonnage pour l'enquête) doit être disponible avec une indication claire des unités d'échantillonnage. De plus, l'enquêteur devra connaître les tailles de la population pour chaque unité d'échantillonnage de la base d'échantillonnage.
4. Le personnel de l'enquête doit recevoir une formation en utilisant des zones d'enquête pilote ou des jeux de rôle.
5. Les instructions doivent être données clairement au personnel de l'enquête concernant la sélection des ménages.
6. Quand le personnel de l'enquête retient un ménage où la mère ou autre personne s'occupant d'un enfant de moins de 5 ans n'est pas présente, on informera clairement les personnes dans le ménage de l'heure à laquelle reviendra l'enquêteur.
7. Le chef d'équipe doit assurer la disponibilité de personnes possédant les compétences nécessaires pour la saisie et l'analyse de données.

Références

Biritwum RB, Isomura S, Yamaguchi H, Toba M, Mingle JA (1984): Seroepidemiological study of rotavirus infection in rural Ghana. *Annals of Tropical Paediatrics* 4(4):237–240.

de Zoysa I, Feachem RG (1985): Interventions for the control of diarrhoeal disease among young children: rotavirus and cholera immunization. *Bulletin of the World Health Organization* 63:569–583.

Expanded Programme on Immunization (1991): *The EPI Coverage Survey: Training for Mid Level Managers*. Document WHO/EPI/MLM/91.10. Geneva: World Health Organization.

Henderson RH, Sundaresan T (1982): Cluster sampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *Bulletin of the World Health Organization* 60(2):253–260.

Lemeshow S, Robinson D (1985): Surveys to measure programme coverage and impact: a review of the methodology used by the Expanded Programme on Immunization. *World Health Statistics Quarterly* 38(1):65–75.

Malilay J, Flanders WD, Brogan D (1996): A modified cluster-sampling method for post-disaster rapid assessment of needs. *Bulletin of the World Health Organization* 74(4):399–405.

Miller MA, McCann L (2000): Policy analysis of the use of hepatitis B, *Haemophilus influenzae* type b-, *Streptococcus pneumoniae*-conjugate, and rotavirus vaccines, in national immunization schedules. *Health Economics* 9:19–35.

Molbak K, Fischer TK, Mikkelsen CS (2000): The estimation of mortality due to rotavirus infections in sub-Saharan Africa. *Vaccine* 19(4–5):393–395.

Muhuri PK, Anker M, Bryce J (1996): Treatment patterns for childhood diarrhoea: evidence from demographic and health surveys. *Bulletin of the World Health Organization* 74(2):135–146.

WHO Department of Vaccines and Biologicals (2000). *Report of the meeting on future directions for rotavirus vaccine research in developing countries, Geneva, 9–11 February 2000*. Geneva: World Health Organization. Document WHO/V&B/00.23; available from Vaccines and Biologicals, World Health Organization, CH-1211 Geneva 27, Switzerland and on the Internet at www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF00/www531.pdf.

Annexe 1 :

Questionnaire sur l'utilisation des services de soins de santé pour la gastroentérite chez un enfant de moins de 5 ans

Nom de l'unité d'échantillonnage (village/communauté/voisinage) _____

Grappe No. _____

Gamme des dates de naissances permises : de ___/___/___ (jour/mois/année) à ___/___/___ (jour/mois/année)

Date de l'interview : ___/___/___ (jour/mois/année)

Nom de l'enquêteur : _____

Adresse/emplacement du ménage : _____

Partie A

1. Y a-t-il des enfants de moins de 5 ans vivant dans ce ménage ? Oui Non
Si « Non », dites 'Merci' et passez au ménage suivant.
Si « Oui », passez à la question 2.

Si le ménage compte plus d'un enfant de moins de 5 ans, utilisez un formulaire séparé pour chaque enfant.

- 2.
- a. Pouvez-vous me dire quel âge a cet enfant ? _____ mois
 - b. Pouvez-vous me donner sa date de naissance? ___/___/___ (jour/mois/année)
3. Quel est le sexe de l'enfant ? M/F
4. Est-ce que vous êtes la mère ou la principale personne qui s'occupe de l'enfant ? Oui Non
Si « Non », demandez si la mère ou la personne est disponible ; sinon, prenez rendez-vous pour une visite de suivi et passez au ménage suivant.
Si « Oui », passez à la question suivante.
5. Quelle est votre lien de parenté avec [nom de l'enfant] ? _____ Mère
_____ Père
_____ Grand-mère
_____ Grand-père
_____ Tante
_____ Sœur
_____ Autre : _____
6. Combien d'années scolaires avez-vous achevées ? _____
7. Quelle est la profession du père ? _____

-
8. Est-ce que vous possédez l'un de ces articles ?
(Il faudra peut-être modifier cette liste en fonction de la situation locale.)
- | | | |
|-------------------|-----|-----|
| Radio | Oui | Non |
| Télévision | Oui | Non |
| Moto | Oui | Non |
| Réfrigérateur | Oui | Non |
| Voiture ou camion | Oui | Non |
- A présent, je vais vous poser des questions sur les maladies récentes que *[nom de l'enfant]* a eues.
9. Est-ce que *[nom de l'enfant]* a eu une maladie avec la diarrhée au cours du mois dernier ?
- | | | |
|--|-----|-----|
| | Oui | Non |
|--|-----|-----|
- Si « Non », passez à la Partie 2, Q22.
10. Si « Oui », pendant cette maladie, a-t-il/elle eu l'un des symptômes suivants ?
- | | | |
|--|-----|-----|
| a. Plus de 3 selles liquides dans une journée | Oui | Non |
| b. Davantage soif | Oui | Non |
| c. Irritable ou agité | Oui | Non |
| d. Prise de liquides moindre ou incapacité de boire des liquides | Oui | Non |
| e. Activité moindre ou léthargie | Oui | Non |
| f. Perte de connaissance | Oui | Non |
| g. Urine moins | Oui | Non |
| h. Déshydratation (yeux enfoncés) | Oui | Non |
| i. Sang dans ses selles | Oui | Non |
| j. Démangeaison de la peau | Oui | Non |
11. Est-ce que la maladie a duré plus de 14 jours ?
- | | | |
|--|-----|-----|
| | Oui | Non |
|--|-----|-----|
12. Est-ce que vous avez recherché des soins médicaux pour *[nom de l'enfant]* à l'extérieur de votre domicile ?
- Si vous n'avez pas recherché de soins à l'extérieur de votre domicile, quelles étaient les raisons ?
- | | |
|--|--|
| a. Clinique trop loin de la maison | |
| b. Incapable de trouver un moyen de transport | |
| c. Coût de déplacement trop élevé | |
| d. Coût de traitement trop élevé | |
| e. Autres enfants au foyer qui ne pouvaient pas rester seuls | |
| f. Autre | |
13. Si « Oui », où avez été pour les soins de *[nom de l'enfant]* ?
 [Les hôpitaux spécifiques inclus dans le système de surveillance des rotavirus devraient être mentionnés par leur nom.]
- | | |
|---|--|
| _____ Clinique privée dans votre communauté | |
| _____ Clinique publique dans votre communauté | |
| _____ Pharmacie | |
| _____ Département des consultations externes de l'hôpital | |
| _____ Centre d'urgence hospitalier | |
| _____ Ami ou membre de la famille | |
| _____ Guérisseur traditionnel | |
| _____ Hôpital 1 | |
| _____ Hôpital 2 | |
| _____ Hôpital 3 | |
| _____ Autre (spécifier) | |

-
14. Pendant la maladie, est-ce que votre enfant a été admis dans un hôpital pour le traitement de la diarrhée et de la déshydratation ? Oui Non
15. Si « Oui », dans quel hôpital a-t-il/elle été admis(e) ?
 [Les hôpitaux spécifiques inclus dans le système de surveillance des rotavirus devraient être mentionnés par leur nom.]
- _____ Hôpital 1
- _____ Hôpital 2
- _____ Hôpital 3
16. Est-ce que *[nom de l'enfant]* a reçu des sels de réhydratation orale (SRO) pendant son traitement ? Oui Non
17. Si « Oui », est-ce qu'on d'abord donné les SRO au domicile ou à la clinique/hôpital ?
 _____ Domicile _____ Clinique/hôpital
18. Est-ce que *[nom de l'enfant]* a reçu des liquides par voie intraveineuse pendant son traitement ? Oui Non
19. Si *[nom de l'enfant]* n'a pas reçu de soins à l'hôpital, est-ce qu'on vous a conseillé de l'emmener à l'hôpital ? Oui Non
20. Si « Oui », pourquoi est-ce que *[nom de l'enfant]* n'a pas été emmené à l'hôpital ?
- a. Hôpital trop loin de la maison
 - b. Incapable de trouver un moyen de transport
 - c. Coût de déplacement trop élevé
 - d. Coût de traitement trop élevé
 - e. Autres enfants au foyer qui ne pouvaient pas rester seuls
 - f. Autre
21. Est-ce que l'un de vos enfants a été admis (est resté une nuit) dans un l'hôpital de cette région pour traitement de la diarrhée et de la déshydratation au cours de l'année passée ? Oui Non
-

Partie B

A présent, je vais vous demander ce que vous pourriez faire si *[nom de l'enfant]* souffrait de diarrhée grave.

22. Si *[nom de l'enfant]* souffrait de diarrhée grave (plus de 3 selles liquides sans présence de sang dans une période de 24 heures) qui durerait moins de 14 jours, où est-ce que vous l'emmèneriez pour recevoir des soins ?
- _____ Clinique privée dans votre communauté
- _____ Clinique publique dans votre communauté
- _____ Pharmacie
- _____ Département des consultations externes de l'hôpital
- _____ Centre d'urgence hospitalier
- _____ Ami ou membre de la famille
- _____ Guérisseur traditionnel
- _____ Hôpital de surveillance (nom)
- _____ Autre (spécifier)

23. Si, au cours de cette maladie, il/elle développait des signes et symptômes de déshydratation, tels que l'irritabilité, l'agitation, le manque d'émission d'urine, une plus grande soif, une bouche sèche ou des yeux enfoncés, où est-ce que vous l'emmèneriez pour recevoir des soins ?

- Clinique privée dans votre communauté
- Clinique publique dans votre communauté
- Pharmacie
- Département des consultations externes de l'hôpital
- Centre d'urgence hospitalier
- Ami ou membre de la famille
- Guérisseur traditionnel
- Hôpital de surveillance (nom)

24. Si, au cours de cette maladie, il/elle avait des pertes de connaissance ou une léthargie et était incapable de boire, où est-ce que vous l'emmèneriez pour recevoir des soins ?

- Clinique privée dans votre communauté
- Clinique publique dans votre communauté
- Pharmacie
- Département des consultations externes de l'hôpital
- Centre d'urgence hospitalier
- Ami ou membre de la famille
- Guérisseur traditionnel
- Hôpital de surveillance (nom)

25. Si un médecin ou une infirmière recommandait que vous emmeniez [nom de l'enfant] à l'hôpital pour recevoir des soins, pourriez-vous le faire ? Oui Non

26. Si « Non », pourquoi pas ?

27. Si « Oui », à quel hôpital l'emmèneriez-vous ?
[Les hôpitaux spécifiques inclus dans le système de surveillance des rotavirus devraient être mentionnés par leur nom.]

- Hôpital 1
- Hôpital 2
- Hôpital 3

28. Si un médecin ou une infirmière recommandait que [nom de l'enfant] passe la nuit à l'hôpital pour recevoir des soins, est-ce que vous accepteriez ? Oui Non

29. Si « Non », pourquoi pas ?

30. Que pensez-vous des soins que votre enfant pourrait recevoir ? A :
[Les hôpitaux spécifiques inclus dans le système de surveillance des rotavirus devraient être mentionnés par leur nom.]

- | | | | | | |
|--|------------|------|--------|-----------|-------------|
| <input type="checkbox"/> Hôpital 1 | Excellents | Bons | Moyens | Médiocres | Ne sait pas |
| <input type="checkbox"/> Hôpital 2 | Excellents | Bons | Moyens | Médiocres | Ne sait pas |
| <input type="checkbox"/> Hôpital 3 | Excellents | Bons | Moyens | Médiocres | Ne sait pas |

Merci beaucoup pour avoir participé à notre enquête.

Annexe 2 : Calculs de la taille de l'échantillon

Les calculs de la taille de l'échantillon se fondent sur une formule standard (Henderson and Sundaesan, 1982)

$$N_o = \frac{z^2 p q}{d^2}$$

où N_o est le nombre d'enfants nécessaires pour l'enquête ;

z est la déviation normale (1,96 pour un alpha de 0,05) ;

p est la proportion d'enfants souffrant de diarrhée grave dont on pense qu'ils seront traités à l'hôpital

$q = (1-p)$;

d est la précision (erreur acceptable) de l'estimation.

Vu que la valeur de p est précisément ce que l'enquête doit collecter, elle est relativement arbitraire. Aux fins de ces calculs, p a été fixé à 0,27 (c'est-à-dire 27%). La valeur de d peut être fixée à 0,05 pour indiquer que nous accepterons une précision de notre estimation dans une fourchette de 5% ; c'est-à-dire que la véritable proportion d'enfants avec diarrhée grave traités dans un hôpital participant se situe entre 22% et 32%. En intégrant ces estimations à l'équation, nous obtenons une taille de l'échantillon de 302. Cela veut dire que l'échantillon de ménages devrait être suffisamment important pour inclure 302 enfants qui pourraient souffrir de diarrhée grave demandant l'hospitalisation.

Vu que la conception de l'étude se base sur l'échantillonnage à grappes, il faudra tenir compte, dans la taille de l'échantillon, de l'effet de conception par grappe. *L'effet de conception* explique le cumul de cas auquel on peut s'attendre. Il n'existe que peu de données qui nous aident à quantifier cet effet pour les hospitalisations causées par le rotavirus, bien que la fréquentation des services de santé soit probablement la même parmi des ménages proches les uns des autres. Un effet de conception de 2, souvent utilisé lorsqu'il n'existe pas de données directes, est adopté dans les calculs présents. Aussi, au lieu de 302 enfants, l'enquête a besoin de 604 enfants. Pour avoir un nombre égal d'enfants de chaque grappe, ce chiffre est arrondi à 600 pour avoir 20 par grappe.

Annexe 3 :
Tableau des nombres aléatoires

Méthode pour choisir un nombre aléatoire du tableau

1. En utilisant un billet de banque, choisir un chiffre aléatoire à un chiffre entre 0 et 9 pour identifier une colonne. Choisir un nombre aléatoire à deux chiffres pour identifier une rangée (notons que les nombres 01-09 sont considérés des nombres à deux chiffres). Le nombre à cinq chiffres qui est à l'intersection de la colonne et de la rangée est le point de départ.
2. Lire à droite sur cette rangée à partir du point de départ jusqu'à ce que vous arriviez à un nombre aléatoire à cinq chiffres qui est égal ou plus petit que votre intervalle d'échantillonnage.

	Colonne									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Rangée										
01	19289	93144	95340	30285	11083	88238	70387	97121	68924	78828
02	52013	34168	50026	63695	97161	76180	30119	21059	24233	19072
03	51923	17987	40495	36750	90764	84754	25504	69325	14494	28615
04	85188	35557	59556	17835	49317	30957	68224	83494	68361	63836
05	33865	60916	85080	61805	41162	64238	26199	77822	75933	61311
06	55811	82788	43985	16848	50340	87732	54580	58581	15339	98337
07	16650	86180	10382	65131	48434	38562	02875	99975	07213	27155
08	12800	48589	80380	74042	25345	70783	58110	47579	38287	63004
09	36653	03457	17568	23186	79328	35509	63547	46628	64067	76684
10	27238	05858	46983	49613	96575	57242	32000	82228	20696	67929
11	03769	63510	21463	16059	89100	64232	70747	97079	18500	47826
12	36094	09879	80907	78051	30458	01722	91738	55742	61922	86259
13	47274	65956	41027	89573	59260	41175	45136	94124	47732	01105
14	06728	25795	54919	80457	25401	63698	93399	59861	35281	58867
15	18067	74766	10773	13910	32803	57406	70427	78357	45716	24485
16	28519	10640	92569	17874	30560	14098	67406	93728	53203	78583
17	84332	32264	01524	93786	00692	79817	80680	74503	95874	94716
18	55310	08997	52383	39182	16561	68922	29334	70000	45258	58807
19	42341	75993	97579	07503	65899	15260	25739	56852	52541	89205
20	96644	54398	49707	40193	52321	95949	51268	54025	38083	03049
21	20644	04581	37056	26382	35641	29688	44475	42118	01100	81046
22	46597	56716	35108	37190	78569	86025	92893	88353	22636	88374
23	50543	29533	46259	37429	71060	36121	04913	37496	97095	71557
24	38658	41814	32171	76513	89135	39217	07240	82646	11085	26858
25	20054	42726	57198	90448	20618	28893	19375	17367	56035	07123

Le Département des Vaccins et des Produits biologiques a été créé en 1998 par l'Organisation mondiale de la Santé pour intervenir dans le domaine des technologies sanitaires et produits pharmaceutiques. Le Département a pour mission de protéger tous ceux à risques contre les maladies pouvant être prévenues par vaccin.

Cinq groupes mettent en œuvre sa stratégie qui consiste à créer des normes et standards axés sur les principales questions aux niveaux vaccins et technologies puis à veiller à leur mise en œuvre et à offrir des directives aux services de vaccinations. Les travaux de ces groupes sont indiqués ci-après.

L'équipe d'Assurance de la Qualité et Innocuité des Produits biologiques vérifie la qualité et l'innocuité des vaccins et autres médicaments biologiques en formulant des normes et standards à l'échelle mondiale.

L'Initiative pour la Recherche en matière de Vaccin et ses trois équipes du domaine des maladies virales, bactériennes et parasitaires, coordonnent et facilitent la recherche et le développement de nouveaux vaccins et nouvelles technologies de vaccination.

L'équipe Evaluation et Suivi des Vaccins évalue les stratégies et les activités pour réduire la morbidité et la mortalité imputables aux maladies pouvant être évitées par vaccin.

L'équipe Accès aux Technologies cherche à réduire les barrières financières et techniques entravant l'introduction de vaccins nouveaux et déjà établis ainsi que des technologies d'immunisation.

Le Programme élargi de Vaccinations met au point des politiques et stratégies pour maximiser l'utilisation des vaccins importants pour la santé publique et leur fourniture. Il aide des régions et pays de l'OMS à acquérir les compétences et l'infrastructure nécessaires pour mettre en œuvre ces politiques et stratégies de lutte contre les maladies et/ou atteindre les objectifs d'élimination et d'éradication.

Département des Vaccins et Produits biologiques
Health Technology and Pharmaceuticals
Organisation mondiale de la Santé
CH-1211 Genève 27
Suisse
Fax : +41 22 791 4227
Courrier électronique : vaccines@who.int
ou visiter notre site web sur : <http://www.who.int/vaccines-documents>